

PROTEİN BIYOSENTEZİ

DOÇ.DR.FILİZ BAKAR ATEŞ

DNA ONARIMI

- Çeşitli kimyasallar (nitroz asit vb) ya da radyasyon (UV ışığı gibi) gibi nedenlerle DNA sentezinde hatalar olabilir.
 - UV ışığı : pirimidin dimerleri
 - Yüksek enerjili iyonize radyasyon: Çift iplik kırıkları
 - Yanlış baz eşleşmesi vb.

DNA ONARIMI

A. YANLIŞ EŞLEŞME ONARIMI (METİL ODAKLI)

- E.coli ve ökaryotlarda **Mut proteinleri** hatayı tanır.
- Yaklaşık 1000 nükleotitte bir GATC sekansları bulunur.
- Kalıp zincirde bu sekanstaki A metillenmiştir.
- Diğerleri yeni iplikçik
- Ekzonükleaz yanlış nükleotidi (çevredeki birkaçı ile birlikte) çıkarır.
- DNA pol III, I, DNA ligaz

YANLIŞ EŞLEŞME ONARIMI (MISMATCH REPAIR)

- Bu mutasyon nedeni ile insanlarda "nonpolipozis kolorektal karsinoma" oluŐmakta.
- CRC'lerin yalnızca %5'i.

B. UV IŒIĐİN YAPTIĐI HASARIN ONARIMI

- UV ışığına maruziyet, art arda gelen pirimidinlerin (genellikle timinler) birlere "pirimidin dimerleri" oluşturmasına neden olur.
- UV-spesifik endonükleaz enzimi dimeri tanır ve çıkarır.
- Karşı zincir kalıp olarak kullanılarak DNA pol ve DNA ligazlar ile boşluk doldurulur.

UV RADYASYONU VE KANSER

- Direkt güneş ışığına maruz kalan kişilerin cilt hücrelerinde pirimidin dimerleri oluşabilir.
- Kseroderma pigmentosum, genetik bir hastalık,
- Hücreler hasarlı DNA'yı onaramazlar
- UV-spesifik endonükleazlar eksiktir
- Cilt kanserleri gelişir.

C. BAZ DEĞİŞİKLİKLERİNİN DÜZELTİLMESİ (BASE EXCISION REPAIR)

- DNA'daki bazlar değişime uğrayabilir.
 - a) Kendiliğinden (Sitozin yavaş bir şekilde amino grubunu kaybedip urasile dönüşebilir)
 - b) Deaminasyon veya alkilasyon ajanlarının etkisiyle (hücre içinde oluşan nitroz asit, deaminasyona yol açan potent bir bileşiktir. C, A ve G deki amino gruplarını uzaklaştırır.)
 - c) Spontan kayıplar (gün içinde yaklaşık 10.000 pürin bazı spontan olarak kayba uğrar).

C. BAZ DEĞİŞİKLİKLERİNİN DÜZELTİLMESİ

1. ANORMAL BAZLARIN UZAKLAŞTIRILMASI

- Normalde DNA'da bulunmaması gereken bazlar varsa, ya da sonradan oluşmuşsa, bunlara "anormal baz" denir.

Örneğin, Sitozinin deaminasyonu ile oluşan urasil ya da DNA sentezi sırasında yanlışlıkla dTTP yerine dUTP katılması

C. BAZ DEĞİŞİKLİKLERİNİN DÜZELTİLMESİ

1. ANORMAL BAZLARIN UZAKLAŞTIRILMASI

- Anormal bazlar özgün glikozilazlar ile tanınır.
- Sarmalın deoksiriboz fosfat ana iskeletinden hidrolizle ayrılır.
- Böylece **apirimidinik / apürinik bölge (AP Bölgesi)** oluşur.
- Özgün AP-endonükleazlar bu bölgeyi tanır.
- "**Deoksiriboz fosfat liyaz**" baz içermeyen şeker-fosfat rezüdüsünü çıkarır
- Kalan kısım DNA pol ve DNA ligaz ile doldururlur

