

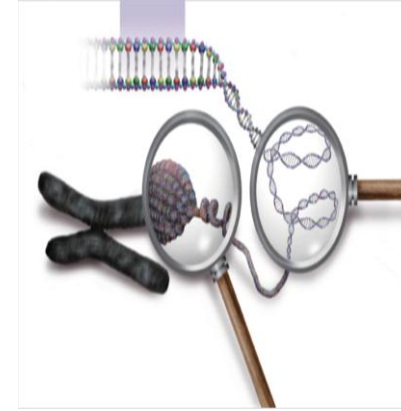
MOLEKÜLER BİYOLOJİ II B208

Prof. Dr. Özlem OSMANAĞAOĞLU

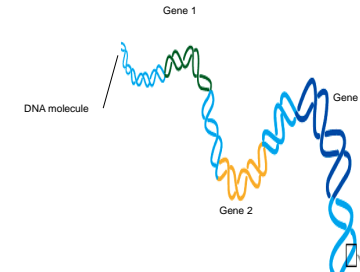
GEN

- Polipeptit zinciri gibi fonksiyonel bir ürünü belirleyen mRNA ve bazı durumlarda rRNA, tRNA ve snRNA gibi RNA moleküllerini kodlayan DNA baz sekansı
- Tüm genler transkripsiyona uğrar.
 - Oluşan transkriptler: messenger RNAlar (**mRNAs**), ribozomal RNAlar (**rRNAs**), transfer RNAlar (**tRNAs**), etc.
- Sadece mRNAlar translasyona uğrar ve polipeptit sentezlenir.
 - rRNA ve tRNA proteinleri kodlamaz.
 - dolayısıyla bu iki tip RNA molekülünü kodlayan genler son ürünü protein zincirlerinden ziyade RNA molekülleri olan genlere örnektir

GEN EKSPRESYONU



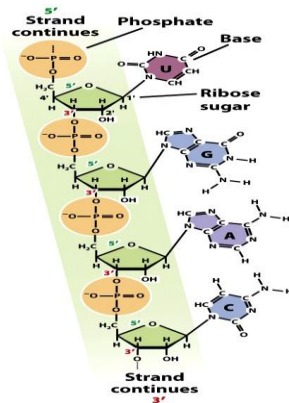
GEN



ÖKARYOTİK GEN

- **Ökaryotik gen yapısı:** Çoğu ökaryotik genlerde, tipik bakteriyel genlerin aksine, kodlama dizileri (eksonlar) kodlamayan DNA (**intronlar**) dizileri ile kesilir.
 - Bir gende Exon, start sinyalleri, stop sinyalleri ve regülasyondan sorumlu kontrol elemanları bulunmadır
- 7-10 ekzon içeren ortalama bir gen 10-16kb lık DNA üzerinde yayılmaktadır

RNA YAPISI



PROKARYOT ve ÖKARYOTLARDA TRANSKRİPSİYON

- Genler operon'lar da gruplanmıştır
- Her bir mRNA sadece tek bir genin transkriptini içerir (monosistronik)
- mRNA pekçok genin transkriptini içerebilir (polisistronik)
- Transkripsiyon ve translasyon eş zamanda eş yerde meydana gelir (coupled)
- Transkripsiyon hızını modifiye etmek sureti ile gen regülasyonu gerçekleşir
- Prokaryotlarda mRNA'lar işleme uğramazlar ve translyasyonda oldukları gibi kullanılırlar
- rRNA ve tRNA hem prokaryotlarda hem ökaryotlarda işleme uğrar
- Genler operon'lar da gruplanmamıştır
- Transkripsiyon ve translasyon eş zamanda eş yerde meydana gelir (transkripsiyon nucleus, translasyon sitoplazmada meydana gelir ve translasyonun başlaması için transkripsiyonun bitmesi gerekmektedir)
- gen regülasyonu transkripsiyon hızını modifiye etmek sureti ile ve RNA-işlenmesi ile gerçekleşir
- Translyasyona uğramadan önce mRNA'lar ilave işleme uğrarlar (splicing, CAP, poly A tail)

RNA SINIFLARI

RNA tipleri Fonksiyonları

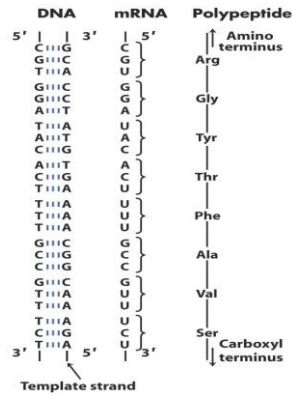
mRNA	<u>messenger (eği) RNA</u> , proteinleri kodlar
rRNA	<u>ribozomal RNA'lar</u> , ribozomun yapı taşlarıdır ve protein sentezini katalize eder
tRNA	<u>transfer RNA'lar</u> , protein sentezinde mRNA ve amino asitler arasında adaptör görevi görür
snRNA	<u>small nuclear RNA'lar</u> , pre-mRNA ların splicing işlemide dahil olmak üzere çeşitli nuclear işlemlerde görev alır
snoRNA	<u>small nucleolar RNA'lar</u> , kimyasal olarak rRNA ları modifiye eder
scRNA	<u>small cytoplasmic RNA'lar</u> , sitoplazmada protein trafficking işlemide gerekli olan fonksiyonel RNA molekülleri
MikroRNA'lar	translasyon ve mRNA degradasyonu
Kodlama yapmayan diğer RNA'lar	telomer sentezi, X-kromozom inaktivasyonu ve proteinlerin Endoplazmik retikulumla transportu gibi çeşitli hücresel işlemlerde görev atırlar

RNA SINIFLARI

Table 6-1 Principal Types of RNAs Produced in Cells

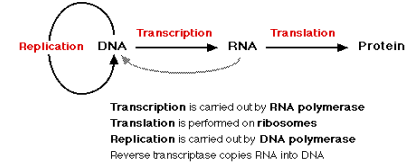
TYPE OF RNA	FUNCTION
mRNAs	messenger RNAs, code for proteins
rRNAs	ribosomal RNAs, form the basic structure of the ribosome and catalyze protein synthesis
tRNAs	transfer RNAs, central to protein synthesis as adaptors between mRNA and amino acids
snRNAs	small nuclear RNAs, function in a variety of nuclear processes, including the splicing of pre-mRNA
snoRNAs	small nucleolar RNAs, used to process and chemically modify rRNAs
scaRNAs	small cajal RNAs, used to modify snoRNAs and snRNAs
miRNAs	microRNAs, regulate gene expression typically by blocking translation of selective mRNAs
siRNAs	small interfering RNAs, turn off gene expression by directing degradation of selective mRNAs and the establishment of compact chromatin structures
Other noncoding RNAs	function in diverse cell processes, including telomere synthesis, X-chromosome inactivation, and the transport of proteins into the ER

MOLEKÜLER BİYOLJİNİN SANTRAL DOGMASI (Genetik Bilginin Aktarım Yönü)



MOLEKÜLER BİYOLJİNİN SANTRAL DOGMASI (Genetik Bilginin Aktarım Yönü)

- Genetik bilgi DNA molekülünde depolanır ancak mRNA aracılığı ile proteinler şeklinde ifade edilir
- Genetik bilginin aktarımı daha fazla DNA oluşturmak için kendini replike eden DNA molekülünden başlar (**REPLİKASYON**). Bilgi sonra RNA molekülüne (**TRANSKRİPSİYON**) aktarılarak polipeptit sentezi (**TRANSLASYON**) sağlanır.
- Nükleik asitlerdeki (DNA veya RNA) bilgi replike edilebilir veya transkripsiyona uğrayabilir. *Bilginin akışı normalde geri dönüşümlü değildir*



SANTRAL DOGMA İSTİSNALARI

Moleküler biyolojinin santral dogması ile ilgili birkaç istisna bulunmaktadır...

