

B Ö L Ü M O N B İ R

GENETİK ŞİFRE VE RNA MOLEKÜLÜNÜN TRANSKRİPSİYONU

Genlerin fenotip üzerindeki etkileri Mendel'in çalışmalarının fark edildiği 1900 yılından beri merak konusu olmuştur. 1902 yılında İngiliz Tıp doktoru A. Garrod, insanlarda *alkaptonuria* denilen bir hastalığı çalışırken, genlerin hücredeki biyokimya reaksiyonlarını kontrol ettiği fikrini ortaya attı. Garrod, *alkaptonuria* hastalığının, homogentisik asit denilen bir maddenin bir sonraki ara madde olan maleyl aseto asetik aside dönüşmediği için yüksek miktarlarda birikmesinden meydana geldiğini ve idrarla birlikte atıldığını buldu. Yani dönüşüm işlemi hastalarda çalışmıyordu. Dolayısıyla, sonradan gelişen bir tabir olarak, "doğuştan hatalı" bir durum söz konusuydu. Sonuç olarak bugün biliyoruz ki, hücredeki kimyevi reaksiyonlar zinciri, bir seri genin interaktif etkileri tarafından kontrol edilmektedir (Düzgüneş ve Ekingen 1983).

Genetik materyal olarak DNA'nın kendini kopya etme – replikasyon - özelliğine sahip olması gerektiğinden ve bu işlemin nasıl cereyan ettiğinden geçen bölümde bahsetmiştik. Bu bölümde de genlerin bu kontrol işlemini nasıl yaptığını; demeli, DNA'nın taşıdığı genetik bilginin fenotipe doğru nasıl deşifre edildiğini ele alacağız.

DNA'nın taşıdığı genetik bilgiye genetik şifre diyoruz. Bu şifre, genlerdeki bilginin fenotip olarak ifade edilmesi için deşifre olur. Genetik şifrenin fenotip olarak ifade edilmesi, proteine dönüştürülmesi demektir. Bazı genlerdeki, demeli DNA'nın bazı segmentlerindeki genetik bilgi, protein değil de çeşitli RNA'ların sentezlenmesi için deşifre edilir. Genetik şifrenin okunup deşifre edilip sonra da protein veya RNA olarak ifade edilmesi, birçok karmaşık işlemin bir sonucudur. Hangi genin ne zaman ve hangi miktarda fenotip olarak ifade edileceğini belirleyen bilgiler de bazı genlerde şifrelenmiştir.

Genlerin sayısı ile hücre içinde aktif olarak çalışan protein sayısı arasında eşitlik yoktur. Meselâ insanda fonksiyonu bilinen 32000 kadar gen vardır. Bunların kodladığı protein sayısı ise 100,000'den fazladır. Bunun sebebi, bir gen içinde **ekson** (eylemi görülen bölge anlamında) ve **intron** (ayırıcı bölge anlamında) bölgelerinin olmasıdır. Biraz sonra göreceğimiz gibi, DNA'daki genetik bilgiyi çekirdek dışına taşıyacak olan RNA molekülü (messenger RNA, mRNA olarak gösterilir) sentezlenirken gendeki ekson ve intron bölgeleri ayırt edilmeksizin mRNA'ya kopyalanır. Sonra intron bölgeleri kesilerek mRNA olgun hale gelir. Aynı genin kesilen bölgeleri, demeli intronları farklı yer ve zamanlarda farklı olabilmektedir. İşte bu yüzden de bir genden birden fazla protein sentezi mümkün olmaktadır. (Griffith ve ark 2008)

Bu bölümde genetik bilginin proteine deşifre olma sürecini ele alacağız. Bu süreç aslında iki safhadır: transkripsiyon ve translasyon. **Transkripsiyon, bilginin, DNA'nın bir kalıp olarak kullanılmak suretiyle, RNA eksenine kopyalanmasıdır (transkribe edilmesidir).** Prokaryotlarda RNA'daki bilgi nerdeyse derhal, **translasyon denilen sonraki süreçle, bir aminoasit zincirine (polipeptide) dönüştürülür.** Ökaryotlarda ise, transkripsiyon ve translasyon mekân olarak ayrılmıştır: transkripsiyon çekirdekte ve translasyon sitoplazmada

cereyan eder. Ancak, RNA'lar sitoplazmaya taşınmadan önce, intronların atılmasını, özel bir 5' başlığının ve adenin nükleotidlerinden oluşan 3' kuyruğunun eklenmesini içeren şümüllü bir işlenmeye tabi tutulur. Tam olarak işlenmiş RNA, **messenger RNA (mRNA)** olarak isimlendirilir. Bu iki safhayı ele almadan önce genetik şifre ile ilgili bilgi verilmesi daha yararlı görülmüştür.

XI.1- Genetik Şifre

Genetik şifre birimi, **kodon** denilen 3 nükleotid dizisidir. Bu diziler, RNA'daki nükleotidlerin dizilişi ile ifade edilir. 20 aminoasidin 18'i, birden fazla kodon tarafından kodlanır. Sadece methionin (AUG) ve tryptophan (UGG) birer kodon tarafından kodlanır. Methionin birçok polipeptidin başlangıç aminoasididir, dolayısıyla AUG başlangıç kodonudur. UAA, UAG ve UGA ise stop kodonlarıdır.

Genetik şifre biriminin üç nükleotidlik kodonlar olduğu 1961'de Crick, Brenner ve arkadaşlarının *E. Coli*'nin rII fajı mutantlarındaki çalışmalarıyla anlaşılmıştır (Griffith ve ark. 2000). Özet olarak, rII fajı, bir çerçeve mutasyonu ile bir fonksiyon kaybı yaşamakta, ancak daha sonra genin başka bir bölgesinde ikinci bir mutasyonla o kayıp ortadan kalkmakta, böylece faj eski fonksiyonuna kavuşmaktadır. Çerçeve mutasyonlardan ileride bahsedilecektir; ancak şimdilik, tek veya ardıl birkaç baz çiftinin eksilmesi veya eklenmesi diye tanımlayabiliriz. Bu şekilde yabancı formun fonksiyonunu yeniden kazandıran bu ikinci mutasyonlara **susturucu mutasyonlar** denilmektedir. Crick ve arkadaşları, susturucu mutasyonlarla genetik şifrenin ardıl üç nükleotidten oluşan ve kodon adı verilen birimlerden oluştuğunu buldu.

