

MOLEKÜLER BİYOLOJİ II B208

Prof. Dr. Özlem OSMANAĞAOĞLU

NEDEN GEN EKSPRESYONU REGÜLE EDİLİR?

- RNA ve protein yapmak çok fazla enerjiye ihtiyaç vardır
- Bu nedenle, bazı genler her zaman aktiftir (constitutive genler), çünkü bu gen ürünlerine hücrede her zaman ihtiyaç vardır
- Diğerleri çoğu zaman aktif değildir ve yalnızca bu gen ürünlerine ihtiyaç duyulduklarında aktif hale gelirler

PROKARYOTLARDA GEN EKSPRESYONUNUN REGÜLASYONU

GEN EKSPRESYONUNUN REGÜLASYONU

- Prokaryotlar ile karşılaştırıldığında gen ekspresyonunun kontrolü ökaryotlarda çok daha karmaşıktır.
- Sebebi, Ökaryotlarda:
 - Hücrelerin kompartmantalizasyonu
 - Transkript oldukça kapsamlı modifikasyonlara uğrar
 - Uzak mesafeden regülasyon
 - Hücre ve doku spesifik gen ekspresyonu
 - Genom çok daha büyük
 - Genler genom üzerinde dağınık bulunurlar

GEN EKSPRESYONUNUN REGÜLASYONU

- Prokaryotlarda, regülasyonun temel noktası *transkripsiyonel başlangıcının kontrolüdür*.
- Ökaryotlarda, gen ekspresyonunun regülasyonu, birçok farklı noktadan kontrol edilir:
 - Transkripsiyonun başlangıcı (en önemli kontrol)
 - Kromatin kontrol
 - Epigenetik kontrol
 - Transcriptin işlenmesi
 - Transcript stabilitesi
 - RNA transport
 - Protein stabilitesi
 - Protein transport
 - Post-Translasyonel modifikasyonlar

GEN EKSPRESYONUNUN REGÜLASYONU

Gen Ekspresyonunun, prokaryot ve ökaryotlardaki regülasyon amaçları birbirinden farklıdır

Prokaryotlarda gen kontrolünün amacı, tek bir hücrenin besinsel çevresindeki değişikliklere adapte olmasına olanak sağlayarak bakterinin bulunduğu ortamda büyüme ve bölünme gibi temel fonksiyonlarının optimize edilebilmesidir

Ökaryotlarda gen kontrolünün amacı ise embriyolojik gelişimi ve doku farklılaşmasını temelinde barındıran genetik programının regülasyonudur

1. KATABOLİK YOL ve SUBSTRAT İNDÜKSİYONU

Bahsi geçen enzimin
katabolik (yıkım) yada anabolik (sentez) yolda
işlem yapmasına bağlı olarak



Bakteriler enzim sentezini regüle etmek için
iki temel strateji kullanırlar

- Disakkarit bir şeker olan laktöz'un basit şekerlere yıkımı (katabolizması)
- Bu metabolik yoldaki merkezi basamak laktöz şekerinin glikoz ve galaktöz monosakkaritlerine hidrolizidir, ve reaksiyon β -galactosidase enzimi tarafından katalize edilmektedir

1. KATABOLİK YOL ve SUBSTRAT İNDÜKSİYONU

- Bununla beraber, laktöz hidroliz edilmeden önce, hücre içerisine alınmak zorundadır. Galactoside permease adı verilen bir protein bu transport işleminden sorumludur ve sentezi β -galactosidase sentezi ile koordineli bir biçimde regüle edilmektedir

2. ANABOLİK YOL ve SON ÜRÜN REPRESYONU

- Bu metabolik yoldaki basamakları katalize eden enzimler genetik seviyede koordineli bir şekilde regüle edilmektedir
- Bakterilerin çoğu büyümeleri için gerekli olan amino asitlerin tamamını sentezleyebilir
- Ancak belirli bir amino asiti oluşturmak için gerekli olan enzimler bakteri hücrelerinde sadece bu amino asit üretimini katalize etmeleri gerektiği zaman mevcuttur

1. KATABOLİK YOL ve SUBSTRAT İNDÜKSİYONU

- Katabolik enzimin** fonksiyonu spesifik bir substratı degrade etmek olduğundan, bu tür enzimlere, hücre bu tür bir madde ile karşı karşıya kaldığında ihtiyaç duyulmaktadır
- Örneğin β -galactosidase enzimine, hücrede laktöz fazlası olduğu zaman ihtiyaç duyulmaktadır, laktözün yokluğunda enzimin varlığı lüzumsuzdur
- Bu durumda laktöz şekerinin varlığında β -galactosidase enzim sentezinin indüklenmesi veya **on** durumuna getirilmesi ya da enzimin yokluğunda **off** durumuna getirilmesi hücrenel ekonomi açısından mantıklıdır
- Enzim sentezinin on durumuna getirilmesi substrat indüksiyonu, sentezi regüle edilen enzim de indüklenbilir enzim olarak bilinmektedir

2. ANABOLİK YOL ve SON ÜRÜN REPRESYONU

- Örneğin, bir bakteri hücrelerinin tryptophan sentezleyebildiğini varsayalım
- Eğer bakteri laboratuvar ortamında içeriğinde tryptophan olmayan bir besi yerine konursa, hücre tryptophan üretimi için gerekli olan 5 enzimi sentezler ve bu enzimlerin oluşumu için gerekli bilgi **trp operonunda** bulunmaktadır
- Diğer taraftan, eğer ortamda yeterli miktarda trp varsa, bakteri ihtiyacı kadarını besi ortamından alır ve bu amino asitin sentezi için gerekli olan enzimlerden hiç birini sentezlemez. **Bu durumda trp operonunun represyonu söz konusudur**