SANTRAL DOGMA İSTİSNALARI-1

- “**RETROVİRÜS**” olarak bilinen bazı RNA virüsleri **Reverse Transcriptase** (ters transkriptaz) enzimini kullanarak kendilerinin bir DNA kopyasını oluştururlar (**Reverse Transcription**-Ters transkripsiyon)
- Bu DNA kopyası kromozomlardan birine kendini dahil ederek genomun kalıcı bir özelliği haline gelir. Genoma dahil olan genom kopyası “**PROVİRUS**” olarak isimlendirilir.

SANTRAL DOGMA İSTİSNALARI-2

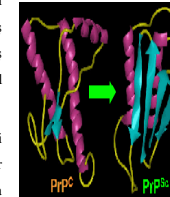
- Retrovirüslerin aksine, retrotranspozonlar her zaman hücrenin içinde kalırlar. Virüslerin etrafını çevreleyen protein kılıfını yapacak genlere sahip değildir
- *Bu durum bilgi akışının RNA dan DNA'ya doğru olduğunu göstermektedir.*

SANTRAL DOGMA İSTİSNALARI-2

- Retrovirüsler ile yakın ilişkide olan “**RETROTRANSPOSONlar**”, sahip oldukları DNA sekansından kendilerinin RNA kopyalarını oluşturur ve bu kopya üzerinden **reverse transkripsiyon** (ters transkripsiyon) ile tekrar DNA larını oluşturarak genoma yeni bir lokasyona bu kopyayı dahil ederler.

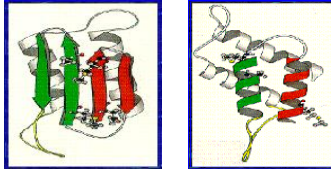
SANTRAL DOGMA İSTİSNALARI-3

- **PRİONlar** memeli hücrelerinin tamamının beyin hücrelerinde bulunan ve enfeksiyona sebep olan proteinlerdir; DNA veya RNA içermezler.
- Prionlar (PrP^{Sc}), normal proteinlerin (PrP^C) yanlış katlanmalara uğramış versiyonları olarak kabul görmektedir
- Normal ve enfekte edici özelliğe sahip prionlar arasındaki fark ise: **katlanma şekilleri**
- Prion'lar (PrP^{Sc}) katlanmakta olan proteinlere bağlandıkları zaman proteinin anormal bir şekilde katlanarak agregasyon olmasına neden olmaktadır



SANTRAL DOĞMA İSTİSNALARI-3

- PRION'ların İki formu vardır
 - normal alpha-structure
 - zararlı beta-structure



- Beta-structure agrege olup 'plaques' oluşumuna sebep olabilmektedir
- Bazı dokuları ve beyin bazı fonksiyonlarını bloke edebilir
- Sinir sistemindeki bozukluklara neden olan Deli Dana hastalığına sebep olan ajandır

SANTRAL DOĞMA İSTİSNALARI-3

- Dolayısıyla, prion-kökenli hastalıkların bulaşmasında bir organizmadan diğerine aktarılmakta olan "bilgi" nükleik asitlerde taşınmamaktadır, daha ziyade prion proteininin şeklinde saklıdır.
- Santral doğma prensibini ihlal eden ise bu bilginin nükleik asitlerin yardımı olmadan transfer edilmesidir

SANTRAL DOĞMA İSTİSNALARI-3

- *Prionlar moleküler biyolojinin santral doğmasına bir istisnadır* çünkü prion proteininin özellikleri sadece prion protein genindeki bilgiye değil aynı zamanda diğer prion proteinleri ile etkileşimlere bağlıdır.
- Normal prion proteini tüm memeli hücrelerin beyinlerinde mevcuttur ancak hastalığa sebep olmazlar.
- Bununla beraber, eğer bu normal protein anormal bir şekilde katlanmalara uğramış bir prion proteini ile kontak haline gelirse (başka bir hayvanın beyin dokusundan) normal protein şeklini değiştirerek anormal olur ve bu prion protein gen sekansında herhangi bir değişim olmadan olur

REPLİKASYON VE TRANSKRİPSİYON ARASINDAKİ BENZERLİK VE FARKLILIKLAR

1. Replikasyon hücrenin bölünmeye hazırlandığı **S fazda** gerçekleşirken Transkripsiyon protein sentezine ihtiyaç duyulduğu zamanlar olan **G1** ve **G2** de meydana gelir

REPLİKASYON VE TRANSKRİPSİYON ARASINDAKİ BENZERLİK VE FARKLILIKLAR

2. Replikasyonda **genomun tamamı** kopyalanırken Transkripsiyonda genom üzerinde sadece belirli **gen** bölgelerine ait RNA kopyaları oluşturulur (Gelişim gereksinimleri, fizyolojik ihtiyaçlar ve çevresel değişikliklere yanıt olarak.)

DNA üzerinden RNA'ya kopyalanabilen bölgeler **yapısal genler** olarak adlandırılırlar

REPLİKASYON VE TRANSKRİPSİYON ARASINDAKİ BENZERLİK VE FARKLILIKLAR

4. Replikasyonda orijinal dsDNA molekülünden birbirinin aynısı olan 2 molekül **dsDNA** üretilirken Transkripsiyonda dsDNA kullanılarak **ssRNA** elde edilir ve elde edilen ürünler arasında mRNA, tRNA, rRNA ve microRNA gibi non-coding RNA molekülleri yer almaktadır

Replikasyonda genetik bilgi **bir sonraki jenerasyona** miras olarak aktarılırken Transkripsiyonda bilgi **genden proteine** transfer edilir

REPLİKASYON VE TRANSKRİPSİYON ARASINDAKİ BENZERLİK VE FARKLILIKLAR

3. Replikasyonda genomun tamamı kopyalandığı için **uzun DNA zincirleri** sentezlenir ve yeni sentezlenen DNA zinciri Hidrojen bağları ile kalıp DNA'sına bağlıdır (DNA:DNA hibrid).

- Bununla beraber transkripsiyonda belirli gen bölgeleri üzerinden sentez yapıldığı için nispeten **kısa RNA zincirleri** sentezlenir (DNA:RNA hibrid) ve transkripsiyona uğrayan RNA daha sonra kalıp zincirinden ayrılır
- Replikasyonda A-T, G-C baz eşleşmesi yapılırken transkripsiyondaki baz eşleşmeleri A-U, T-A, G-C şeklindedir

REPLİKASYON VE TRANSKRİPSİYON ARASINDAKİ BENZERLİK VE FARKLILIKLAR

REPLİKASYON VE TRANSKRİPSİYON ARASINDAKİ BENZERLİK VE FARKLILIKLAR

5. Her iki işlemde de kalıp olarak dsDNA kullanılır..

Replikasyonda her iki DNA zinciri kalıp görevi görürken
Transkripsiyonda sadece tek zincir DNA kalıp görevi görür.

REPLİKASYON VE TRANSKRİPSİYON ARASINDAKİ BENZERLİK VE FARKLILIKLAR

7. DNA polimeraz enzimi replikasyonu başlatabilmek için kendisine serbest 3'OH grup sağlayan primerin varlığına ihtiyaç duyarken RNA polimeraz enzimi bir primerin varlığına ihtiyaç duymadan sentezi kendisi başlatabilir. Her iki enziminde sentez yönü 5'→3'.