DNA'dan kopyalanan mRNA, genetik şifreyi protein sentezlenecek yere taşır. Genetik şifre, mRNA'daki ardıl üç nükleotidlik kodonların her birinin bir aminoasidi belirlediği bir sistemdir. Hangi kodonun hangi aminoaside karşılık geldiği Tablo: XI.1'de gösterilmiştir.

Bu tablodan hemen görülen bazı özellikleri şöylece sıralayabiliriz:

- Şifre **özgündür**; yani her bir kodon sadece bir aminoasidi kodlar.
- Bununla birlikte şifre **dejeneredir**; yani aminoasitlerin çoğu birden fazla kodon tarafından kodlanmaktadır. Sadece methionin (AUG) ve triptofan (UGG) birer kodon tarafından kodlanmakta, diğerleri en az iki kodon tarafından kodlanmaktadır. Aynı aminoasidi belirleyen kodonların genellikle ilk iki nükleotidi aynı olup üçüncü nükleotidi değişmektedir. Translasyon bahsinde bununla ilişkili olarak Crick'in **wobble** (tereddüt, oynaklık) kuralından bahsedilecektir.
- Şifrede bir adet **başla kodonu (methionin kodlayan AUG)**, üç adet de **stop kodonu (UAA, UAG, UGA)** vardır.

Tabloda görülen bu özellikler dışında şifrenin genel özelliklerini sıralamayı şöyle sürdürebiliriz:

- Şifre **süreklidir**; çalışmaya başlayınca, başla kodonundan stop kodonuna kadar aradaki bütün kodonlar duraksama olmaksızın aminoasit karşılıklarına çevrilir.

- Şifrede **çakışma olmaz**. Bir ribonükleotid bir kodonun üyesidir. Aynı anda birkaç kodonun üyesi olamaz.
- Genetik Şifre, **evrenseldir**; virüslerde, prokaryotlarda ve ökaryotlarda Tablo: XI.1’de verilen şifre geçerlidir.

Tablo: XI.1- Hangi kodonun hangi aminoasidi kodladığını gösteren Genetik Şifre (Griffith ve ark. 2000, sh. 318, Şekil: 10-27’den uyarlanmıştır.)

Kodonun ikinci nükleotidi

		U	C	A	G		
Kodonun ilk nükleotidi	U	UUU } Phe UUC } UUA } Leu UUG }	UCU } UCC } Ser UCA } UCG }	UAU } Tyr UAC } UAA Stop UAG Stop	UGU } Cys UGC } UGA Stop UGG Trp	U C A G	Kodonun üçüncü nükleotidi
	C	CUU } CUC } Leu CUA } CUG }	CCU } CCC } Pro CCA } CCG }	CAU } His CAC } CAA } Gln CAG }	CGU } CGC } Arg CGA } CGG }	U C A G	
	A	AUU } AUC } Ile AUA } AUG Met	ACU } ACC } Thr ACA } ACG }	AAU } Asn AAC } AAA } Lys AAG }	AGU } Ser AGC } AGA } Arg AGG }	U C A G	
	G	GUU } GUC } Val GUA } GUG }	GCU } GCC } Ala GCA } GCG }	GAU } Asp GAC } GAA } Glu GAG }	GGU } GGC } Gly GGA } GGG }	U C A G	

XI.2- Transkripsiyon

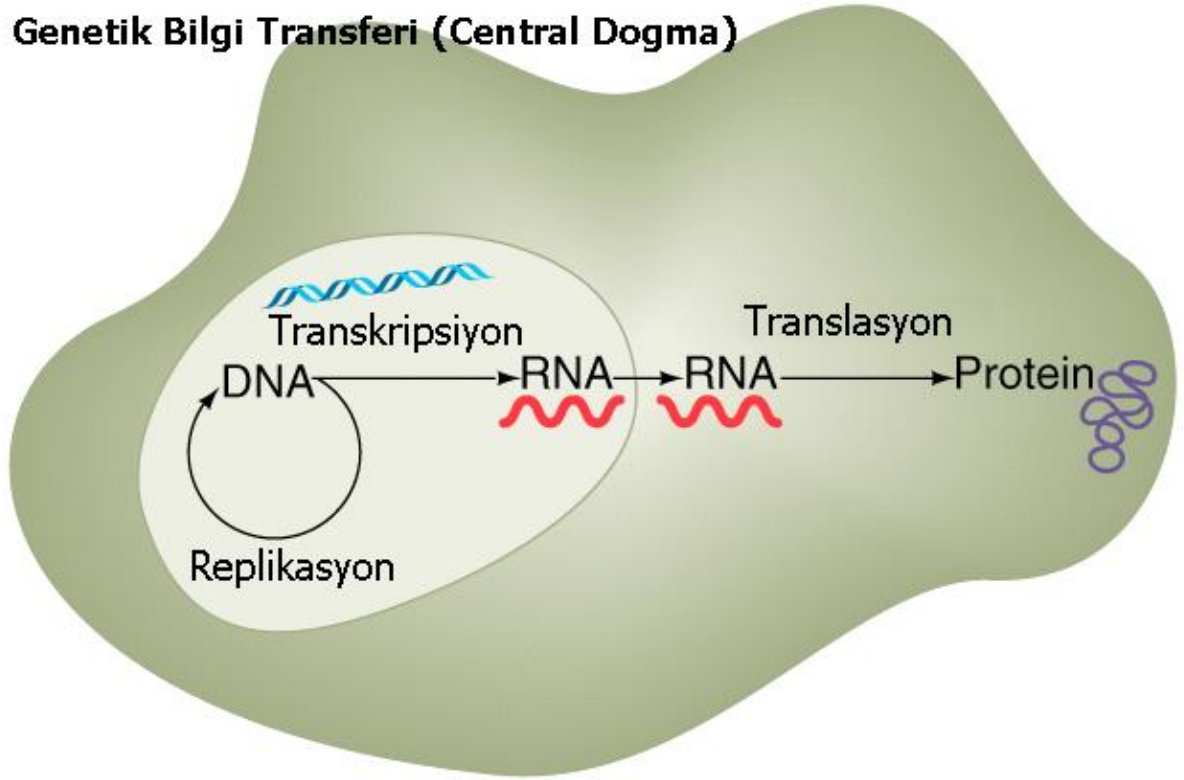
Transkripsiyon, genden gen ürünlerine bilgi transferinin ilk adımıdır. Her organizmanın genomundaki DNA dizisinde, organizmanın yapabileceği gen ürünlerinin her birini belirleyen bilgi kodlanmıştır. Bu DNA dizileri ürünlerin ne zaman, nerede ve ne kadar yapılacağını kodlayan bilgileri de ihtiva eder. Ancak bu bilgi DNA dizisinde saklı statik bir bilgidir. Bu bilgiyi kullanılır hale getirmek için, yine DNA dizisini rehber bir kalıp olarak kullanıp ilgili genin bir kopyası olan ara bir molekül sentezlenmelidir. Yine DNA dizisini rehber kalıp olarak kullanan replikasyon mekanizmasından farklı olarak, bu ara molekül RNA’dır ve DNA’dan bunun sentezlenme sürecine *transkripsiyon* denilir. Demek oluyor ki, DNA’daki genetik bilginin transferi iki yönde olmaktadır: Birincisi DNA’dan DNA kopyalanması, buna replikasyon denir. İkincisi de DNA’dan gen ürününe doğru olan bilgi transferi, bunun da ilk adımı transkripsiyondur. Bu genetik bilginin bu şekilde iki yönlü transferine **merkezi dogma (central dogma)** denilmektedir (Şekil: XI.1).

