

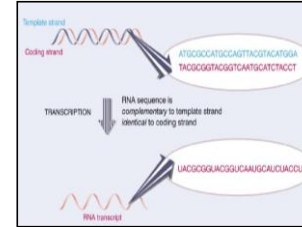
MOLEKÜLER BİYOLOJİ II B208

Prof. Dr. Özlem OSMANAĞAOĞLU

TRANSLASYON

Hücrede protein sentezi (gen ekspresyonu) için iki işlem gereklidir

- **Transkripsiyon** işlemi ile DNA molekülüne tamamlayıcı olan RNA sentezlenir
 - **Transkripsiyon** işleminde DNA molekülünün kalıp zincirine (template) tamamlayıcı olan veya anlamlı zincirin (coding) aynısı olan (tek fark **timin** yerine **uracil** bazının olması) tek zincir RNA molekülü sentezlenir
- **Translasyon** işleminde mRNA molekülündeki baz sekansı polipeptit zincirindeki amino asit sekansını belirler



GENETİK KOD

GENETİK KOD

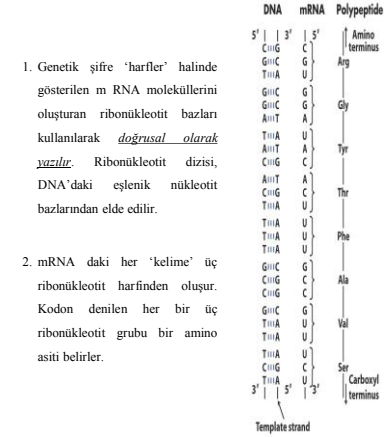
Genetik şifre bir çok karakteristik özelliğe sahiptir

- Gen ekspresyonunun aslı veya özü, *DNA molekülündeki nükleotit baz sekansı ile protein molekülündeki amino asitlerin doğrusal düzeni arasındaki ilişkide yatmaktadır*
- Bu ilişki, **genetik kod** olarak bilinen bir takım kurallara dayanmaktadır
- DNA'nın proteinleri nasıl kodladığını bizlere söyleyen bu kodun çözülmesi 21.ci yüzyıl biyolojisinin dönüm noktasıdır
- VE, *gündeki baz sekansı genellikle polipeptit zincirindeki amino asit sekansını kodlamaktadır, ve bu bağlamda gündeki baz sekansları ile polipeptit zincirindeki amino asit sekansları arasında linear bir ilişki vardır*

GENETİK KOD

- **Gündeki nükleotit sekansının polipeptit zincirindeki amino asit sekansını kodladığını** belirten temel prensip (bir gen-bir nükleotit) tRNA (transfer RNA), rRNA (ribosomal RNA) ve küçük nuclear RNA gibi genleri kodlayan birkaç istisna gen dışında neredeyse tüm genlerde geçerlidir
- Bakteriyal genlerde, gündeki baz sekansı ile bu gen tarafından kodlanan polipeptit zincirindeki amino asit sekansı arasında direk linear bir ilişki bulunmaktadır
- Ancak, bu durum ökaryotik genlerde daha kompleksir

GENETİK KOD



GENETİK KOD

- Ökaryotik genlerin çoğunda, gende kodlama yapan (**exon**) bölgelerin arasında kodlama yapmayan (**intron**) bölgeler bulunmaktadır
- Dolayısıyla da, *gündeki nükleotit sekansı ile polipeptit zincirindeki amino asit sekansı arasında linear bir ilişki bulunmamaktadır*
- Bu tip kompleks gen organizasyonu tek bir genden birden fazla mRNA molekülünün oluşumuna imkan tanımaktadır, yani tek bir gen birden fazla polipeptit kodlayabilmektedir (**alternative splicing**)

Genetik Kod Triplet'dir

DNA ve proteinler arasındaki sekans ilişkisine müteakip bir sonraki soru protein yapısındaki her bir amino asiti belirlemek için DNA molekülündeki nükleotitlerden kaç tanesinin bir araya gelmesi gerekmektedir?