Her iki işlemde de birbirine komşu nükleotitler arasında fosfodiester bağı kurulur

REPLİKASYON VE TRANSKRİPSİYON ARASINDAKİ BENZERLİK VE FARKLILIKLAR

6. Replikasyon işleminden sorumlu temel enzim DNA polimeraz, Transkripsiyon işleminden sorumlu olan temel enzim ise RNA polimerazdır
- DNA polimeraz enziminin proofreading aktivitesi vardır. Bununla beraber, RNA polimeraz enziminin proofreading aktivitesi yoktur
 - Bununla beraber, replikasyonun gerçekleşebilmesi için topoizomerez, helikaz, primaz, DNA ligaz ve DNA polimeraz I, III enzimleri gerekli iken transkripsiyonda gerekli olan enzimler sadece transkriptaz (bir tip DNA helikaz) ve RNA polimerazdır

REPLİKASYON VE TRANSKRİPSİYON ARASINDAKİ BENZERLİK VE FARKLILIKLAR

8. Replikasyonda öncül olarak dNTP molekülleri (dATP, dGTP, dCTP, dTTP) kullanılırken transkripsiyonda NTPler (ATP, UTP, GTP, CTP) kullanılır



REPLİKASYON VE TRANSKRİPSİYON ARASINDAKİ BENZERLİK VE FARKLILIKLAR

	Replication	Transcription
Speed	500 nucs/sec: bacteria 50 nucs/sec: euks	10-30 nucs/sec
Error rate	1/10 ⁹ (including mismatch repair)	1/10 ⁴ - 1/10 ⁵
Job	Copy every sequence in the genome once	Transcribe segments of the genome at highly variable rates

1

Prokaryotlarda transkripsiyon ve translasyon aynı zamanda ve aynı yerde meydana gelir

Prokaryotlarda ise, transkripsiyon ve translasyon aynı zamanda aynı yerde yani sitoplazmada meydana gelir.

- Translasyonun başlaması için transkripsiyonun bitmesine gerek yoktur.
- Bununla beraber, transkripsiyon ürünü olan mRNA her hangi bir modifikasyona uğramadan aynen translasyon işleminde kullanılır

1

Prokaryotlarda transkripsiyon ve translasyon aynı zamanda ve aynı yerde meydana gelir

Ökaryotlarda, transkripsiyon ve translasyon farklı zamanlarda farklı yerlerde meydana gelir.

- Transkripsiyon **nucleus**, translasyon ise **sitoplazmada** meydana gelir.
- Translasyonun başlaması için **transkripsiyonun bitmesi gerekmektedir.**
- Bununla beraber, transkripsiyon ürünü olan **pre-mRNA** translasyon işleminde kullanılabilmek için bir takım **modifikasyonlara** uğramak durumundadır (5' uca cap, 3' uca poli A takılması ve intron bölgelerinin çıkarılması gibi)

1

Prokaryotlarda transkripsiyon ve translasyon aynı zamanda ve aynı yerde meydana gelir

2

**Prokaryotik ve Ökaryotik mRNA
(polisistronik vs monosistronik)**

Hem prokaryot hem de ökaryotlarda mevcut olan biyolojik olarak aktif, mature (olgun) mRNA molekülünde 3 temel kısım bulunmaktadır

2

**Prokaryotik ve Ökaryotik mRNA
(polisistronik vs monosistronik)**

- Bakterilerde, mRNA **POLYSİSTRONİK** (tek bir mRNA birden fazla polipeptid kodlar; yani mRNA, hücrede aynı metabolik işlemlerde görev yapan fonksiyonel olarak birbirlerine benzerlik gösteren polipeptitleri kodlar); ökaryotlarda ise genelde **MONOSİSTRONİK** (tek bir mRNA sadece tek bir polipeptid kodlar) dir.

2

**Prokaryotik ve Ökaryotik mRNA
(polisistronik vs monosistronik)**

- Polisistronik mRNA moleküllerini oluşturan gen kümeleri **OPERON** (*tek bir promotor tarafından kontrol edilen ve tek bir metabolik yolda aktivite gösteren enzimleri üreten gen kümeleri*) olarak isimlendirilen tek bir transkripsiyon ünitesidir
- Operonda yer alan her bir gen mRNA da temsil edilir
- Ancak mRNA molekülünün her bir bölümü bağımsız translasyona uğrar

2

**Prokaryotik ve Ökaryotik mRNA
(polisistronik vs monosistronik)**

- Ökaryotlarda mRNA molekülü **MONOSİSTRONİK**'dir, yani tek bir mRNA sadece tek bir polipeptid kodlar
- AUG başlangıç kodunun etrafında yer alan bazı başlangıç işleminin verimliliğini etkilemektedir: **RNNAUGG** (*'Kozak consensus' sekansı*)
- Ökaryotik başlangıç faktörü olan eIF4; başlangıç AUG kodonunu bulabilmek için keşif noktasından başlayarak mRNA molekülünü tarar

3
Prokaryotlarda tek bir
RNA polimeraz enzimi vardır

- Ökaryotlarda 4 tane RNA polimeraz enzimi bu işlemden görev alırken prokaryotlarda sadece tek tip RNA polimeraz enzimi vardır

Prokaryotic	Eukaryotic
Single RNA polymerase (α, β, β')	RNAP 1: rRNA (nucleolus), except 5S rRNA RNAP 2: hnRNA/mRNA and some snRNA RNAP 3: tRNA, 5S rRNA
Requires sigma (σ) to initiate at a promoter	No sigma, but transcription factors (TFIID) bind before RNA polymerase
Sometimes requires rho (ρ) to terminate	No rho required
Inhibited by rifampin actinomycin D	RNAP 2 inhibited α -Amanitin (mushrooms) Actinomycin D

4
Ökaryotlarda transkripsiyon karmaşıktır

2. Ökaryotlarda nükleus bulunur. RNA nükleusta sentezlenir ve daha sonra proteine dönüşmek üzere sitoplazmaya geçer. Bu nedenle çeşitli modifikasyonlar geçirir.

Prokaryotik mRNA'ların aksine, ökaryotik mRNA'lar hem 5' hem de 3' uçlarından modifiye edilir ve mature (olgun) mRNA oluşturmak için intronlar çıkarılır. Bu işlemler **RNA İŞLENMESİ (PROCESSING)** denir

İlk sentezlenen mRNA'ya **pre-mRNA** ya da **primer transkript** denir. Olgunlaşmasını tamamlamış olan ise **mature mRNA** dır.

4
Ökaryotlarda transkripsiyon karmaşıktır

1. Genom büyüktür ve daha fazla gen vardır. Bununla beraber nonkoding (kodlama yapmayan) DNA bulunur.

E. coli'de gen yoğunluğu bir milyon bp'de 900 gen vardır, sirke sineğinde 1 milyon bp'de 110 gen, insanda ise 9 gen düşer.

Dolayısıyla başlangıç noktasını bulmak saman yığını içinde iğne aramaya benzer.

Bu sorunu çözmek için ökaryotlarda farklı 3 sınıf RNA polimeraz ve birçok proteinin başlangıç noktasında toplanması gerekir bu proteinlere **GENEL TRANSKRİPSİYON FAKTÖRLERİ (GTF)** denir

Prokaryotik mRNA'ların aksine,
ökaryotik mRNA'lar ın **5' ucuna cap** 3' ucuna polyA
takılır ve mature (olgun) mRNA oluşturmak için
intronlar çıkarılır

Prokaryotik mRNA'ların aksine,
ökaryotik mRNA'lar in 5' ucuna cap 3' ucuna polyA
takılır ve mature (olgun) mRNA oluşturmak için
intronlar çıkarılır

İlginç bir şekilde,
bazı ökaryotik türler (protozoan)
kendi kendine splice yapabilen
spesifik RNA'lara sahiptir,
vereceğimiz örnekteki rRNA gibi

TRANSKRİPSİYON
(Kalıp DNA üzerinden RNA Molekülünün Sentezi)

DNA gen bölgesine ait mRNA kopyasının eldesi

TRANSKRİPSİYON işleminde
RNA POLİMERAZ enzimi tarafından
DNA'nın kalıp zincirine (template) tamamlayıcı olan
veya
anlamlı zincirin (coding) aynısı olan
(tek fark **timin** yerine **uracil** bazının olması)
tek zincir RNA molekülü sentezlenir

TRANSKRİPSİYON
(RNA SENTEZİ)

TRANSKRİPSİYON
(Kalıp DNA üzerinden RNA Molekülünün Sentezi)

Hangi DNA zincirinden RNA sentezlenmektedir?