Ökaryotik bir hücrede, DNA çekirdekte bulunur, hâlbuki protein sitoplazmada sentezlenir. Bir aracı gereklidir. Bu aracının RNA olduğu 1957'de Volkin ve Astrachan tarafından *E. Coli*'de T2 fajıyla yapılan denemelerle ortaya kondu (Griffith ve ark. 2000).

Benzer bir deneme ökaryotik hücrelerle de yapılabilir. Hücreler önce radyoaktif urasil ile işaretlenir ve kısa bir süre sonra, etiketsiz urasil bulunan bir ortama transfer edilir.

İşaretlemeden sonra alınan örneklerde etiketin çoğu çekirdek içindedir. Etiketsiz urasil bulunan ortama transferden bir süre sonra alınan örneklerde ise etiketli RNA sitoplazmada bulunur. Aşikâr olarak, ökaryotlarda RNA çekirdekte sentezlenir ve sonra proteinlerin sentezlendiği sitoplazmaya taşınır. Buna göre de, RNA, DNA'daki bilginin proteine dönüşümünü sağlayan aracı bir moleküldür.

Genetik Bilgi Transferi (Central Dogma)



Şekil: XI.1- Genetiğin Merkezi Dogması: Genetik Bilgi Transferinde iki istikamet. (Griffith ve ark. 2000, sh. 301, Şekil:10-2'de uyarlanmıştır.)

DNA'nın nükleotid dizisini RNA'ya kopyalama işlemi, yazılı kelimeleri kopya etme işlemi hatırlattığı için bu RNA sentezlenme işlemine transkripsiyon denilmektedir. Sentezlenen RNA'ya da tabiatıyla, transkript denir.

Transkripsiyon, bazların tamamlayıcı eşleşmesine dayanmaktadır. Meselâ kromozom üzerinde bir gen uzunluğundaki bir segmentte önce DNA ikili sarmalının iki ekseni birbirinden ayrılır ve eksenlerden birisi RNA sentezi için kalıp eksen olarak davranır. Transkripsiyonun bir

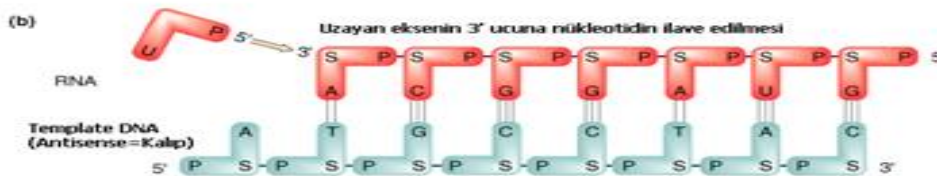
özelliği, asimetrik olmasıdır, yani eksenlerden birisi kopyalanır. Kromozom genelinde her iki eksen de kalıp olabilir, *fakat herhangi bir gen için sadece bir eksen kullanılır ve daima o gen için o eksen kalıp eksendir*. Şekil: XI.2’de görüldüğü gibi, kalıp eksenin okunmasıyla meydana gelen RNA aslında diğer eksenin kopyası olmaktadır, onun için bu kalıp olmayan eksene **kodlanan (sense) eksen** denilir. RNA’daki baz dizisiyle bu kodlanan eksenindeki baz dizisi, DNA’da T’lerin RNA’da U’ya değişmiş olması dışında aynıdır. Onun için bazı kaynaklarda DNA’daki baz dizilişiyile aminoasit karşılıkları verilirken, mRNA yerine bu kodlanan eksenindeki dizi verilir.



Şekil: XI.2- Şematik olarak Kalıp eksen, kodlanan (sense) eksen ve mRNA (Griffith ve ark. 2000, sh. 303, Şekil:10-5'ten uyarlanmıştır).

Hücrede bir şekilde mevcut ribonükleotidler bu kalıp eksenindeki kendisine tamamlayıcı bazlarla eşleşir; daima A ribonükleotidi DNA’daki T ile, G C ile, U A ile ve C ise G ile eşleşir. Her bir ribobükleotid, RNA polimeraz enzimi sayesinde, tamamlayıcı DNA bazının zıttı yönde yerleşir. Bu enzim DNA’ya eklenir ve sürekli büyüyen bir RNA molekülü yapmak üzere, sıradaki ribonükleotidin ribozunun 5’ karbonundan, yeni sentezlenen RNA eksenine kendinden önce bağlanmış olan ribonükleotidin ribozunun 3’ karbonuna bağlar. Kalıp eksen 3’ ucundan 5’ ucuna doğru okunurken yeni sentezlenen RNA da 5’ ucundan 3’ ucuna doğru sentezlenir (Şekil: XI.3).

Görüldüğü gibi burada da DNA ve RNA’nın faaliyetinin temeli olan iki fonksiyon bir arada görülmektedir: tamamlayıcı bazların eşleşmesi ve nükleik aside bir protein bağlanması (burada RNA polimerazın bağlanması).