- DNA yapısında 4 farklı baz A, T, C, & G
- RNA yapısında 4 farklı baz U, A, G, & C
- Protein molekülünün yapısında genetik olarak kodlanan 22 aa bulunmaktadır

Genetik Kod Triplet'dir

- Bitişik iki nükleotit'den oluşmuş ikili kod bu durum için uygun olmayacaktır, çünkü neticede ortaya $4^2=16$ farklı kombinasyon çıkacaktır
- Ama bir mesaj için 3 nükleotit bir araya gelirse, neticede $4^3=64$ farklı kombinasyon ortaya çıkacaktır
 - Bu sayı proteinlerin yapısında bulunan 22 ortak amino asidi kodlamak için yeterinden de fazladır
 - **Genetik kod triplet'dir** yani çift zincir DNA molekülündeki her üç baz çiftinden oluşan kod polipeptit yapısındaki her bir amino asiti belirlemektedir

Dolayısıyla - 64 farklı DNA triplet kod veya RNA kodunu

Genetik Kod Triplet'dir



DNA "dili" her biri protein yapısındaki 22 amino asitten birine karşılık gelecek şekilde en az 22 "mesaj" içermek zorunda olduğundan, her bir amino asiti kodlayan DNA mesajı birden fazla nükleotit içermek durumundadır

Genetik Kod Triplet'dir

mRNA molekülündeki toplam 64 triplet kod'dan 60 tanesi proteinlerin yapısında bulunan ortak amino asitleri kodlamakta, 4 tanesi de "stop" ve "start" kod görevi görmektedir (1 tanesi protein sentezinin başlaması için gerekli olan start kodunu, geriye kalan 3 tanesi de hücreye polipeptit zincir sentezinin sonlanması gerektiğini ifade eden stop kodunu'dur)

Genetik Kod Belirlidir

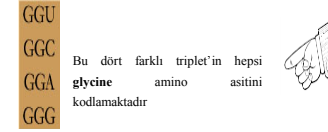
- Genetik kod belirlidir, yani her bir kodonun sadece ve sadece tek bir anlamı vardır.
- mRNA molekülündeki olası 64 kodondan 61 tanesi amino asitleri kodlamaktadır (selenocysteine, pyrrolysine ???)

Genetik Kod Dejeneredir

- Ancak, genetik kod **dejener**e olduğu için, mutasyonların çoğu kodon değişikliğine sebep olmaktadır ki kodondaki bu değişiklik de belirlenen amino asit'de değişiklik yaratmaktadır
- Tek bir amino asit değişikliğinden ortaya çıkan protein davranışındaki değişiklikler oldukça küçüktür ve bazı durumlarda da avantaj teşkil etmektedir
 - Orak hücre anemisi ve sıtma
- Bununla beraber, kodonun 3.cü bazında meydana gelen mutasyonlar belirlenen amino asit'de her hangi bir değişikliğe sebep olmayabilir
 - ACU kodonunu ACC, ACA ve ACG kodonuna çeviren mutasyonlar bu kodonlar tarafından kodlanan amino asit'de değişikliğe sebep olmazlar çünkü bu 4 kodon'da threonine (Thr) amino asidini kodlamaktadır

Genetik Kod Dejeneredir

- **Dejener Kod:** bir amino asit birden fazla nükleotid tripleti tarafından kodlanabilir



- Eğer kodlama işlemi için sadece 20 triplet olsaydı (her biri proteinin yapısında bulunan 20 amino asit'den biri için) DNA molekülünde meydana gelebilecek herhangi bir mutasyon genetik bilginin o noktada akışını durduran bu geri kalan olası 44 triplet'ten birinin oluşumuna neden olacaktır

Genetik Kod Üst üste Çakışmaz (Nonoverlapping)

NONOVERLAPPING GENETİK KOD: *Translasyon başladıkdan sonra, mRNA'nın belirli bir yerindeki herhangi bir ribonükleotidsadece ve sadece bir triplet'in parçasıdır*

Genetik kod; **KODON** (ardışık üç nükleotidin bir araya gelmesi) olarak isimlendirilen bilgiyi taşıyan blokları içerir.