Transkripsiyon genellikle
DNA zincirlerinin sadece BİRİNDE gerçekleşir
(Tüm kromozom boyunca
mutlaka aynı zincir transkripsiyona uğramak durumunda değil)

TRANSKRİPSİYON

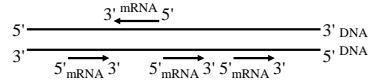
(Kalıp DNA üzerinden RNA Molekülünün Sentezi)

RNA her zaman 5' → 3' yönünde sentezlenir

5'-GTCACCCATGGAGG-3' Nontemplate strand

3'-CAGTGGGTACTCC-5' Template strand

5'-GUCACCCAUGGAGG-3' mRNA



TRANSKRİPSİYON

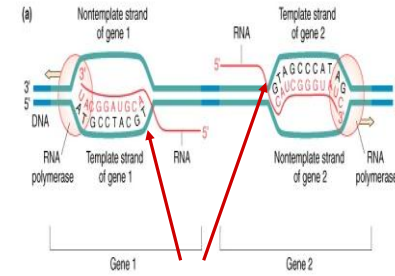
(Kalıp DNA üzerinden RNA Molekülünün Sentezi)

1. Transkripsiyon, ya da gen ekspresyonu, her bir genle ilişkili olan **gen düzenleyici elementler** tarafından regüle edilir.

TRANSKRİPSİYON

(Kalıp DNA üzerinden RNA Molekülünün Sentezi)

DNA'NIN SADECE BİR ZİNCİRİ
TRANSKRİPSİYON İÇİN KALIP GÖREVİ GÖRÜR



Kalıp zincir farklı genler için farklı olabilir ancak her bir gen için DNA'nın sadece tek bir zinciri kalıp görevi görür

TRANSKRİPSİYON

(Kalıp DNA üzerinden RNA Molekülünün Sentezi)

2. Prokaryotlardaki RNA polimeraz ve ökaryotlardaki diğer proteinler nedeniyle, DNA, genin hemen yanındaki bölgede açılır.
Her iki organizmada da, **RNA polimeraz** transkripsiyonu katalize eder

TRANSKRİPSİYON
(Kalıp DNA üzerinden RNA Molekülünün Sentezi)

3. DNA baz sekansı, RNA sentezinin başlatılması ve sonlandırılması için sinyalleri içerir.

RNA Pol kalıp DNA'ya 3' → 5' yönünde bağlanır ve okur, RNA sentez yönü ise 5' → 3' dür (zincirin 5' ucundaki nükleotid trifosfat (ppp) grubunu korur).

RNA transkripti DNA'nın anlamlı kodlama sekansı ile aynı polariteye sahiptir (5' → 3')


TRANSKRİPSİYON
(Kalıp DNA üzerinden RNA Molekülünün Sentezi)

4. RNA polimerizasyonu aşağıdaki farklar dışında DNA sentezine benzerlik gösterir:
- Öncüller NTPlerdir (dNTPler değil!!!).
 - Sentezi başlatmak için primerin varlığına gereksinim yoktur.
 - Timin yerine urasil bulunmaktadır.

TRANSKRİPSİYON
(Kalıp DNA üzerinden RNA Molekülünün Sentezi)

**RNA NÜKLEOTİD SEKANSLARI
DNA MOLEKÜLLERİNE TAMAMLAYICIDIR**

Yeni RNA 5'-3' sentezlenir ve kalıp DNA ya antiparaleldir



TRANSKRİPSİYON
(Kalıp DNA üzerinden RNA Molekülünün Sentezi)

RNA'ların hepsi proteinlere transle edilmez

- Bazı RNAlar yapısaldir, ör ribozomal RNA (rRNA)
- Bazı RNAlar fonksiyoneldir, ör transfer RNA (tRNA)
- Bazı RNAlar kromozomaldır (bazı virüsler)

TRANSKRİPSİYON ÜNİTESİ

Tek zincir DNA molekülüne transkribe olan DNA sekansı;
promotor ile başlar **terminator** ile son bulur

TRANSKRİPSİYON ÜNİTESİ

- **PROMOTOR**, RNA polimerazın bağlandığı sekans
- Transkripsiyona uğrayacak bölge (**RNA-KODLAMA SEKANSI**). Bu DNA'nın sekansı transkriptteki RNA sekansına karşılık gelmektedir
- RNA kodlama bölgesinin aşağısında kalan ve transkripsiyonun nerede biteceğini belirleyen **TERMINATÖR** bölgesi.

RNA POLİMERAZ

Transkripsiyon,
DNA-BAĞIMLI RNA POLİMERAZ
(kısaca **RNA POLİMERAZ**)
enzimi tarafından katalize edilmektedir

RNA POLİMERAZ

- RNA polimeraz kalıp-bağımlıdır (dsDNA) ve *DNA molekülünün tek zincirini kalıp olarak kullanarak RNA molekülünün sentezini katalize etmektedir*
- RNA polimeraz ribonükleotidler ekler (rNTP: ATP, GTP, CTP ve UTP), dNTP'leri değil
- Enzim kalıp DNA'ya 3' → 5' yönünde bağlanır ve okur, RNA sentez yönü 5' → 3' dür (zincirin 5' ucundaki nükleotid trifosfat (ppp) grubunu korur), primere ihtiyacı yoktur
- Enzimin proofreading aktivitesi yoktur (hata oranı 10.000 nükleotidte 1'dir. Bu oran DNA'da 10.000.000 de 1'dir) ve primer olmadan çalışır.

RNA POLİMERAZ

- *E.coli* RNA polimeraz enziminin prosesivitesi 37°C de 40 nükleotit/saniye'dir (T3 ve T4 RNA polimeraz 200 nükleotit/saniye prosesiviteye sahip tek bir polipeptittir) ve Mg^{2+} iyonuna gereksinim duyar!!
- *RNA polimeraz DNA üzerinde 16 bp lik bir bölgeye direk bağlanır ve enzimin tamamı DNA üzerinde 60 bp lik bir bölgeyi kaplar*

RNA POLİMERAZ

- Nükleotidler arasındaki fosfodiester bağlarının oluşumunu katalize eder (şekeri fosfata)
- DNA'yı açar, nükleotidleri bir defada 5' - 3' yönünde ekler
- *Yeni bağları oluşturmak için nükleotidlerde saklanan enerjiyi kendileri kullanır*

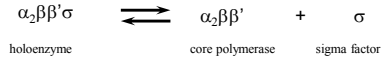
BAKTERİYAL RNA POLİMERAZ

- Bakteriyal hücrelerde tüm RNA tipleri (mRNA, tRNA ve rRNA) **TEK BİR RNA POLİMERAZ** enzimi tarafından sentezlenmektedir.
 - Farklı bakterilerdeki enzimler birbirlerine oldukça benzerlik göstermektedir.