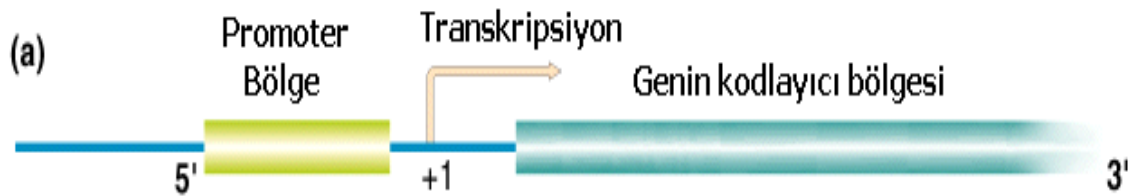


Şekil: XI.3- RNA’nın Sentezlenmesi. Uzayan eksenin 3’ ucuna yeni bağlanan nükleotid 5’ ucundan bağlanıyor (Griffith ve ark. 2000, sh 303, Şekil: 10-6(b)’den uyarlanmıştır).

RNA polimeraz gen boyunca ilerlerken DNA ikili sarmalı da önü sıra açar ve transkribe ettikten sonra hemen geri sarar. RNA molekülü ileri doğru uzarken 5' ucu kalıptan ayrılır ve transkripsiyon balonu RNA polimerazın ardından kapanır. DNA molekülü üzerinde aynı anda birçok yerde transkripsiyon olduğu gözlenmiştir. Nitekim elektron mikroskopunda tek bir DNA molekülünü terk eden birçok RNA eksenini görülebilmektedir (Griffith ve ark 2008).

Transkripsiyon ne zaman ve nereden başlamakta nereye kadar devam edip sonlanmaktadır? Bu soruların cevabını vermek üzere yapılan araştırmalar, herhangi bir yerden, herhangi bir zaman gibi bir belirsizliği ya da tesadüfiliği ortaya koymamış, tersine transkripsiyonun belirli bir yerden başlayan ve belirli bir yerde sonlanan muntazam bir eylem olduğunu göstermiştir. Transkripsiyon, başlama, uzama ve sonlanma şeklinde üç aşama olarak ele alınabilir. Transkripsiyonun bu üç aşama halinde cereyan etmesi genel olarak prokaryotlarla ökaryotlarda aynıdır, az sayıda ama önemli farklar ise yeri geldikçe anlatılacaktır.

RNA polimeraz için başlangıç noktası promotor denilen ve kopyalanacak bölgenin 5' başlangıcına yakın olan özgün bir DNA dizisidir. Bu yüzden promotor, 5' regülatör bölge olarak da isimlendirilmektedir (Şekil: XI.4). Kopyalanan ilk baz daima aynı yerdedir ve bu yere *başlangıç sitesi* denir. Transkripsiyon Promotor, başlangıç sitesinin yukarı tarafındadır; yani transkripsiyon istikametinde değildir. Aşağı taraf ise, başlangıç sitesinden transkripsiyon istikametinde daha sonraki bir yeri ifade eder. Teamül olarak kopyalanacak ilk baz +1 olarak işaretlenir; bu başlangıç sitesinin yukarı tarafındaki bazlar (-) işaretlerle, aşağı tarafındaki bazlar ise (+) işaretlerle gösterilir (Griffith ve ark. 2008).



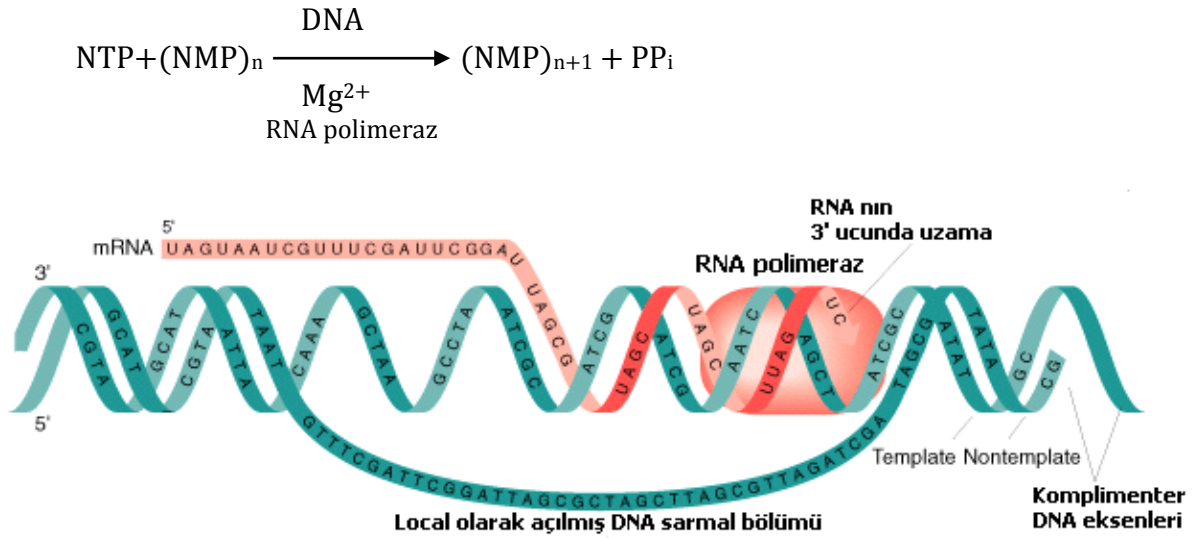
Şekil: XI.4- Transkripsiyonun Başlama Bölgesi

(Griffith ve ark. 2000, sh. 304, Şekil: 10-8(a)'dan uyarlanmıştır).

RNA polimeraz, promotor bölgeye -10 -35 bölgesinden bağlanır. RNA polimeraz bir haloenzimdir, yani bir enzim topluluğudur. Esas olarak kor enzim beş alt ünitelerden meydana gelmiştir: iki adet α , bir β , bir β' ve bir ω alt ünitesi. Bu kor enzime ayrıca sigma faktörü denilen σ alt ünitesi transkripsiyonun başlama anında geçici olarak bağlanır. *E.coli*'de çeşitli genlerde yapılan çalışmalar bu -10 ve -35 bölgelerindeki dizilerin benzer olduğunu göstermiştir. Fakat çeşitli organizmalarda çeşitli genler için bu bölgelerin tıpatıp özdeş olması gerekmez. *E.coli* için araştırmalar bu bölgede çalışılan genler için genellikle benzer bir diziye ulaşmıştır. Bu benzer dizi, *E.coli* genleri için, küçük farklarla -10 bölgesinde TATAAT ve -35'de TTGACAT şeklindedir. Bu dizilere İngilizcede consensus diziler denir.