D. ÇİFT ZİNCİR KIRIKLARI

- Yüksek enerjili radyasyon ya da oksidatif serbest radikaller, DNA'da çift zincir kırıklarına neden olabilir.
- Bu hasar, bahsedilen diğer onarım mekanizmaları ile giderilemez.
- İki temel mekanizma
 1. Nonhomolog sonları-birleştirme onarımı (nonhomologous end-joining repair)
 - İki DNA fragmenti çeşitli proteinlerle biraraya getirilip bağlanır.
 - Bir miktar DNA kaybı olur.
 - Hataya meyilli ve mutajeniktir
 - sistemdeki defektler sonucu kanser ve immün yetersizlik sendromları gelişebilir
 1. Homolog Rekombinasyon Onarımı
 - Mayoz sırasında homolog kromozomlar arasındaki genetik rekombinasyonu gerçekleştiren enzimleri kullanır
 - Homolog DNA'yı kalıp olarak kullandığından, hata yüzdesi çok daha düşüktür.

RNA
YAPISI VE SENTEZİ

- Bir organizmanın genetik yapısını DNA'da bulunan deoksiribonükleotid dizeleri belirler.
- Genetik bilginin DNA'da saklanmasına karşın, bu bilginin ifade edilmesi "RNA"larla sağlanır.
- DNA'dan RNA sentezi.....**Transkripsiyon**

RNA'NIN YAPISI

- DNA gibi RNA da düz zincirli polimerik moleküllerdir
- Fosfodiester bağları ile birleşmiş mononükleotitlerden oluşurlar
- DNA'dan daha küçüklerdir
- Timin yerine Urasil , deoksiriboz yerine riboz

RNA'NIN YAPISI

➤ Protein sentezinde 3 tip RNA rol oynar

1. Ribozomal RNA (rRNA)
2. Transfer RNA (tRNA)
3. Mesajcı RNA (mRNA)

✓ RIBOZOMAL RNA

- Ribozomlarda bulunur
- Değişik proteinlerle birlikte protein sentezinin olduğu ribozomları oluştururlar.
- Prokaryotik hücreler ve ökaryotik mitokondrilerde 23S, 16S, 5S rRNA,
- Ökaryotik hücrelerde, 28S, 18S, 5.8S, 5S rRNA bulunur.
- "S" svedberg ünitesi (bileşiğin molekül ağırlığı ve şekil yapısı ile ilişkili)
- rRNA'lar, hücredeki total RNA'nın %80'ini oluşturmaktadır.
- Katalitik aktivitesi olan RNA'lar, "**ribozimler**"
- Protein sentezinde görevli rRNA'lar katalitik aktivite gösterir.

✓ tRNA

- En küçük RNA molekülleri (4S)
- Yaklaşık 74-95 nükleotid içerir
- Protein yapısında yer alan 20 aminoasitin her birine özgün bir tRNA molekülü vardır
- Total RNA'nın %15'i
- Her tRNA kendisine özgün aa taşır ve protein sentezi olan yere götürür
- tRNA'lar, kendisine spesifik aa'ı 3' ucuna kovalent bağlı olarak taşıdıkları için "Adaptör molekül" olarak görev yapar
- Protein sentezi olan yerde, mRNA daki koda uygun olarak aa'ı peptid zincirine eklerler.

✓ mRNA

- Total hücresel RNA'nın %5'i
- DNA'dan aldığı genetik bilgiyi protein sentezi için sitozole taşır.
- mRNA, sitozolde, protein sentezi için kalıp olarak kullanılır.
- Prokaryotlarda, polisistronik mRNA (birden fazla genden bilgi taşıyan)
- Ökaryotlarda, monosistronik mRNA (tek bir genden bilgi taşıyan)

GENLERİN TRANSKRİPSİYONU

Prokaryotik ve ökaryotik RNA'ların transkripsiyonu, kontrol mekanizmaları ve post-transkripsiyonel modifikasyonlar farklıdır !!!

PROKARYOTİK GENLERİN TRANSKRİPSİYONU

➤ Bakterilerde tek cins RNA polimeraz bulunur.

2 bölümü var:

- a) Merkez (core) enzim: Özgünlük yok, DNA kalıbı üzerindeki promotor bölgeyi tanımaz.
- b) Holoenzim: RNA polimerazın σ alt birimi (sigma faktörü) DNA üzerinde bulunan promotor bölgeyi tanır ve bağlanır.

Merkez enzim ve σ -alt birimi birlikte "Holoenzim" oluşturur.