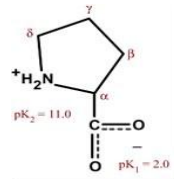
OKUMA ÇERÇEVESİ: triplet ve her bir okuma çerçevesi 1 amino asit içindir

Genetik Kod Evrenseldir

- Genetik kodun son özelliği nerdeyse **evrensel** olarak kabul edilmesidir
- Birkaç istisna dışında, şu ana kadar üzerinde çalışma yapılan organizmaların tamamı (tüm virüs, prokaryot ve ökaryotlar) **aynı temel genetik kodu** kullanmaktadır
- Her ne kadar yaşayan bir mevcudiyet olarak kabul edilmeselerde, virüs'lerde aynı genetik kodu kullanmaktadır
- Bununla beraber, standart genetik kodun kullanılmadığı bazı istisnalarda bulunmaktadır (özellikle mitokondride, kloroplast'da, bazı bakteri ve tek hücreli organizmalarda)

Proline (imino acid)

- Proline serbest amino gruba sahip olmayan ve aynı zamanda halkasal olan tek amino asittir
- Yapısal sertliğinden dolayı genelde alfa-heliks yapısının uç kısmındaki rezidülerde, dönüşlerde (turn) veya loop yapısında yer alır yer alır
- Kollojen yapısında yaygın olarak bulunur



Genetik Kod Evrenseldir

Mitokondri

- Kendi DNA'sına sahiptir
- Transkripsiyon ve translasyon işlemini gerçekleştirebilir
- Ancak genetik kod standart olarak kullanılan genetik kod'dan birkaç şekilde farklılık göstermektedir



Standart genetik kod sisteminde **stop** kodon olan **UGA** kodonu memelilerde ve maya mitokondrisinde **tryptophan** olarak translasyona uğramaktadır

Standart genetik kod sisteminde (maya mitokondrisi de dahil) **arginine** amino asitini kodlayan **AGA** kodonu memeli mitokondrisinde **stop** kodonudur

Peptidil proil izomeraz

- Protein katlanmalarında görev yapan diğer bir enzim ise içeriğinde **pro** amino asitinin bulunduğu yapılarda peptit bağının izomerizasyonunu katalize eder
- Proline ender rastlanan bir amino asittir ve zincirde pro aminoasitinin içinde yer aldığı peptit bağı genelde **cis** konformasyonundadır, oysa diğer tüm amino asitler arasındaki peptit bağı **trans** konformasyonundadır

Peptidil proil izomeraz

- Pro amino asitinin yer aldığı cis konformasyonundaki peptit bağı hem prokaryot hem de ökaryot hücrelerde bulunan ve protein katlanmalarında önemli göreve sahip olan [peptidil proil izomeraz](#) enzimi ile trans konformasyona dönüştürülür

22. Amino asit: pyrrolysine

Ohio State University,Columbus, USA de bir grup araştırmacı metanojenlerde (methane-CH₄ üreten) methylamine'ı (CH₃NH₂) parçalayarak methane üreten methyltransferase enziminde 22.amino asiti tanımlamışlar ve **pyrrolysine** olarak isimlendirmişlerdir

- Standart genetik kodun parçası olan bilindik 20 amino asitten çok daha fazla amino asit bulunmaktadır ama sadece **selenocysteine** ve **pyrrolysine** genetik olarak kodlanmaktadır
- Triplet kod için sadece 64 olasılık olduğundan ve bu tripletlerden her biri bahsi geçen 20 aminoasiti belirlediğinden Selenocysteine ve Pyrrolysine nasıl kodlanmaktadır?

Bu durumda kodonlardan bir tanesi iki fonksiyonu birden kodlamak durumunda.

Selenocysteine normalde terminasyon kodonu olan UGA, **Pyrrolysine** ise yine terminasyon kodonu olan UAG tarafından kodlanmaktadır

GEN EKSPRESYONU

1 Ribozomlar

- Ribozomlar, prokaryotik ve ökaryotik hücrelerin sitoplazmasında, mitokondri matrisi'nde ve kloroplast stroma'sında bulunan, RNA ve proteinlerden yapılmış partiküllerdir (organellerdir)
- Ribozomlar ökaryotik hücrelerin sitoplazmasında serbest halde buldukları gibi, endoplazmik retikulum membranına veya nükleusun dışı membranına bağlı bir şekilde de bulunabilirler
- Ribozomlar genelde organel olarak düşünülürler ancak diğer pek çok organelden bir membran ile çevrilmemeleri bakımından farklılık göstermektedirler
- Fonksiyonel olarak, ribozomlar protein sentezinin gerçekleştiği mekanlardır