RNA polimeraza eklenmiş olan sigma faktörü DNA'ya bu -10 ve -35 bölgesinden bağlanır. σ alt ünitesi, DNA eksenlerini -10 bölgesi civarında birbirinden ayırmada da bir role sahiptir. Kor enzim de σ alt ünitesi ile birlikte DNA'ya bağlandıktan sonra transkripsiyon başlar ve sigma faktörü kompleksin geri kalanını terk eder. Genin protein kodlayan kısmı, genetik şifre bahsinde gördüğümüz gibi, ATG kodonuyla başlar. Fakat RNA polimeraz transkripsiyona genellikle bu kodonun yukarı tarafından başlar. Yukarı tarafta sentezlenen bu ATG'ye kadar olan ara bölgeye 5' tercüme edilmeyen bölge (5' UTR: 5' untranslated region) denir. E.coli birkaç farklı σ alt ünitesine sahiptir, bunların çoğu σ^{70} alt ünitesidir. Diğer σ alt üniteleri başka promotor dizilerini tanıır. Böylece aynı kor enzim farklı σ alt üniteleri ile birleşerek farklı gen setlerini kopyalayabilir.

Transkripsiyon başladıktan sonra ikinci aşama transkripsiyonun devam etmesi, transkript denilen yeni sentezlenen RNA'nın uzamasıdır. RNA polimeraz DNA boyunca ilerlerken bir taraftan önündeki (aşağı taraftaki) DNA'nın iki eksenini açar; bir taraftan da transkripsiyonun tamamlandığı yukarı tarafta iki eksenini yeniden sarmal yapar. Bu şekilde bir ucundan açılmış, bir ucundan tekrar sarmal olmuş bir transkripsiyon balonu içinde kalıp eksen serbest kalmış olur. Balon, RNA zinciri sentezlenmeye devam ederken, aşağı bölgeye doğru RNA polimeraz ile birlikte hareket eder. Balon içinde RNA polimeraz, ortamdaki serbest ribonükleotid trifosfatın DNA kalıp ekseninde eş uyumu varsa, sentezlenen RNA zincirindeki son ribonükleotidin 3' ucuna bağlanmasını sağlar. Bir nükleotid ilavesi için gerekli enerji, yüksek enerjili trifosfatın ayrışarak inorganik difosfatın serbest kalmasından elde edilir (Griffith ve ark. 2000):



Şekil: XI.5- Transkripsiyon Balonunda RNA Polimerazın Faaliyeti (Griffith ve ark. 2000, sh. 306, Şekil: 10-11'den uyarlanmıştır).

Şekil: XI.5'te RNA kopyalanmasının balon içinde devam etmesi şematik olarak gösterilmiştir. Balon içinde RNA zincirine eklenmiş olan son 8–10 nükleotid, kalıp eksenle baz

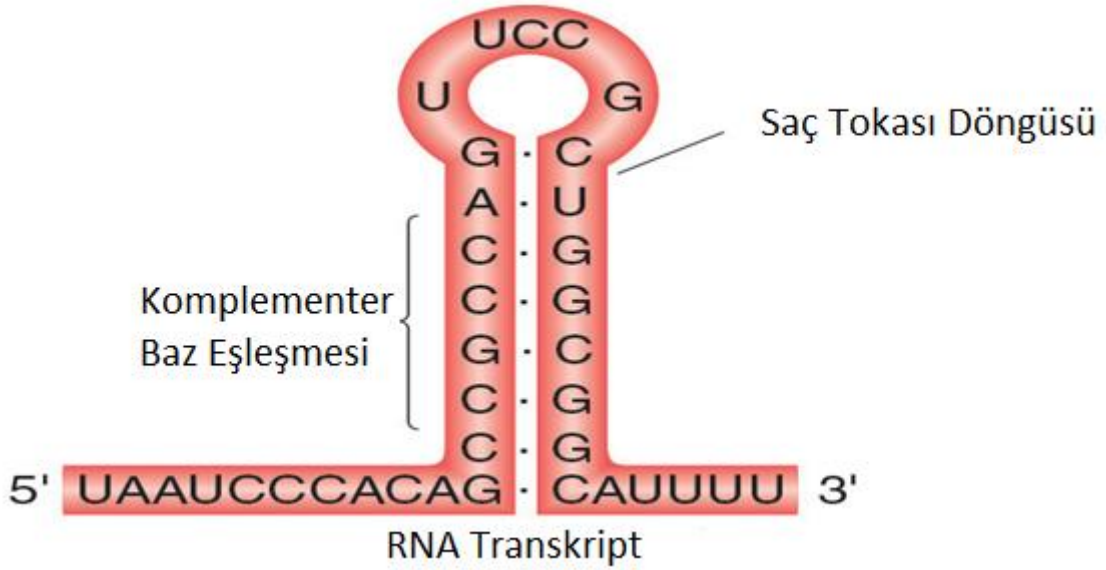
eşleşmesi yapar, yani bir DNA-RNA melezi oluşur. RNA zinciri, 3' ucundan uzamaya devam ederken, 5' ucu polimerazdan ayrılır ve balondan dışarı çıkar.

Transkripsiyonda son aşama, transkripsiyonun bitme aşamasıdır. Bir genin transkripsiyonu, başlangıçtaki gibi, sonda da proteine çevrilmeyen bir bölgeyle devam eder; bu bölgeye de 3' tercüme edilmeyen bölge (3' UTR: 3' untranslated region) denir. Transkripsiyonun sona ermesi için, RNA polimeraz, sonlandırma sinyali olarak davranan hususi nükleotid dizilerini tanımalıdır. Sinyal nükleotidlerle karşılaşınca, RNA Polimeraz RNA kalıptan ve transkripsiyon balonundan ayrılmaya başlar.

E.coli'de ve diğer birçok bakteride sonlandırma için bir esas mekanizma, bir de rho mekanizması vardır (Griffith ve ark 2008).