RNA SENTEZİNİN BASAMAKLARI

E.coli'de bir genin transkripsiyonu başlıca 3 basamakta gerçekleşir:

1. Başlama
2. Uzama
3. Sonlanma

BAŞLAMA (INITIATION)

DNA'da transkripsiyonu yapılacak genin genellikle başında bulunan ve o genin özel bir bölgesine RNA polimerazın bağlanması ile transkripsiyon başlar.



PROMOTOR BÖLGE

RNA POLIMERAZ TARAFINDAN TANINAN NÜKLEOTID DİZELERİ

1. -35 SEKANSI (TTGACA)
2. PRIBNOW BOX (TATAAT)

2. UZAMA (ELONGATION)

Holoenzim, promotor bölgeyi tanıyıp oturduktan sonra, DNA heliksi açılmaya başlar ve RNA polimeraz transkripti sentezler.



Başlangıç aşamasında, yaklaşık 10 nükleotidlik transkript sentezlendikten sonra, uzama aşamasına geçilir.



Uzama aşamasına geçilince RNA polimerazın sigma alt birimi ayrılır.



RNA polimeraz, primere ihtiyaç duymaz, endo- ve ekzonükleaz aktiviteleri yoktur.



Sentez 5'-3' yönünde olur

3. SONLANMA (TERMINATION)

Tek iplikçikli RNA transkriptinin uzaması, bir sonlanma sinyali alana kadar devam eder. Bu sinyal, spontan olabilir...



a) ρ (Rho)-bağımsız Sonlanma

Rho (ρ) faktörü olarak bilinen bir protein de olabilir.



a) P (Rho)-bağımlı Sonlanma

ÖKARYOTİK GENLERİN TRANSKRİPSİYONU

- Prokaryotlardan daha karmaşık
- tRNA, rRNA ve mRNA sentezi için farklı polimerazlar gerekli
- Ayrıca, transkripsiyonun olabilmesi için promotor bölge ya da ona yakın nükleotidlere bağlanan çok sayıda "transkripsiyon faktörü" gerekir
- DNA'ya bağlanan TF'ler hangi genlerin transkripsiyona uğrayacağını belirler
- TF'lerin özgün DNA dizilerine bağlanması için DNA sarmalın daha gevşek konformasyonda ve geçici olarak nükleozom merkezinden ayrılmış olması gerekir.

A. ÖKARYOTİK HÜCRELERİN NÜKLEER RNA POLİMERAZLARI

➤ Ökaryotik hücre çekirdeklerindeki RNA polimerazlar:

1. RNA polimeraz I: Nukleolustaki 28S, 18S ve 5.8S rRNA'ların prekürsörlerini sentezler

2. RNA polimeraz II: Protein sentezinde kullanılacak olan mRNA'ların prekürsörlerini sentezler. Ayrıca küçük nükleer RNA (snRNA) ve miRNA'ları da sentezler. Bazı virüslerde viral RNA da bu enzim yardımı ile sentezlenmektedir.

RNA POLİMERAZ II İÇİN PROMOTORLAR VE TF'LER

- -25 nükleotidlik bölgede "TATA (Hogness) box"
- -70-80 baz öncesinde "CAAT box"
- Konstitütif genlerde TATA box yerine "GC zengin bölge (GC box)"
- **PROMOTOR BÖLGE** (Bu bölgeler, TF'ler tarafından tanınır ve bağlanır)
- Bu sekansların tümü, transkribe olan genin olduğu DNA molekülünün üzerinde ise, "cis acting elements"
- TF'ler farklı genler tarafından sentezlenip görev bölgelerine taşındıkları için "trans acting elements"

ÖKARYOTİK GENLERİN REGÜLASYONUNDA HIZLANDIRICILARIN ROLÜ

- Hızlandırıcılar (enhancer) RNA pol II'nin transkripsiyona başlama hızını artıran DNA dizeleridir.
- Hızlandırıcılara özgün proteinler bağlanır ve bunlar da promotora bağlanan TF'ler ile ilişkiye girerler ve transkripsiyonu etkilerler.