Protein sentezinde görev yapan karakterler

mRNA molekülünün polipeptitlere translasyonu için gerekli olan hücresel ekipmanda 5 temel bileşen bulunmaktadır

- 1) **Ribozomlar**
polipeptit sentezinin gerçekleşmiş olduğu organel
- 2) **tRNA:**
Kalıp mRNA molekülü boyunca amino asitleri düzenlerine göre sıraya sokmaktadır
- 3) **aminoacyl-tRNA synthetase:**
Amino asitleri uygun tRNA molekülüne bağlar
- 4) **mRNA:**
Sentezlenecek polipeptit zinciri için amino asit sekansını kodlamaktadır
- 5) **Protein faktörleri:**
Translasyon işleminin pek çok basamağında yardımcı olmaktadır

1 Ribozomlar

- Ribozomların polipeptit sentezindeki rolü, daha ziyade, *>50 farklı protein ve değişik rRNA tiplerinden meydana gelmiş büyük, komplike bir enziminkine benzemektedir*
- Ribozomun yapısında bulunan **rRNA**, *ribozomun temel fonksiyonlarından pek çoğunu gerçekleştirmektedir*

Prokaryotik ve Ökaryotik Ribozomlar

Ökaryotik ve prokaryotik ribozomlar yapısal olarak birbirlerine benzerlik göstermekle beraber, aynı değildir

- **Ökaryotik ribozomlar** daha büyüklüdür (4.2×10^6), daha fazla protein içermektedirler. RNA molekülleri daha büyüktür ve birkaç tiptir
- **Prokaryotik ribozomlar** ebat olarak daha küçüklüdür (2.5×10^6), daha az protein içermektedirler ve RNA molekülleri daha küçüktür
- Ökaryotik ve prokaryotik ribozomlar **küçük** ve **büyük** alt ünite olmak üzere, ayrılabilir iki alt üniteden oluşmaktadır
- rRNA'lar ve protein molekülleri bir araya gelerek küçük ve büyük alt üniteleri oluştururlar, *ancak bu iki ünite sadece mRNA molekülüne bağlanacağı zaman bir araya gelir*

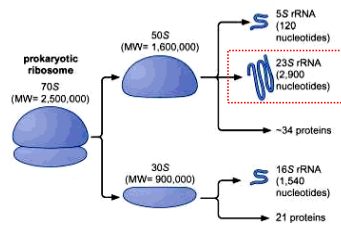
Ribozomlar çeşitli aktif merkezlere sahiptir

Ribozomun

küçük alt ünitesinde yer alan

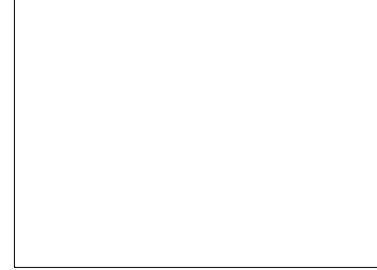
23S rRNA

peptid bağ oluşumundan sorumlu olan
'peptidyl transferase' aktivitesine sahiptir



Ribozom üzerinde 4 bölge protein sentezi için önemlidir

mRNA-bağlanma bölgesi ve tRNA molekülünün bağlandığı 3 bölge



- 1) Kendisine bağlanmış amino asitle birlikte yeni gelen tRNA molekülünün bağlandığı **A (aminoacyl) bölgesi**
- 2) Büyümekte olan polipeptid zincirini taşıyan tRNA molekülünün ikamet ettiği **P (peptidyl) bölgesi**
- 3) tRNA molekülü, taşıdığı amino asidi bıraktıktan sonra **E (exit) bölgesinden** ribozomu terk eder

Ribozomlar çeşitli aktif merkezlere sahiptir

Peptid bağ oluşumu;

ribozomal olmayan protein faktörlerinin veya *GTP/ATP gibi dış enerji kaynağının* varlığına ihtiyaç duymayan, protein sentezindeki tek evredir