Esas mekanizmada, 40 kadar baz çifti ihtiva eden GC bakımından zengin bir bölge vardır. Bu bölgenin hemen peşinde altı veya daha fazla A'dan oluşan bir dizi gelir. Kalıptaki G ve C, RNA'da sırayla C ve G vereceği için RNA da bu bölgede GC zengindir. RNA'nın bu bölgesindeki G ve C bazları birbiriyle eşleşerek saç tokası şeklini alır (Şekil: XI.6). CG bazları arasında eşleşmede üç hidrojen bağı olduğu için iki eksenli DNA sarmalı bu baz çiftlerinin zengin olduğu bölgelerde daha güçlüdür; eksenlerin birbirinden ayrılması daha zordur. Saç tokası döngüsü, DNA kalıp eksenindeki A tekrarlarından oluşan diziyeye uygun olarak sekiz kadar U bazıyla devam eder. Normalde RNA polimeraz, transkripsiyon balonundaki kısa DNA-RNA hibriti zayıfsa, senteze ara verir ve bölgeyi stabilize etmek için geri döner. Dolayısıyla saç döngüsünden sonraki bu A-U baz çifti tekrarı iki hidrojen bağından dolayı zayıftır ve enzim burada faaliyetine ara verir ve geri dönmek ister ancak saç tokası döngüsü bir bariyer oluşturduğu için geri dönüş durur ve RNA enzimden, enzim de DNA kalıbından ayrılır.

İkinci mekanizmada, Rho faktörü denilen ve RNA polimeraz için, sonlandırma sinyali bölgelerini tanıyan bir proteine ihtiyaç vardır. Rho, altı alt üniteden oluşan bir heksamerdır. Kalıp ekseninde sonlandırma sinyali olarak davranan nükleotid dizisinde, C ve G zengini bölge de ondan sonraki A tekrar dizisi de yoktur. Buna karşılık C bakımından zengin G bakımından fakir 40-60 nükleotidlik bir dizi vardır ve bu dizinin yukarı tarafında *rut* denilen bir segment vardır. Rho proteini, yeni oluşmuş RNA zincirine bu rut bölgesinden bağlanır. Bu rho bağlanan siteler, enzimin ara vermeye meylettiği bölgenin hemen yukarı tarafına yerleşmiştir. Bu bölgeye bağlanan rho, RNA'nın RNA polimerazdan ayrılmasını kolaylaştırır.



Şekil: XI.6- Transkripsiyonun sonunda yeni sentezlenen RNA'da oluşan CG zengini bölge. C ve G'lerin eşleşmesiyle saç tokası şekli ortaya çıkıyor (Griffith ve ark. 2000, sh. 306, Şekil: 10-12'den uyarlanmıştır).

XI.3- Ökaryotlarda Transkripsiyon

Ökaryotlarda transkripsiyon, prokaryotlardakine benzemekle birlikte biraz daha karmaşıktır. İkisi arasındaki temel farklar Tablo: XI.2'de gösterilmiştir. Bu karmaşıklığın bir sebebi kopya edilmesi gereken DNA miktarının daha fazla ve kodlanmayan DNA miktarının da prokaryotlardakinden çok fazla olmasıdır.

İkinci sebep ökaryotlarda DNA'nın çekirdekte, genetik şifrenin kullanılacağı protein sentezinin ise sitoplazmada olmasıdır. Dolayısıyla prokaryotlarda RNA'ya aktarılan bilgi hemen anında uygun aminoasit dizisine dönüşürken ökaryotlarda RNA'ya bilgi aktarma işi çekirdekte, bu bilginin aminoasit dizisine dönüştürülme işi ise sitoplazmada olmaktadır. Yani prokaryotlarda transkripsiyon ve translasyon aynı ortamda, ökaryotlarda farkı ortamlarda cereyan etmektedir. RNA çekirdeği terk etmeden önce bazı işlemlere tabi tutulur. Bu işlemler topluca RNA işleme olarak isimlendirilir. RNA'yı işlemeden önce ve sonra ayırt etmek için, yeni sentezlenen RNA'ya öncül veya birincil (primer) transkript veya pre-mRNA denilir ve mRNA terimi, işlenerek çekirdek dışına ihraç edilebilecek hale getirilmiş transkript için kullanılır. Göreceğimiz gibi, RNA'nın 5' yarısı işleme tabi olurken 3' yarısı hala sentezlenmektedir.

Üçüncü bir fark ise, ökaryotlarda DNA'nın kromatin yapıda organize olmuş olmasıdır. RNA polimeraz enziminin prokaryotlarda çıplak olan DNA'ya erişmesi doğrudan olmaktadır. Ökaryotlarda ise polimeraz kromatin yapıyı geçerek DNA kalıbına erişebilmektedir ki bu da burada ele almayacağımız bir seri ince ve ayrıntılı işlemi gerektirir.

Prokaryotlardaki tek bir RNA polimeraza karşılık, ökaryotlarda transkripsiyon için üç ayrı RNA polimeraz enzimi vardır:

- RNA polimeraz I (RNA pol I), rRNA sentezinde (5S rRNA hariç)
- RNA polimeraz II (RNA pol II) bütün protein kodlayan genleri mRNA'ya kopyalamada ve bazı snRNA sentezinde
- RNA polimeraz III ise tRNA ve diğer bazı snRNA ve 5S rRNA sentezinde rol alır.

Burada mRNA sentezlenmesine yoğunlaştığımız için RNA pol II üzerinde duracağız.

Ökaryotlarda da RNA pol II kendisi promotor bölgeyi tanımaz. Bu enzimin promotora bağlanması için σ alt ünitesi yerine GTF (genel transkripsiyon faktörleri) denilen proteinlerden bazıları görev yaparlar. Bu proteinler promotordaki dizileri ve birbirlerini tanıyarak bağlanırlar. RNA pol II çekirdeğini harekete geçirip transkripsiyonu başlatmak üzere doğru siteye yerleştirmek de bu proteinlerin işidir. Bu transkripsiyon öncesi dönemde görev yapan GTF'ler TFIIA ve TFIIB şeklinde gösterilirler. Bu GTF'ler ve RNA polimeraz II çekirdeği, başlangıç öncesi kompleks (PIC) oluştururlar: Her biri bir multi-protein olan altı adet GTF artı bir düzine veya daha fazla protein alt ünitesinden meydana gelen RNA Polimeraz II çekirdeği. Bu çekirdek alt ünitelerinin bazısının aminoasit dizisi mayadan insana aynıdır.

Promotor ökaryotlarda da başlama sitesinin yukarı tarafına (5' tarafına) yerleşmiştir. Bu promotor bölgede bir TATA kutusu, başlama sitesinden 30 baz çifti yukarıda (-30) yerleşmiştir. Transkripsiyonda ilk etkinlik TBP (TATA-bağlanma proteini)'nin bu TATA kutusuna bağlanmasıdır. TBP, altı GTF'den birisi olan TFIID kompleksinin bir parçasıdır.