BAKTERİYAL RNA POLİMERAZ

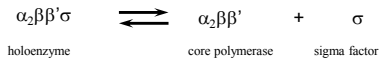
- *E.coli* bakterisindeki **DNA bağımlı-RNA polimeraz** enzimi oldukça iyi karakterize edilmiş çoklu alt ünitelere sahip oldukça büyük (460kDa) bir proteindir
- Dört farklı alt birime sahiptir: α , β , β' , and σ
- **core enzim** $\alpha_2\beta\beta'$
- **holoenzyme** $\alpha_2\beta\beta'\sigma$

BAKTERİYAL RNA POLİMERAZ



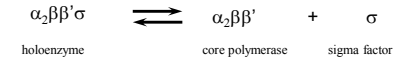
- *E.coli* RNA polimeraz **HOLOENZİM** ($\alpha_2\beta\beta'\sigma$) DNA molekülü üzerinden RNA sentezinin doğru noktadan başlayabilmesi için gereklidir; sadece kalıp zincire bağlanıp o zincirin transkripsiyonunu gerçekleştirir, promotör bölgesinden DNA'yı çözer

BAKTERİYAL RNA POLİMERAZ



- **(SİGMA) faktörleri;**
 - *E. coli* promotörlerinin çoğuna $\sigma 70$ ile ilişkili RNA polimerazlar bağlanırlar
 - Enzimin spesifik promotörlere doğru bir şekilde bağlanmasını ve bu promotörlardan transkripsiyonun başlamasını sağlarlar
 - Fosfodiester bağları oluşturur, regülasyondan sorumlu sekanslara bağlanır
 - RNA sentezlenmeye başlayıp ortaya çıktığında sigma (σ) ayrılır, core enzim transkripsiyon polimerizasyonunu (elongasyon) gerçekleştirir
 - Farklı sigma faktörleri farklı promotör leri tanırlar

BAKTERİYAL RNA POLİMERAZ



- **HOLOENZİM** ($\alpha_2\beta\beta'\sigma$)
 - **CORE ENZİM** ($\alpha_2\beta\beta'$) RNA sentezini başlatmak için gerekli olan σ (sigma) alt ünitesine sahip değildir ancak *kalıp DNA üzerinden RNA sentezini kendi başına gerçekleştirir*.
 - **σ (SİGMA) ALT ÜNİTESİ;** genin hemen başlangıcında yer alan ve **PROMOTÖR** olarak isimlendirilen spesifik DNA sekansına RNA polimeraz enziminin dengeli bir şekilde *bağlanmasını* sağlayarak kritik bir görevi üstlenmektedir, transkripsiyon başladıktan sonra **σ alt ünitesi ayrılır**

BAKTERİYAL RNA POLİMERAZ

ALTERNATİF σ FAKTÖRLERİ

- Alternatif sigma faktörleri, yapısal olarak birbirinden alakasız iki aile içinde sınıflandırılabilir:
 - σ^{70} ve σ^{54}
 - σ^{70} ve σ^{54} benzeri aile üyeleri arasında sekans korunması bulunmamasına rağmen, her ikisinde core RNA polimerazına bağlanır.
 - σ^{54} -RNA tarafından tanınan promotör yapıları σ^{70} -RNAP tarafından tanınanlardan farklıdır
 - σ^{54} –RNAP -24 ve -12 yi tanıır
 - σ^{70} –RNAP -35 ve -10 u tanıır

BAKTERİYAL RNA POLİMERAZ

E.coli σ FAKTÖRLERİ

σ^{70} (**RpoD**) - "housekeeping" sigma faktörü, aynı zamanda primary sigma faktör olarak da adlandırılır, üremekte olan hücrelerdeki çoğu genlerin transkripsiyonunu gerçekleştirir. Hücrenin canlılığını muhafaza etmek için gerekli proteinleri yapar.

σ^{54} (**RpoN**) - nitrogen-limitasyon sigma faktörü

σ^{38} (**RpoS**) – Açlık (starvation)/durağan faz sigma faktörü

σ^{32} (**RpoH**) – ısı-şok sigma faktörü, hücreler ısıya maruz kaldığında aktif olur

σ^{28} (**RpoF**) – Flagella ile ilgili sigma faktörü

σ^{24} (**RpoE**) - ekstrasitoplazmik/ekstrem ısı stres sigma faktörü

σ^{19} (**FecI**) - ferric citrate sigma faktörü, demir transportu için fec genini regüle eder

BAKTERİYAL RNA POLİMERAZ

- **RİFAMPİCİN**, tüberküloz hastalığın tedavisinde kullanılan ilaç, spesifik bir şekilde RNA polimeraz enziminin β alt ünitesine bağlanır ve *RNA sentezini inhibe eder*
- Diğer prokaryotik sistemlerdeki RNA-polimeraz enzimi yapı ve fonksiyon olarak *E. coli* dekinе benzerlik gösterir

ÖKARYOTİK RNA POLİMERAZ

- Prokaryotlarda hücredeki tüm RNAların transkripsiyonunu gerçekleştiren **tek bir RNA polimeraz** varken ökaryotik hücrelerde her biri farklı RNA tipinin transkripsiyonundan sorumlu olan **4 farklı RNA polimeraz** enzimi (RNAP) bulunmaktadır. Ökaryotlarda transkriptlerin işlenmesi (processing) de daha karmaşıktır.

ÖKARYOTİK RNA POLİMERAZ

RNA Polimeraz tipleri Transkripsiyona uğrayan genler

RNA pol I (nucleolus)	5.8S, 18S, ve 28S rRNA genleri
RNA pol II (nucleoplasma)	tüm protein kodlayan genler (mRNAlar), snoRNA genleri, miRNA genleri, siRNA genleri ve snRNA genlerinin çoğu
RNA pol III (nucleoplasma)	tRNA genleri, 5S rRNA genleri, geri kalan snRNA genleri, ve diğer küçük rRNAları kodlayan genler
RNA pol IV	sadece bitkilerde; small interfering RNAs (siRNAs)

ÖKARYOTİK RNA POLİMERAZ

- Prokaryotik RNA polimeraz ile karşılaştırıldığında ökaryotik RNA polimerazlar ile çalışmak daha zordur, *çünkü düşük konsantrasyonlarda bulunurlar.*
- Bilinen tüm ökaryotik RNA polimerazlar çoklu alt birimlere sahiptir (ör, 12 alt birimden oluşan maya RNA pol II enzimi, bu alt birimlerden 5 tanesi maya RNA pol III enziminde de bulunmaktadır)
- Ökaryotik RNA Pol'ler kendi başlarına kendi promotorlarına bağlanamazlar, bunun için **TRANSKRİPSİYON FAKTÖRLERİNİN** varlığına gereksinim duyarlar
- Organel-spesifik RNA polimerazlar daha prokaryotik-benzerilerdir (kloroplast ve mitokondri)

- Organizmaların en basiti transkribe edilmeyen bir sürü DNA içerir

- **RNA polimeraz**

- *hangi zincirin kalp zincir olduğunu,*
- *hangi bölümünün transkribe edileceğini ve*
- *transkripsiyona tabi tutulacak genin ilk nükleotidinin nerede olduğu bilmelidir*

PROMOTOR

RNA polimeraza talimat veren;
bahsi geçen herhangi bir gen için,
DNA üzerinde daima aynı noktadan
RNA sentezini başlatan sekans
PROMOTOR sekansdır

Peki promotor nedir?

PROMOTOR sekansı,
DNA molekülünün kodlama zinciri üzerinde
5'→3' yönünde tanımlanmaktadır ve
bakteriyel promotor, transkripsiyon uğrayacak
bölgenin hemen yukarısında (5') yer alır

PROMOTOR

Transkripsiyonun başlaması için
RNA polimeraz enzimi
promotor bölgesinden DNA'ya bağlanır

PROMOTOR

HİPOTEZ

- Bir RNA Pol her geni kopyaladığı için ve bunu gerçekleştirebilmek için her bir gende promotor bölgesine bağlandığı için farklı genlerdeki promotorlerin benzerlikleri olmalıdır.
- Her bir gendeki promotorlar aynı nükleotitlerden oluşan sekanslara sahip olmak zorunda olduğu için DNA'daki benzerlikler nükleotitlerin sekansında yer almalıdır.