Gerekli olan enerji,

amino asiti veya peptid zincirini ribozomun P bölgesinde yer alan tRNA molekülüne bağlayan yüksek enerji bağının kırılması neticesinde sağlanır

Ribozom siklusu

- Hücrelerde ribozomun küçük ve büyük alt üniteleri hem birbirleri ile hem mRNA ile ilişkiye girer, mRNA'nın translasyonunu sağlar ve translasyonun her bir turundan sonra birbirlerinden ayrılırlar.
- Bu birleşme ve ayrılma sekansı **ribozom siklusu** olarak ifade edilir

2

Transfer RNA (tRNA)

- mRNA molekülü üzerindeki kodon sekansı polipeptit zincirindeki amino asit sekansını belirlediği için, kodonların, amino asitleri doğru bir şekilde sıraya sokmasını sağlayan bir mekanizma olmalıdır
- Amino asitler, nükleotit baz sekansını direk olarak tanıyamazlar, dolayısıyla, amino asitler ve mRNA molekülü arasındaki interaksyonu sağlayan "**adaptör**" molekülüne ihtiyaç vardır
- Transfer RNA** nükleik asit alfabeti ve proteinler arasındaki adaptör görevi görür ve amino asitleri ribozoma transfer eder

Polysome/polyribosome

her biri aynı mRNA üzerinden translasyon yapan ribozomlar

→
Direction of transcription

- Tek bir mRNA transkripti birden fazla ribozom tarafından eşzamanlı olarak translasyona uğrayabilir
- mRNA+ bağlanmış ribozomlar= polyribosome veya polysome
- Polipeptidin pek çok kopyasının hızlı bir şekilde sentezine olanak sağlar

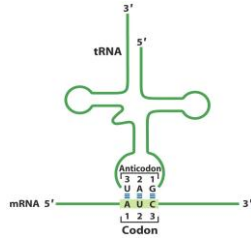
tRNA molekülü amino asitleri ribozoma transfer eder

- Her bir **adaptör molekülü (tRNA)** yapısında fonksiyon gösteren **iki bölgeye** sahip olmalıdır:

- spesifik amino asite bağlanan bir bölge ve
- bu amino asiti kodlayan mRNA baz sekansını tanıyan bir bölge

tRNA molekülü amino asitleri ribozoma transfer eder

- tRNA molekülleri mRNA üzerindeki kodonları tanır, çünkü her bir tRNA'nın yapısında **"antikodon"** bulunmaktadır (tRNA molekülünün bir halkasının içerisinde yer alan üç nükleotiden oluşmuş özel sekans)
- Her bir tRNA'daki anticodon, bu tRNA tarafından taşınan amino asidi kodlayan bir veya daha fazla mRNA kodonuna **tamamlayıcıdır**
- mRNA daki kodonlar 5'→3' yönünde yazılırken, tRNA'daki antikodonlar genelde 3'→5' yönünde ifade edilirler



tRNA molekülü amino asitleri ribozoma transfer eder

- tRNA molekülleri uygun amino asitlere ester bağı ile bağlanmaktadır (ester bağı ile tüm tRNA moleküllerinin 3' ucunda bulunan A nükleotidinin 3' OH grubu amino aside bağlanır)
- Her bir tRNA için doğru olan amino asidin seçimi ester bağının oluşumunu katalize eden **aminoasil-tRNA sentetaz** enziminin sorumluluğundadır

tRNA molekülü amino asitleri ribozoma transfer eder

- Alanine** amino asidi için spesifik olan tRNA molekülü **tRNA^{Ala}** olarak ifade edilir
- Amino asit bağlandığı zaman, tRNA molekülü **aminoasil tRNA** (**ör: alanil tRNA**) olarak isimlendirilir
- Bu durumda tRNA molekülü **yüklenmiş**, amino asit ise **aktif edilmiş** olarak ifade edilir

61 farklı kodon

- Genetik kod, amino asitleri belirlemek için **61 farklı kodon** kullanılmaktadır
- Dolayısıyla, her biri farklı bir kodonu tanıyan ve protein sentezinde gerekli **61 farklı tRNA** molekülünün olduğu düşünülmektedir
- Bununla beraber, **farklı tRNA moleküllerinin sayısı 61'den çok daha azdır çünkü pek çok tRNA molekülü birden fazla kodonu tanımlamaktadır**
- Üçüncü bazında farklılık gösteren kodonlar genelde aynı amino asidi kodlamaktadır**
- Bu gibi durumlarda, aynı tRNA molekülü hataya sebebiyet vermeden birden fazla kodona bağlanabilir