TATA kutusuna bağlanan TBP, diğer GTF'leri ve RNA pol II çekirdeğini promotora çeker, böylece başlangıç öncesi kompleksi oluşur. Transkripsiyon başladıktan sonra, RNA pol II çekirdeği, ilkel RNA transkriptinin sentezini devam ettirmek üzere, GTF'lerin çoğundan ayrılır. GTF'lerin bazıları, bir sonraki RNA pol II çekirdeğini çekmek üzere promotorda kalır. Bu şekilde aynı genden farklı RNA pol II enzimleri, birden fazla RNA transkriptini peş peşe sentezleyebilmektedir. RNA pol II çekirdeğinin GTF'lerden ayrılması, β alt ünitesindeki CTD (Carboxyl tail domain: Karboksil kuyruk alanı) denilen bir uzantının fosforilasyonu ile olmaktadır. Özet olarak söyleyecek olursak ökaryotlarda transkripsiyonun başlaması için önce genel transkripsiyon faktörlerinin bazıları tarafından promotor bölge teşhis edilmekte ve bu faktörler çekirdek RNA pol II'yi bölgeye çekerek transkripsiyon başlama sitesine yerleştirmektedir. Sonra da RNA pol II çekirdeği bir şekilde bu faktörlerden ayrılarak transkripsiyona devam etmektedir.

Tablo: XI.2- Prokaryotlarla Ökaryotlar Arasında Transkripsiyon İşlemine İlişkin Temel Farklar (Griffith ve ark. 2000, sh. 330, Tablo: 10-8'den uyarlanmıştır.).

Prokaryot	Ökaryot
DNA paketlenmiş olmadığı için transkripsiyon nispeten daha kolay olur.	DNA kromozomlarda kromatinler halinde paketlenmiş olduğu için DNA transkripsiyon balonunun oluşması ve RNA polimerazın DNA transkripsiyon balonuna ulaşması bir seri işlem gerektirir.
-Tüm süreçler sitoplazmada gerçekleşir.	-Replikasyon ve transkripsiyon çekirdekte, translasyon ise sitoplazmada gerçekleşmektedir.
- Bir mRNA molekülü üzerinde birden fazla gene ait bilgi taşınmaktadır (Polisistronik).	-Her gen için ayrı bir mRNA molekülü oluşturulmaktadır (Monosistronik).
-Prokaryotlarda işlemlerin hepsi aynı alanda gerçekleştiği için transkripsiyon ve translasyon birbirini takip eden olaylar şeklinde değil eş zamanlı olarak (aynı anda) gerçekleşmektedir.	-Ökaryotlarda bu durum mümkün değildir. Çünkü transkripsiyon ve translasyon hücrenin farklı bölgelerinde meydana gelmektedir.
-Prokaryotlar üç farklı tip (mRNA, tRNA, rRNA) oluşturmak için tek bir RNA polimeraz kullanmaktadır.	-Farklı tip RNA'lar için (mRNA, tRNA, rRNA) özelleşmiş RNA polimerazlar vardır. Temel olarak RNA pol I, ribozomal RNA'nın; RNA pol II, mRNA'nın ve RNA pol III ise transfer RNA'nın sentezlenmesinden sorumludur.

Transkripsiyon işlemi başladıktan sonra esas olarak transkripsiyon balonu içinde devam eder. Ancak yeni sentezlenen RNA'nın akıbeti ökaryotlarda prokaryotlardakinden oldukça farklıdır. Prokaryotlarda translasyon yeni oluşan RNA'nın 5' ucundan başlarken 3' ucunda sentez devam etmektedir. Ökaryotlarda ise mRNA, translasyondan önce başka işlemler geçirmelidir: 1- 5' ucuna bir **şapkanın eklenmesi**, 2- **ekleme (splicing)** denilen bir işlemle intronları elimine edilmesi ve 3- 3' ucuna adenin nükleotidlerinden oluşan bir **kuyruk eklenmesi** (Poliadenilasyon işlemiyle bir polyA kuyruğu oluşuyor). Yapılan deneyler bu işlemlerin transkripsiyon esnasında başladığını göstermektedir. Bu sebeple denilebilir ki, yeni oluşan RNA, RNA pol II kompleksinden ayrılırken işlemler de başlar. Öncül mRNA'nın işlenerek olgun bir mRNA haline gelmesinde yukarıda sözü edilen CTD birimi merkezi rol oynamaktadır.

Yeni oluşmuş RNA, RNA polimeraz II'den ilk ayrıldığı zaman, başlık denilen özel bir yapı, CTD ile interaksiyon halinde olan birçok protein tarafından 5' ucuna eklenir. Başlık, transkripte üç fosfat grubu tarafından bağlanmış olan bir 7-metilguanozin tortusundan ibarettir. Başlık iki fonksiyon yapar. Önce, RNA'yı bozulmaktan korur – ökaryotik mRNA'nın translasyondan önce uzun sayılabilecek bir yolculuk yapacağı düşünülürse bu önemli bir adımdır. İkincisi birazdan göreceğimiz gibi, mRNA'nın translasyonu için gereklidir. RNA'nın sentezi,

3' ucuna yakın AAUAAA veya AUUAA dizisi bir enzim tarafından tanınmaya kadar devam eder ve bu enzim RNA'nın ucunu bu diziden yaklaşık 20 baz aşağı tarafta keser. Bu kesik uca, polyA kuyruğu denilen 150-200 adeninlik bir uzantı eklenir. Bundan dolayı AAUAAA dizisi bir *poliadenilasyon sinyali* olarak bilinir.

Başlık takıldıktan sonra, transkripsiyon devam ederken ekleme (splicing) denilen bir işlemle eksonların arasındaki intronlar kesilip atılarak mRNA'ya polipeptit sentezi için gerekli lineer bir süreklilik kazandırılır. Kesilen intronların sayısı ve büyüklüğü türden türe ve genden gene değişiklik gösterir. Meselâ mayada 6300 genden sadece 200'ünde intronlar vardır. Oysa insan da dâhil memelilerde tipik genlerin intron sayısı farklıdır. Ortalama olarak bir memeli geninde intronlar 2000, eksonlar ise 200 nükleotid büyüklüğündedir. Yani memelilerde DNA'nın büyük bir yüzdesi intron kodlamaktadır. Sıra dışı bir misal insanda bir kas bozukluğuna yol açan Duchenne genidir. Bu gen toplam 2,5 milyon baz çifti boyunca sıralanmış olan 79 ekson ve 78 introna sahiptir. 79 ekson, aradan intronlar kesilip birbirine eklemlendiği zaman 14,000 nükleotidlik bir mRNA oluştururlar. Kesilip atılan bu kadar çok intronun fonksiyonu üzerine tefekkür etmek gerekir. Böyle bir inceleme bizi **alternatif ekleme** denilen bir işleme götürür. (Griffith ve ark. 2008)

Proteinlerin sayısı insanda fonksiyonu belirlenen gen sayısının 3-4 katıdır; 30 binden fazla gen 100 binden fazla protein. Bu durumda birincil transkriptten eksonların farklı kombinasyonlarının eklenmesi söz konusudur. Alternatif ekleme olan genlerin oranı türden türe değişmektedir. Bitkilerde nadir olmakla birlikte insan genlerinin %70'de fazlası alternatif olarak eklenmektedir (Griffith ve ark 2008). Organizmalar için ciddi sonuçları olan birçok mutasyon, ekleme hatalarından kaynaklanmaktadır.