RNA POLIMERAZ III

- Küçük RNA'ları sentezler.
- tRNA'lar, 5S ribozomal RNA, ve bazı snRNA lar

Mitokondriyel RNA Polimeraz

Mitokondride, ökaryotik bir enzimden çok bakteriyel RNA polimeraza benzereyen tek bir RNA polimeraz enzimi bulunur.

RNA'NIN POST- TRANSKRİPSİYONEL MODİFİKASYONLARI

- ❖ Transkripsiyon sonrasında RNA'da değişiklikler meydana gelir.
- ❖ Hem prokaryotik hem de ökaryotik tRNA ve rRNA lar transkripsiyonun hemen sonrasında değişikliğe uğrarlar.
- ❖ Prokaryotik mRNA'da fazla bir değişiklik olmaz.
- ❖ Ancak, ökaryotik mRNA da önemli değişiklikler olur !!!!

rRNA'NIN POSTTRANSKRİPSİYONEL MODİFİKASYONLARI

- ❖ Prokaryotik/ökaryotik rRNA'lar, Pre-rRNA şeklinde sentezlenir
- ❖ Sonra, ribonükleazlar ile uygun boyutlarda kesilir.
- ❖ Ökaryotik 5S rRNA, RNA pol III ile sentezlenir ve farklı bir şekilde modifikasyona uğrar.
- ❖ rRNA'ların sentez ve snoRNA (small nukleolar RNA) lar tarafından baz ve şeker modifikasyonları ile işlenmesi nükleolusta olur.



tRNA'NIN
POSTTRANSKRİPSİYONEL
MODİFİKASYONLARI



mRNA'NİN
POSTTRANSKRİPSİYONEL
MODİFİKASYONLARI

PROTEİN BİYOSENTEZİ

GENETİK KOD

- Bir nükleotid dizesinin karşılık geldiği aminoasit dizesidir
- 3 nükleotit bazı bir kodon oluşturur
- Bir gende sentezlenecek proteinin uzunluğu ile orantılı sayıda kodon bulunur

KODONLAR

- mRNA'da bulunan A, U, C, G bazlarından oluşur.
- Bir kodonda bu bazlardan 3'ü bulunur ve bir aminoasite karşılık gelir.
- Kodonları oluşturan nükleotit dizileri 5' uçtan 3' uca doğru yazılır.
- 64 değişik kombinasyon olabilir (4^3)

- 64 kodondan 61'i protein yapısında bulunan 20 aminoasiti kodlar.
- 5'-AUG-3' Başlangıç kodonudur !!!!

- Sonlanma (stop) kodonu
- UAA, UAG, UGA kodonları hiçbir aa kodlamazlar
- mRNA bu kodonlara gelince peptid zinciri sentezi durur

GENETİK KODUN ÖZELLİKLERİ

- ✓ **Spesifite (özgünlük):** Genetik kod özgündür. Her aa'in kendisini özgün olarak kodlayan bir kodonu vardır
- ✓ **Evrensellik:** Genetik kod evrenseldir, bozulmadan günümüze kadar gelmiştir.
- ✓ **Sadece mitokondride değişiklik var (UGA...triptofan kodlar)**
- ✓ **Çokluk (çok miktarda bulunma):** Genetik kod çok miktarda bulunur. Her ne kadar bir kodon, bir aa'e özgünse de, bazı aa ler birden fazla kodon ile kodlanabilirler.
Örn; Arginin için 6 özgün kodon
Met ve Triptofan tek kodon
- ✓ **Üstüste çakışmama ve commaless (virgülsüz) olma:** Genetik kod belirli bir başlangıç noktasından okunmaya başlar ve süreklidir; aralara virgül konmaz. AGCUGGAUACA...AGC/UGG/AUA/CAU

NÜKLEOTİT DİZELERİ DEĞİŞİRSE NE OLUR????

- mRNA dizisindeki bir nükleotit bazının değişmesi (NOKTA MUTASYONU)



- Sessiz mutasyon
- Yanlış (miscense) mutasyon
- Saçma (nonsense) mutasyon

TRANSLASYON İÇİN GEREKLİ KOMPONENTLER

- Protein sentezi için çok sayıda komponentin sitoplazmada bir araya toplanması gereklidir!!!!
1. Aminoasitler
 2. tRNA
 3. Aminoaçil-tRNA sentetazlar
 4. mRNA
 5. Fonksiyonel ribozomlar
 6. Protein faktörleri
 7. Enerji (ATP ve GTP)

KODONUN tRNA TARAFINDAN TANINMASI

Wooble Hipotezi !!!!!