Kodon-antikodon arasındaki esneklik (Wobble Hipotezi)

- Kodon-antikodon arasındaki bağlantının esnek olması **WOBBLE HİPOTEZİ** olarak bilinmektedir
- Bu hipoteze göre, kodonun 3.cü bazı ile antikodonda buna karşı gelen baz (1.) arasında esneklik bulunmaktadır
- Bu esneklik de, tRNA molekülünün 2 veya 3 farklı kodonu tanımasına olanak sağlamaktadır

3

Aminoasil tRNA sentetaz

- tRNA molekülü amino asidi ribozoma getirmeden önce, amino asidin tRNA molekülüne kovalent bağlarla bağlanması gerekmektedir
- Amino asidi uygun olan tRNA molekülüne bağlayan enzim **aminoasil-tRNA sentetaz** enzimidir
- Hücrede protein sentezi için gerekli olan 20 amino asit için **20 farklı aminoasil-tRNA sentetaz** enzimi bulunmaktadır
- tRNA molekülünün doğru amino asit ile yüklenmesi genetik kodun çalışması için gereklidir



Tek bir tRNA molekülü
birden fazla kodonu tanıyabildiği için,
her geçen tRNA molekülü tarafından tanıyan
farklı kodonlar
her zaman aynı amino asidi kodlar,
dolayısıyla da
WOBBLE yanlış amino asitin zincire eklenmesine
sebeptir

Aminoasil-tRNA sentetaz amino asitleri uygun tRNA'ya bağlar

tRNA molekülleri uygun amino asitlere **ESTER BAĞI** ile bağlanmaktadır (ester bağı ile tüm tRNA moleküllerinin 3' ucunda bulunan A nükleotidinin 3' OH grubu amino aside bağlanır)

Aminoasil-tRNA sentetaz amino asitleri uygun tRNA'ya bağlar

- Her bir tRNA için doğru olan amino asidin seçimi ester bağının oluşumunu katalize eden aminoacyl-tRNA synthetase enziminin sorumluluğundadır
- Her bir tRNA molekülü spesifik bir aminoacyl-tRNA synthetase enzimi tarafından tanınmaktadır

(Yüksek
salıp bağ) enerji

Bu bağın hidrolizi neticesinde açığa çıkan enerji, büyümekte olan polipeptit zincirine amino asit ekleyecek olan peptit bağının oluşumu için kullanılır



Amino asit

uygun tRNA molekülüne eklendiği zaman,
tRNA molekülünün kendisi (amino asit değil!!!!)
mRNA üzerindeki uygun kodonu tanır

Aminoasil-tRNA sentetaz ile amino asit aktivasyonu

Aminoacyl-tRNA sentetaz iki basamakta amino asidin karboksil grubu ile uygun tRNA molekülünün terminal adenin bazının 3'OH grubu arasındaki ester bağının oluşumunu katalize eder

- 1) Amino asit ve ATP molekülü, enzimin aktif bölgesine girer.

Aynı zamanda, ATP molekülü P_{Pi} kaybeder ve ortaya çıkan AMP molekülü amino aside kovalent bağ ile bağlanır

- 2) tRNA kovalent bağ ile amino aside bağlanır, AMP açığa çıkar

Ve, *aminoacyl-tRNA enzimden ayrılır*

4

Messenger RNA (mRNA)

- mRNA molekülünün kalbi taşıdığı **informasyondur**; yani polipeptitleri kodlayan nükleotit sekansı
- Bununla beraber, mRNA molekülünün her iki ucunda translyasyona uğramayan bölgeler bulunmaktadır
- Bu sekanslar translyasyona uğramamakla beraber, mesajın translyasyonu için gereklidirler

Prokaryot ve Ökaryotlardaki mRNA molekülleri arasındaki farklılık

Prokaryotlar:

1. mRNA transcripti herhangi bir modifikasyona uğramadan direkt translasyon işleminde kullanılır.
2. Prokaryotlarda nucleus olmadığı için, transkripsiyon işlemi bitmeden mRNA ribozomlar üzerinde translasyona uğrar (i.e., *transkripsiyon ve translasyon coupled*).
3. Prokaryot mRNA ları *polycistronic*, yani birden fazla gen için amino asit kodlayıcı bilgiye sahiptir

Prokaryot ve Ökaryotlardaki mRNA molekülleri arasındaki farklılık

Ökaryotlar:

1. mRNA transcript (*pre-mRNA*) translasyon işleminden önce modifikasyona uğramalıdır
2. Transkripsiyon ve translasyon beraber yürümekte (translasyon işleminden önce mRNA molekülünün öncelikle sitoplazmaya geçmesi gerekmektedir).
3. Ökaryot mRNA ları *monocistronic*, yani sadece tek bir gen için amino asit sekansları içerir.

Prokaryotik mRNA (polisistronik)

- Prokaryotlar da, mRNA molekülü genelde **polisistronik** veya **polijenik**'dir (Yani, *hücrede aynı metabolik işlemlerde görev alan polipeptitleri kodlar*)
- Polygenic mRNA oluşumuna sebep olan gen kümeleri **operon** adı verilen tek bir transkripsiyon ünitesidir ve tek bir promotör tarafından kontrol edilir
- Polygenic mRNA molekülünün protein kodlayan bölgeleri **spacer** adı verilen ara bölgeler ile birbirinden ayrılmıştır

Ökaryotik mRNA (monosistronik)



- AUG başlangıç kodonunun etrafında yer alan bazı başlangıç işleminin verimliliğini etkilemektedir: **RNN**AUGG**** (*'Kozak consensus' sekansı*)
- Ökaryotik başlangıç faktörü olan eIF4; başlangıç AUG kodonunu bulabilmek için keş noktasından başlayarak mRNA molekülünü **tarar**

Protein sentezinin ökaryotlarda başlangıcı

- Ökaryotik mRNA larda 5' cap yapısı start kodunu tanımlamada yardımcı olur.
- 40S alt ünite cap yapısına bağlanır ve daha sonra translyasyon başlangıç noktası olarak ilk AUG kodonunu cap yapısının 3' ucuna doğru verleştirir

Ökaryotik mRNA modifikasyonları (1)

5' kep: purin halkasının 7.ci pozisyonundan metilasyona uğramış Guanine nükleotidi

Kendisini, RNA molekülünün 5' ucuna birindik 3'→5' bağın aksine 5'→5' bağıyla bağlamaktadır

Kepleme işleminin bir parçası olarak, RNA zincirindeki ilk nükleotidin riboz halkası (bazen ikinci halkası da)

Ökaryotik mRNA modifikasyonları (1)

Ökaryotik mRNA lar 5' ucunda farklı bir yapıya sahiplerdir

Ökaryotik mRNA modifikasyonları (1)

- RNA molekülünün 5' ucuna atak yapan nuclease enzimleri tarafından gerçekleştirilen degradasyona engel olup molekülü koruyarak mRNA molekülünün stabilitesine katkıda bulunur
- Kep, aynı zamanda mRNA molekülünün ribozom üzerinde pozisyon almasında (translyasyon işleminin başlaması için) önemli rol oynamaktadır

Ökaryotik mRNA modifikasyonları (2)

RNA molekülünün 3' ucuna poly(A) eklenmesi

Ökaryotik mRNA modifikasyonları (2)

- 5' ucun keplenmesine ilaveten, ökaryotik mRNA moleküllerinin çoğunun 3' ucunda 50-250 nükleotit uzunluğunda poly (A) kuyruğu bulunmaktadır
- Hayvan hücrelerinde, sadece histone mRNA' larında poly(A) bulunmamaktadır
- mRNA molekülünün 3' ucuna poly(A) eklenmesi ökaryotik mRNA moleküllerinin 3' ucunu yaratan işlemin bir parçasıdır
- Spesifik terminasyon sekansının yeni oluşmakta olan mRNA molekülünün 3' ucunda transkripsiyona son verdiği bakteriyal hücrelerin aksine ökaryotik pre-mRNA moleküllerinin transkripsiyonu, mRNA moleküllerinin 3' ucu olması beklenen noktadan yüzlerce hatta binlerce nükleotit ileriye devam eder