PROMOTOR

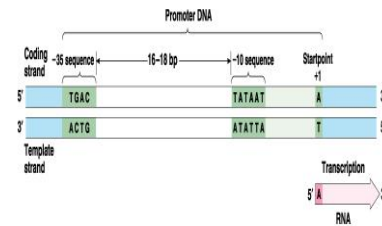
- **David Pribnow**, *E. coli*'den beş genin promotor bölgelerindeki sekansları karşılaştırarak bunu test etti.
- Her birinde korunmuş nükleotid dizileri buldu ve **Pribnow kutusu** olarak isimlendirdi



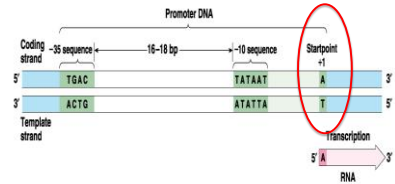
Pribnow

PROMOTOR

- **PROMOTOR** bölgesi transkripsiyonel kontrol için kilit noktadır ve *E. coli* $\sigma 70$ -RNA polimeraz tarafından tanınan tipik prokaryotik **PROMOTOR** bölgesi yaklaşık 40 nükleotit uzunluğunda olup 4 tip korunmuş sekans içermektedir



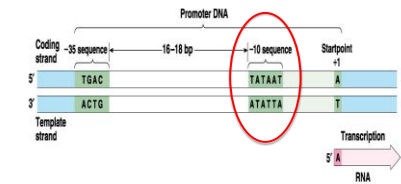
PROMOTOR



1. Transkripsiyonun başladığı noktada, **STARTPOINT**, neredeyse her zaman purin bazı (sıklıkla adenine) bulunmaktadır

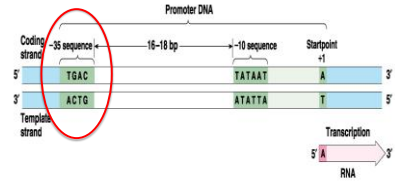
+1 pozisyonu: mRNA'nın ilk nükleotidini kodlayan kalıp DNA üzerindeki nükleotit pozisyonu

PROMOTOR



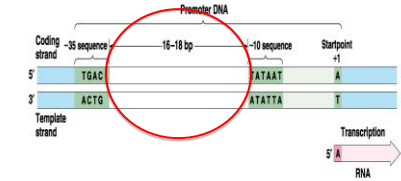
2. Startpoint'in yaklaşık 10 nükleotid yukarısında kalan ve TATAAT şeklindeki 6 nükleotitten oluşmuş sekans **-10 SEKANS** veya **PRİBNOW KUTUSU** veya **TATA KUTUSU** olarak isimlendirilmektedir.
 - RNA polimeraz enziminin tanıma ve bağlanma bölgesidir

PROMOTOR



3. Startpoint'in yaklaşık 35 baz yukarısında kalan ve TTGACA şeklindeki 6 nükleotitten oluşmuş sekans **-35 SEKANS** olarak isimlendirilmektedir.
 - RNA polimeraz enziminin tanıma ve bağlanma bölgesidir

PROMOTOR



4. Arada kalan bölgedeki baz sekansı önemli değildir, ancak bu mesafe oldukça kritiktir (16-18 bp lik uzunluk)

PROMOTOR

- Sigma, -35 ve -10 bölgelerini tanıyarak promotor bölgesine bağlanır. Ortaya çıkan yapı, **kapalı bir promotor kompleks** (closed promoter complex) olarak adlandırılır.
- Promotor bölgesi A ve T bakımından zengindir.
 - AT arasında 2H bağı kurulurken GC arasında 3H bağı kurulur, dolayısıyla AT çiftini ayırmak kolaydır
- RNA POLİMERAZ enziminin **PROMOTOR** bölgesine bağlanması *çifti zincir DNA molekülünün promotor bölgesinde açılmasına sebep olmaktadır*

PROMOTOR

- -10 ve -35 sekansları (ve bunların startpoint'e göre pozisyonları) evrim esnasında korunmuştur, ancak tüm bakteriyal promotorlar'da veya tek bir genomdaki tüm promotorlar'da **aynı değildir**
- Verilen sekanstaki her bir pozisyonda müşterek nükleotit içeren sekanslar: **konsensus sekans**

PROMOTOR

- RNA polimeraz holoenzim transkripsiyonun başlayacağı noktanın etrafını çeviren bölgede yaklaşık **15-18 baz** çiftinden oluşmuş **DNA'yı açar** ve çift zincir DNA'nın zincirlerini birbirinden ayırır

(At promoter)

PROMOTOR

- *E. coli*'deki promotorlar genelde, transkripsiyonun +1 başlangıç bölgesinin -35 bp ve -10 bp yukarısında yer alan iki DNA dizisini içerir.
- Birçok transkripsiyon için kullanılan ortak *E. coli* promotoru, bu konsensus sekanslarına sahiptir:
 - 35 bölgesi için konsensus 5'-TTGACA-3'.
 - Pribnow box olarak bilinen -10 bölgesi için konsensus 5'-TATAAT-3'.
- Transkripsiyon başlatma işlemi (initiation), RNA polimeraz holoenziminin promotor DNA sekansına bağlanmasını gerektirir. Holoenzim aşağıdakilerden oluşur:
 - Dört polipeptit içeren RNA polimeraz enziminin core kısmı (iki α , bir β ve bir β').
 - Sigma faktör (σ).

PROMOTOR

- Sigma faktörü core enzimi bağlar ve ona promotorları tanıma ve RNA sentezini başlatma yeteneği kazandırır. Sigma olmadan, core enzim DNA'ya rastgele bağlanır, ancak verimli bir şekilde kopyalamaz.
- **RNA polimeraz holoenzim, promotora iki adımda bağlanır**
 - Birincisi, gevşek bir şekilde -35 dizisine bağlanır
 - İkincisi, -10 sekansına sıkıca bağlanır, o bölgedeki yaklaşık 17 bp'lik DNA'yı çözerek ve transkripsiyonu başlatmak için gerekli pozisyonu alır

PROMOTOR

- Çoğu *E. coli* geni **$\sigma 70$ promotora** sahiptir ve $\sigma 70$ genellikle hücrede en çok bulunan sigma faktördür. Diğer sigma faktörleri değişen koşullara yanıt olarak üretilebilir. *E. coli* sigma faktörlerine örnekler:
 - a. σ^{70} -35 de TTGACA , -10 da TATAAT sekansını tanır
 - b. σ^{32} -39 da CCCCC , -15 de TATAAATA sekansını tanır.
Sigma³² ısı şoku ve diğer stres biçimlerine tepki olarak ortaya çıkar.
 - c. σ^{54} -26 da GTGGC, -14 de TTGCA sekansını tanır.
Sigma⁵⁴ ısı şoku ve diğer stres biçimlerine tepki olarak ortaya çıkar.
 - d. σ^{23} -15 deTATAATA sekansını tanır. Sigma²³ , faj T4 ile enfekte olmuş hücrelerde mevcuttur
- *E. coli* ilave sigma faktörlere de sahiptir. Diğer bakteriyal türlerde çoklu sigma faktörlerine sahiptir.

PROMOTOR

- *E. coli*, gen regülasyonunda önemli rolleri olan birkaç sigma faktörüne sahiptir.
- Her bir sigma, bir molekül core RNA polimeraza bağlanabilir ve transkripsiyon için gen seçimini yönlendirebilir.

PROMOTOR

Interactions of various sigma factors of *E. coli* with the same core polymerase to form holoenzymes with different promoter-binding specificity

Sigma Factor	Promoters Recognized	Promoter Consensus	
		<u>-35 Region</u>	<u>-10 Region</u>
$\sigma 70$	Most genes	TTGACAT	TATAAT
$\sigma 32$	Genes induced by heat shock	TCTCNCCTTGAA	CCCCATNTA
$\sigma 28$	Genes for motility and chemotaxis	CTAAA	CCGATAT
$\sigma 38$	Genes for stationary phase and stress response	?	?
$\sigma 54$	Genes for nitrogen metabolism & other functions	<u>-24 Region</u> CTGGNA	<u>-12 Region</u> TTGCA

Heat-shock response:

High temperature induces the production of $\sigma 32$, which binds to the core polymerase to form a unique holoenzyme for recognition of the promoters of heat-shock induced genes.