İntronların kesilip atılması ve eksonların eklenmesinin çekirdekte cereyan edişi bu kitabın kapsamı dışındadır. Ancak küçük fonksiyonel RNA'ların proteinlerle oluşturduğu kompleksler burada rol oynamaktadır. Bu konuda daha fazla bilgi için Griffith ve ark 2008 (veya daha sonraki baskıları) önerilir.

Özet olarak söylemek gerekirse ökaryotik birincil mRNA translasyon için sitoplazmaya taşınmadan önce, geniş ölçüde, 5' ucunda bir başlığa, 3' ucunda bir polyA kuyruğuna sahip olacak ve intronlar kesilip atılarak eksonlar birbirine eklemlenecek şekilde bir işleme tabi tutulur.

XI.5- Çalışma Problemleri

VI.1. Transkripsiyon ile ilgili olarak aşağıdaki seçeneklerden hangisi/hangileri yanlıştır?

- I.** RNA polimeraz enzimi sense eksen kalıp olarak kullanarak mRNA molekülünü sentezler.
II. Prokaryotik canlılarda olgun mRNA oluşum sürecinde (splicing) intron bölgeler kesilip atılır.
III. Genetik bilgi taşıyan eksen sense eksen olup mRNA molekülü ile özdeşdir.
IV. DNA polimeraz enzimi DNA molekülünde 3' ACC bölgesine bağlanıp mRNA sentezleyebilir.
V. mRNA molekülünün 3' ucuna guanil transferaz enzimi tarafından "cap" koruyucu başlığı sentezlenir.

- a)I-II b)I-III c)II-IV-V d)III-IV-V e)I-II-IV-V

VI.2. Aşağıdakilerden hangisi yanlıştır?

- I.** Prokaryotik canlılarda transkripsiyon bitmeden translasyon başlayamaz.
II. Ökaryotik canlılarda transkripsiyon devam ederken translasyon başlayabilir.
III. Prokaryotik canlılarda genetik bilgi sürekli olup intron bölgeler bulunmaz.
IV. Prokaryotik canlılarda mRNA'nın işlenmesine (splicing) gerek yoktur.
V. Ökaryotik canlılarda transkripsiyon ribozomlarda gerçekleşir.

- a)II-IV-V b)I-II-V c)I-III d)II-V e)I-II

VI.3. Primer aminoasit sırası ...Pro.Phe.Lys.... olan bir polipeptidi kodlayan DNA antisense eksenini aşağıdakilerden hangisi olabilir? (AAA:Lys., CCC:Pro., UUU:Phe.)

- a)3'...GGG AAA TTT...5' b)5'...CCC TTT AAA...3' c)3'...CCC AAA TTT...5'
d)5'...CCC UUU AAA...3' e)3'...GGG AAA UUU...5'

VI.4. Translasyon kavramı ile ilişkili olarak aşağıdaki seçeneklerden hangisi yanlıştır?

- a) Ökaryotik ve prokaryotik canlılarda aminoasit sentezinin başlaması için gerekli olan başlat kodonu AUG kodonudur.
b) Olgun mRNA molekülündeki nükleotid sırası proteinlerin primer yapısını belirlemektedir.
c) İki aminoasit arasındaki dipeptit bağlarının yapımı peptidil transferaz enzimi ile yapılmaktadır.
d) Ökaryotik canlılarda transkripsiyon bitmeden translasyon başlayabilir.
e) Translasyonun başlayabilmesi için ribozomun büyük ve küçük alt birimleri birleşmelidir.

VI.5. Prokaryotik canlılarda mRNA'nın DNA'dan sentezlenmesi nerede gerçekleşir?

- a)Çekirdek b)Sitoplazma c)Ribozom
d)Mitokondri e)Çekirdek zarı

VI.6. Aşağıdakilerden hangisi doğrudur?

- a)Bakterilerde transkripsiyon ve translasyon peş peşe olur.
b)Ökaryotlarda mRNA'nın çekirdek dışına çıkması gerekmez.
c)Bakterilerde translasyon için mRNA çekirdek dışına çıkmalıdır.
d)Prokaryotlarda translasyon bitmeden transkripsiyon başlamaz.
e)Ökaryotlarda transkripsiyon ve translasyon aynı anda olabilir.

VI.7. Bir DNA molekülünün bir eksenindeki baz sıralanışı 3'...GCCACCGTA...5' şeklindedir. Bu baz sıralanışına uygun mRNA kaç tane aminoasit sentezleyebilir?

- a) 4 adet b) 3 adet c) 12 adet d) 2 adet e) 9 adet

Kaynaklar

Düzgüneş O. Ve H.R. Ekingen, 1983, Genetik, İkinci Baskı, A.Ü. Ziraat Fakültesi Yayını, Ders Kitabı, Ankara.

Griffiths A.J.F, J.F. Miller, D. T. Suzuki, R.C. Lewontin, W.M. Gelbart, 2000, Introduction to Genetic Analysis, 7th edition, Freeman and Company, USA

Griffiths A.J.F, S.R. Wessler, R.C. Lewontin, S.B. Carroll, 2008, Introduction to Genetic Analysis, 9th edition, Freeman and Company, USA

Klug W.S and M.R. Cummings, 1997, Concepts of Genetics, 5th edition, Prentice Hall, USA

Russell P.J., 2006, iGenetics A Mendelian Approach, Pearson - Benjamin Cummings,, USA.

Yıldız, M.A., 2010, Basılmamış Genetik Ders Notları, Ankara.