Ökaryotik mRNA modifikasyonları (2)

- Ökaryotik pre-mRNA moleküllerinin transkripsiyonu mRNA molekülünün olması beklenen 3' ucundan çok daha ileriye devam edebilir
- 3' ucun biraz yukarısında kalan AAUAAA sekansı RNA zincirinin sinyal noktasından yaklaşık 10-35 nükleotit aşağısından kesilmesini tetikler
- Poly (A) polimeraz enzimi kesilen noktaya daha sonra poly (A) kuyruğu ekler

Ökaryotik mRNA modifikasyonları (2)

- Poly (A) kuyruğunun çok çeşitli fonksiyonları vardır
- mRNA molekülünü nuclease atağında korur ve sonuç olarak poly (A) kuyruğunun uzunluğu mRNA molekülünün stabilitesini etkiler
- Poly (A) kuyruğu; mRNA molekülünün nucleus dan sitoplazmaya aktarılması esnasında gerekli olan spesifik proteinler tarafından tanınır ve ribozomun mRNA molekülünü translasyon için tanınmasını sağlar

Ökaryotik mRNA modifikasyonları (3)

Intron'ların atılması ve
exon'ların tekrar bir araya getirilmesi

Ökaryotik mRNA modifikasyonları (3)

- Genden intronların alınması ve mesaj kodlayan exon'ların tekrar bir araya getirilmesine **RNA splicing** denir
- RNA splicing işlemi kusursuz olmalıdır çünkü tek bir nükleotit hatası mRNA molekülünün okuma çerçevesini değiştirerek onu kullanılmaz hale getirebilir
- Değişik intron'lar üzerinde yapılan çalışmalar intronun **5' ucunun GU sekansı** ile başlayıp **3' ucunun AG sekansı** ile bittiğini göstermiştir
- *Intronun 3' ucunun düzinelere nükleotit yukarısında bulunan A nükleotidi (branch point sekansı) incelenen tüm intronlar'da ortak*

Ökaryotik mRNA modifikasyonları (3)

- Ökaryotik hücrelerde çoğu mRNA önceleri **intron** içermektedir (Gende mesaj kodlayan (exon) bölgelerin arasına girerek bu bölgelerin birbirleri ile devam eden ilişkilerini bozan, ilk transkripte yer alan ancak fonksiyonel mRNA molekülünde bulunmayan sekanslar)

- Dolayısıyla bakterilerde gözlemlenen ve polipeptit zincirindeki amino asitle bu polipeptidi kodlayan DNA molekülündeki nükleotitler arasındaki direkt ilişki ökaryotlarda söz konusu değildir

Intron'ların gen üzerinden alınması **spliceosome** adı verilen ve **RNA-protein** yapısında olan bir kompleks tarafından katalize edilir

Small nuclear RNA (splicing işleminin katalitik mekanizmasında gerekli)

Spliceosome: snRNP (small nuclear ribonucleoprotein) olarak isimlendirilen küçük RNA-protein kompleksleri ve ekstra proteinlerin bir araya gelmesi ile oluşmuştur



Proteinleri kodlamayan ancak transkripsiyona uğrayan genler:

1. rRNA, ribosomal RNA
 - ✓ tRNA molekülünün (ve amino asitlerinin) mRNA molekülüne bağlanmasını sağlayarak protein sentezini katalize eder
2. tRNA, transfer RNA
 - ✓ Amino asitleri translasyon için mRNA molekülüne transport ederler
3. snRNA, small nuclear RNA
 - ✓ RNA processing işleminde kullanılan kompleksleri (intronların alınmasında kullanılan spliceosome) oluşturmak için proteinler ile bir araya gelir



- Aminoacyl-tRNA sintetase ve ribozomun protein bileşenlerine ilaveten, translasyon işlemi diğer pek çok protein molekülünün de işleme katılımları gerekli kılmaktadır
- Bu protein faktörlerinden bazıları translasyon işleminin **initiation evresinde** gerekliken bazıları büyümekte olan **polipeptit zincirinin uzaması** için bazıları da **polipeptit zincirinin sonlanması** için gereklidir