PROKARYOTLARDA TRANSKRİPSİYON

PROKARYOTİK TRANSKRİPSİYON

Transkripsiyon işlemi prokaryotlarda
3 basamakta gerçekleşir

1. RNA polimeraz holoenzimin başlangıç bölgesine yani promotör sekansına bağlanması, çift sarmal DNA'nın helikaz enzimi ile açılması (Prokaryotlarda polimeraz enzimi helikaz aktivitesine sahiptir) ve RNA sentezinin başlaması (**INITIATION**)
2. Nükleosid trifosfatların (NTPler) kullanımı ile DNA kalıp zincir sekansını temel alan RNA sentezi (RNA zincirinin uzaması) (**ELONGATION**)
3. RNA sentezinin son bulması (**TERMINATION**) sentezin sona ermesi için genetik koddaki "STOP" kodonu, terminasyonun sonu değildir!!!!.

TRANSKRİPSİYON

- Transkripsiyon hem prokaryotlar hem de ökaryotlar için üç basamakta gerçekleşir; Initiation (başlatma), elongasyon (uzama) ve terminasyon (sonlandırma)
- Elongasyon işlemi prokaryotlar ve ökaryotlarda oldukça korunmuştur, ancak başlatma ve terminasyon biraz farklıdır

1 RNA polimeraz enziminin promotör sekansına bağlanması ve RNA sentezinin başlaması (INITIATION)

Prokaryotik bir gen, kromozomdaki DNA sekansıdır. Genin üç bölümü vardır ve her biri transkripsiyonda bir fonksiyona sahiptir:

- a. Transkripsiyonu başlatmak için RNA polimerazı çeken **PROMOTOR** sekansı.
- b. **RNA-kodlama sekansı** olarak adlandırılan transkripsiyona uğrayan sekans. Bu DNA sekansı, transkriptin RNA sekansına karşılık gelir.
- c. RNA kodlama sekansının aşağısında, transkripsiyonun nerede duracağını belirten **TERMINATÖR** bölgesi.

1
**RNA polimeraz enziminin promotor sekansına
bağlanması ve RNA sentezinin başlaması
(INITIATION)**

Gen üzerinde yer alan
promotor, RNA-kodlayan sekans ve terminatör bölgesi

1
**RNA polimeraz enziminin promotor sekansına
bağlanması ve RNA sentezinin başlaması
(INITIATION)**

RNA polimeraz çift sarmal
DNA'da promotor sekansına
bağlanır (CLOSED COMPLEX)

RNA polimeraz transkripsiyon
başlangıç noktasının yakın
çevresindeki çift sarmal DNA'yı
açarak **transkripsiyon balonu**
oluşturur (OPEN COMPLEX)

RNA Polimeraz başlangıçtaki ilk
iki rNTP arasındaki fosfodiester
bağının oluşumunu katalize eder

1
**RNA polimeraz enziminin promotor sekansına
bağlanması ve RNA sentezinin başlaması
(INITIATION)**

- RNA polimeraz holoenziminin DNA üzerindeki **promotor** bölgesine (RNA sentezinin nereden başlayacağını ve hangi DNA zincirinin kalıp DNA olarak görev yapacağını belirleyen spesifik sekans) bağlanması çift sarmal DNA molekülünün lokal olarak açılmasını (*Prokaryotlarda polimeraz enzimi helikaz aktivitesine sahiptir*) sağlar (**BINDING**).
- RNA polimeraz promotora bağlandığında **kapalı kompleks** yapı oluşturur. Bundan sonra, DNA promotorda açılarak zincir başlatma için gerekli olan **açık kompleks** oluşturur
- *E. coli* 'de, RNA polimeraz holoenziminin **σ alt ünitesi** promotor bölgesinin tanınması ve bağlanmanın spesifitesi için gereklidir

1
**RNA polimeraz enziminin promotor sekansına
bağlanması ve RNA sentezinin başlaması
(INITIATION)**

- Gelen ilk iki rNTP başlangıç noktasındaki DNA molekülünün kalıp zincirindeki nükleotitlerle tamamlayıcı bazlar aracılığı ile hidrojen bağı oluşturduğunda *RNA polimeraz enzimi ilk NTP'nin 3'-OH grubu ile ikincinin 5'-P grubu arasındaki fosfodiester bağının oluşumunu katalize eder* ve PP_i açığa çıkar

1
RNA polimeraz enziminin promotor sekansına bağlanması ve RNA sentezinin başlaması (INITIATION)

- Diğer nükleotitler birer birer eklendikçe RNA polimeraz enzimi promotor boyunca ilerler ve yeni gelen her bir nükleotidin 5'-P grubu büyümekte olan RNA zincirinin 3'-OH grubuna eklenir...*ta ki zincir 9-12 nükleotit uzunluğuna gelene kadar.*
- Bu noktada, *σ alt ünitesi RNA polimeraz enziminden ayrılır ve başlama evresi tamamlanır.*

1
RNA polimeraz enziminin promotor sekansına bağlanması ve RNA sentezinin başlaması (INITIATION)

Kapalı kompleks yapının oluşumu (Closed complex)

- Polimeraz enzimin promotor bölgesine ilk defa bağlanması
- DNA çift zincir varlığını muhafaza eder
- Enzim heliks yapısının tek bir yüzüne bağlanır

1
RNA polimeraz enziminin promotor sekansına bağlanması ve RNA sentezinin başlaması (INITIATION)

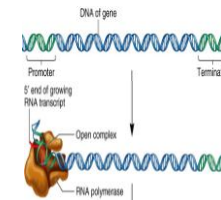
Transkripsiyonun initiation aşamasında tanımlanmış
3 basamak bulunmaktadır

1. Kapalı kompleks yapının oluşumu (closed complex)
2. Açık kompleks yapının oluşumu (open complex)
3. Promotordan ayrılması (Stable ternary complex)

1
RNA polimeraz enziminin promotor sekansına bağlanması ve RNA sentezinin başlaması (INITIATION)

Açık kompleks yapının oluşumu (Open complex)

Başlangıç bölgesinin (+1 site) etrafında yaklaşık 14 bp'lik (-11 den +3) bir bölgede DNA denatüre olur ve zincirler birbirinden ayrılarak replikasyon balonu oluşur



1

RNA polimeraz enziminin promotor sekansına bağlanması ve RNA sentezinin başlaması (INITIATION)

Dengeli üçlü kompleksin oluşumu
(Stable ternary complex)

- Enzim promotor bölgesinden ayrılır
- Elongasyon (uzama) fazına geçilir
- Stable ternary complex =DNA +RNA + enzyme

2

RNA ZİNCİRİNİN UZAMASI (ELONGASYON)

- Zincirler birbirlerinden ayrıldıktan sonra, ~ 17 bp'lik transkripsiyon balonu, aşağı doğru, transkripsiyona uğrayacak DNA sekansı üzerinde hareket eder
- RNA polimeraz, birbirine komşu olan ribonükleotitler arasındaki fosfodiester bağları oluşumunu katalize eder.
- **Topoizomerazlar**, transkripsiyon balonunun önünde ve arkasında süpersarmalı rahatlatır

2

RNA ZİNCİRİNİN UZAMASI (ELONGASYON)

- Başlangıç (INITIATION) evresinden sonra, sigma faktor ayrılır ve yeni mRNA molekülünün sentezi 5' - 3' yönünde gerçekleşir, *i.e.* 'elongasyon'
- RNA polimeraz kalıp zincir üzerinde ilerleyerek (5'-3' yönünde) çift sarmal DNAyı açar ve büyütmekte olan RNAYa rNTPleri eklemektedir

2

RNA ZİNCİRİNİN UZAMASI (ELONGATION)

- Elongasyon sırasında, *E. coli* RNA polimeraz DNA üzerinde ~28-35 bp'lik bir bölgeyi kapsar. ~ 17 bp'lik DNA molekülü açılır ve en son sentezlenen RNA molekülü DNA molekülüne halan hidrojen bağları ile bağlıdır ve kısa RNA-DNA hibridi (~ 9-12 bp uzunluğunda) oluşturmaktadır
- *E. coli* RNA polimeraz ile elongasyon hızı ~40 nükleotid/saniye; T3 RNA pol = ~200 nükleotid/saniye.