"tRNA, özgün bir aa'e ait birden fazla kodonu tanır"

PROTEIN SENTEZİNİN BASAMAKLARI

- mRNA'dan 5'-3' yönünde okunur ve peptid zinciri, amino ucundan karboksil ucuna doğru sentezlenir.
- Prokaryotik mRNA'lar birkaç genin bilgisini bir arada içerir ve birkaç protein aynı anda sentezlenir...**polisistronik** mRNA'lar
- Ökaryotlarda **monosistronik** mRNA'lar
- Prokaryotlarda, nükleer membran olmaması nedeni ile transkripsiyon ve translasyon eş zamanlı (coupling) olarak yürür.

PROTEIN SENTEZİNİN BASAMAKLARI

1. BAŞLAMA

- Başlama faktörleri gereklidir /(prokaryotlarda IF-1, IF-2, IF-3, ökaryotlarda tek bir eIF)
- Ribozomun, translasyonu başlatan sekansı (AUG) tanınması için iki mekanizma var:
 1. Shine-delgarno dizisi
 2. Başlangıç kodonu

PROTEIN SENTEZİNİN BASAMAKLARI

2. UZAMA

- Peptid zinciri, 3' ucuna doğru sentezlenirken, uzama faktörleri (EF) önemlidir. GTP gerektirir
- E.coli'de, EF-Tu, EF-Ts
- Ökaryotlarda, EF-1 α , EF-1 β
- Peptidiltransferaz, peptid bağı oluşumunu katalizler
- Reaksiyonu bir rRNA katalizlediği için **ribozim** de denir.
- Peptid bağı oluştuktan sonra, ribozom, mRNA üzerinde 3' ucuna doğru 3 nükleotid ilerler**Translokasyon (GTP gerekli)**

PROTEIN SENTEZİNİN BASAMAKLARI

3. SONLANMA

- 3 sonlanma kodonundan biri A bölgesine geldiğinde protein sentezi durur.
- **Sonlanma (salınım) faktörleri yardımcı olurlar**
- E.coli'de, RF-1 UAA ve UAG'yi, RF-2 UGA ve UAA'yı tanır
- Bu faktörlerin bağlanması, P bölgesinde tRNA-peptid bağının hidrolizine neden olur.
- RF-3 ise, RF-1 ve RF-2'nin salınmasına yardım eder
- Ökaryotlarda, tek bir faktör "eRF" bulunur.
- Yeni sentezlenen protein, posttranslasyonel modifikasyonlara gider.

POST-TRANSLASYONEL MODIFIKASYONLAR

- A. Kısaltma (Zimojen proteinler)
- B. Kovalan değişiklikler
 - ✓ Fosforilasyon (Protein kinazlar, serin, treonin, az miktarda tirozin fosforilasyonu, aktif/inaktif proteinler)
 - ✓ Glikozilasyon (hücre zarı yapısına katılacak ya da ekstrasellüler proteinlerin yapısında kh zincirleri vardır. Serin, treonin, OH-lizin (O-bağlı), Asparagin (N-bağlı). O-glikozilasyon golgide, N-glikozilasyon ER'de yapılır)
 - ✓ Hidroksilasyon (Kolajen yapısındaki prolin ve lizinin α -zincirleri, ER'deki vit C bağımlı hidroksilazlar ile hidroksillenir)
 - ✓ Diğer kovalan modifikasyonlar (biotin bağımlı piruvat karboksilaz enzimine biotin bağlanması, Vit-K bağımlı karboksilasyon işlemi ile glutamat rezidülerine COOH eklenmesi, vb.)

POST-TRANSLASYONEL MODIFIKASYONLAR

C. Protein katlanması (proteinlerin fonksiyonlarını göstermesi için uygun katlanmalar gerekir. Spontan ya da şaperonlar aracılığı ile)

D. Protein Degradasyonu (Hatalı proteinler, ubikitinasyon ile ortamdan uzaklaştırılır.)

KAYNAKLAR

- Lippincott's Biochemistry, 5th Edition
- Harper's Illustrated Biochemistry, 28th Edition