2

RNA ZİNCİRİNİN UZAMASI
(ELONGATION)

- DNA polimeraz enziminin aksine *RNA polimeraz enzimleri RNA zincirinin uzaması devam ederken yanlış eşleşme yapmış bazı ortadan kaldırarak olası hataların düzelmesini sağlayan 5'→3' ekzonükleaz aktivitesine sahip değillerdir*
- Dolayısıyla, DNA sentezine kıyasla, RNA sentezi hataya daha açıktır
- *Ancak, her bir genden çok sayıda RNA molekülünün transkripsiyonu gerçekleştiği için ve az sayıda olan birkaç kopya tolere edilebileceği için bu durum bir problem teşkil etmemektedir*



RNA zincirinin sentezi,
core polimeraz enzimi
terminasyon bölgesine
ulaşınca kadar devam eder.

RNA POLİMERAZ, İKİ PROOFREADING
FONKSİYONU GERÇEKLEŞTİRİR

- **Pyrophospholytic editing (Fosforolitik düzenleme):**
 - Enzim yanlış yerleştirilmiş bir NTP'nin çıkarılmasını katalize etmek için kendi aktif bölgesini kullanır.
 - DNA polimeraz düzenleme ile benzer şekilde, yeni eklenen nükleotid, sentez reaksiyonunu tersine çevirerek kaldırılır.
- **Hydrolytic editing (Hidrolik düzenleme):**
 - Polimeraz bir veya daha fazla nükleotit geri gider, RNA ürününü keserek hata içeren diziyi çıkarır, sonra sentezi ileri yönde tekrar başlatır
 - Hidrolik düzenleme, elongasyon stimülasyon faktörleri olarak da görev yapan Gre faktörleri tarafından uyandırılır.

3

RNA SENTEZİNİN SON BULMASI
(TERMINATION)

- RNA polimeraz DNA üzerinde **TERMİNATOR** adı verilen spesifik sekansı kopyalayana kadar büyümekte olan RNA zincirinin uzaması devam eder. Bu bölgenin transkripsiyonunu yapınca tamamlanmış olan RNA molekülü kompleksten, RNA polimeraz ise kalıp DNA'dan ayrılır (**TERMINATION**)

3

RNA SENTEZİNİN SON BULMASI (TERMINATION)

Bakterilerde,
RHO FAKTÖR (ρ) adı verilen bir
proteinin işleme katkısına göre
terminasyon iki tiptir

A- Rho bağımsız terminasyon (Intrinsic)

Terminatör sekansları, bir seri **A nükleotidleri** tarafından takip
edilen **GC bakımından zengin ters DNA tekrarları**
(**inverted DNA repeats**) içerir

A- Rho bağımsız terminasyon (Intrinsic)

RNA polimeraz

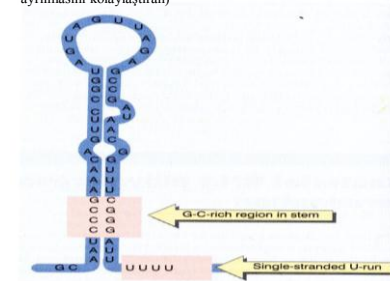
ne zaman durması gerektiğini nasıl belirler?

DNA üzerinde transkripsiyonun nerede başlayacağını belirleyen
promotor sekansları gibi yine DNA üzerinde bu transkripsiyonun
ne zaman bitmesi gerektiğini belirleyen ve **terminator** olarak
isimlendirilen sekanslar mevcuttur

A- Rho bağımsız terminasyon (Intrinsic)

Type I terminator

Rho bağımsız terminasyon işleminde RNA transkriptinde **GC bakımından zengin kısa bir sekans** ve **3' ucuna yakın bunu takip eden pek çok U (uracil)** bazı içermektedir ((DNA dan ayrılmasını kolaylaştıran)

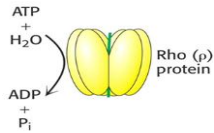


B- Rho bağımlı terminasyon Type II terminator

- Poli (U) bölgesinden yoksundur ve çoğu da palindrom içermez.
- **RHO BAĞIMLI TRANSKRİPSİYON TERMİNASYON** işleminde **Rho (ρ)** olarak adlandırılan bir protein faktörünün varlığına gereksinim vardır.
- **İki domain'i** vardır: *biri RNA molekülüne diğeri ise ATP'ye bağlanmak için.*

B- Rho bağımlı terminasyon Type II terminator

- **RHO**, hexamerik bir proteindir (Altı tane Rho monomeri RNA transkripti üzerinde bir araya gelerek hegzamer oluşturur) ve bu hegzamerde; altı RNA-bağlanma bölgesi (**rut: rho utilization site**) ve altı ATP-bağlanma bölgesi yer alır
- **RHO**; aynı zamanda ATP-bağımlı RNA/DNA helikaz aktivitesine sahiptir; (bu aktivite ile yeni oluşmakta olan mRNA molekülünün 3' ucuna doğru ilerlerken mRNA molekülünü DNA'dan ayırır)



B- Rho bağımlı terminasyon Type II terminator

- "Rho" ρ faktör RNAya bağlanıp üzerinde kayarak kalıp DNA ve mRNA arasındaki etkileşimi bozar ve yeni sentezlenen mRNA'nın elongasyon kompleksinden ayrılmasını sağlar
- **ATP hidrolizi** ρ 'nun RNA transkript boyunca hareket etmesini ve RNA-DNA hibritini terminasyon bölgesinde destabilize etmesini sağlar.

B- Rho bağımlı terminasyon Type II terminator

1. Rho hegzameri önce yeni oluşmakta olan mRNA transkriptinin 3' ucuna yakın bir yerde bulunan 70-80 nükleotit uzunluğunda *situzince zengin guanince fakir* spesifik terminasyon sekansına (**rut: rho utilization site**) bağlanır

B- Rho bağımlı terminasyon
Type II terminator

2. Bağlandıktan sonra, Rho hegzameri, RNA boyunca 5'-3' yönünde hareket eder (mRNA-Rho kompleksi Rho ATPaz'ın aktivasyonuna sebep olarak 5'→3' yönünde translokasyonu kolaylaştırır), RNA polimerazı yakalamaya çalışır

B- Rho bağımlı terminasyon
Type II terminator

3. RNA'nın 3' ucuna yakın sekonder yapılar oluştuğunda RNA polimeraz duraksar, Rho yakalar ve transkripsiyon balonundaki RNA-DNA dupleksini açarak (ATP hidrolizini kullanarak) terminasyona neden olur.

3

RNA SENTEZİNİN SON BULMASI
(TERMINATION)

Transkripsiyon işlemi terminasyon
ister **RHO FAKTÖR BAĞIMLI**
ister **RHO FAKTÖR BAĞIMSIZ** olsun,
neticede
tamamlanmış RNA molekülü ve core RNA polimeraz enzimi
serbest kalır

Core RNA polimeraz enzimi daha sonra
başka bir sigma faktöre bağlanarak
başka bir promotordan RNA sentezini başlatır

Transkripsiyonun terminasyonu,
prokaryotlarda
gen ekspresyonunun regülasyonunda
rol oynayabilir