2. ANABOLİK YOL ve SON ÜRÜN REPRESYONU

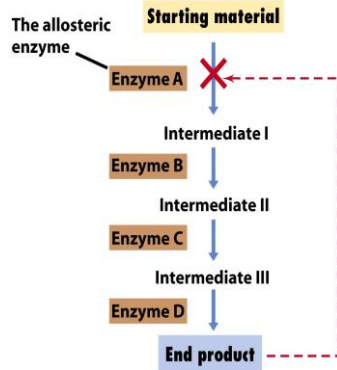
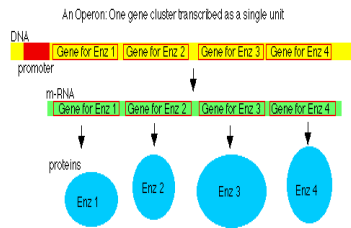


Figure 9-2 Brock Biology of Microorganisms 11e
© 2006 Pearson Prentice Hall, Inc.

OPERON : TEK BİR PROMOTOR TARAFINDAN KONTROL EDİLEN GEN KÜMELERİDİR

- Operon'da yer alan her bir gen mRNA'da temsil edilir, ve mRNA'nın her bir bölümü de birbirinden bağımsız olarak translasyona uğrar



- Bu tür mRNA molekülleri **polisistronik (polygenic) mRNA** olarak tanımlanır

OPERON : TEK BİR PROMOTOR TARAFINDAN KONTROL EDİLEN GEN KÜMELERİDİR

- Fonksiyonel olarak birbirleri ile yakın ilişkide olan genlerin operonlarda organize olup tek bir promotor tarafından kontrolü prokaryotlarda sıklıkla gözlemlenmektedir ve bu gen kümeleri genellikle tek bir metabolik işlemden aktif olan enzimleri üretmektedir
- OPERON** olarak isimlendirilen bu gen kümelerinin transkripsiyonu neticesinde tek bir mRNA oluşturulur (**polycistronic mRNA**: birden fazla polipeptit kodlayan tek bir mRNA molekülü) (**sistron**: tek bir fonksiyon için hizmet gören en küçük genetik birim, yani tek bir polipeptit kodlar)

OPERON : TEK BİR PROMOTOR TARAFINDAN KONTROL EDİLEN GEN KÜMELERİDİR

- Bahsi geçen operon'da yer alan **genler koordineli bir şekilde kontrol edilirler**; ya hepsi transkripsiyona uğrar ya da hiçbiri
- Tek bir metabolik fonksiyonu gerçekleştirmek için eğer pek çok enzimin varlığına gerek var ise, bunlar tek bir operon'da kodlanmış olarak bulunurlar. Dolayısıyla, bu enzimlerden birinin üretimi diğer geri kalanlarının da üretimine sebep olacağından oldukça **ekonomik bir kontrol sistemidir**

EFFEKTÖR MOLEKÜLLERİ

- Enzim sentezinin induksiyon ve represyonundaki ortak bir özellik, kontrolün her ikisinde de **gen seviyesinde** sağlanmasıdır
- Paylaşılan diğer bir özellik ise kontrolün hücre içerisinde veya hücreyi saran ortamda bulunan ve **effector** olarak isimlendirilen küçük organik moleküller tarafından tetiklenmesidir

EFFEKTÖR MOLEKÜLLERİ

İki tip efektör mevcuttur:

INDUCER

- Repressöre bağlanarak onu inaktif hale getiren ligand
- Inducer'in bağlanması neticesinde repressör proteinin şeklinde değişiklik meydana gelir, dolayısıyla da operator bölgesine bağlanamaz

COREPRESSOR

- repressöre bağlanarak onu aktif hale getiren ligand (corepressor yokken repressor fonksiyonel değil)

EFFEKTÖR MOLEKÜLLERİ

EFFEKTÖRLER, genin ekspresyonunu kontrol eden allosterik proteinde şekil değişikliğine sebep olur

Katabolik yolda, efektörler genelde her zaman için substratı kendisidir (laktöz), ve gen ekspresyonunun dolayısıyla da enzim sentezinin indükleyicisi görevini görürler

Anabolik yolda, efektörler genellikle son ürün kendisidir (tryptophan), ve gen ekspresyonunun dolayısıyla da enzim sentezinin represyonuna sebep olurlar

EFFEKTÖR MOLEKÜLLERİ

OPERON

REPRESSIBLE ya da INDUCIBLE olabilir

REPRESSIBLE:	INDUCIBLE:
Operondaki transkripsiyonu repress etmek/ kapatmak için co-repressöre bağlanır (metabolit/son ürün)	Operondaki transkripsiyonu indüklemek/ açmak için inducer'a bağlanır (metabolit/başlangıç substratı)

REGÜLASYONDAN SORUMLU PROTEİNLER**OPERON**

POZİTİF ya da **NEGATİF** kontrol altındadır

NEGATİF	POZİTİF
Repressor kullanır	Activator kullanır

Repressörler ve aktivatörler;

her zaman on konumda olan

CONSTITUTIVE REGULATORY GENLER

tarafından kodlanan PROTEİNlerdir

PROTEİNLERİ KODLAYAN GENLER

Bakterilerdeki proteinler ve bu proteinleri kodlayan genler
iki grup altında toplanırlar

- Bunlardan biri ve en büyüğü **YAPISAL GEN** ürünü olan yapısal proteinlerdir (enzimler, membran proteinleri ve ribozomal komponentler gibi)
- Proteinlerin diğer önemli kategorisinde ise regülasyondan sorumlu genler tarafından kodlanan **REGÜLASYONDAN SORUMLU PROTEİNLER** yer almaktadır (regulatory proteins)
- Bu grupta yer alan proteinler hücrenin bulunduğu çevreyi algılamasını sağlar ve DNA molekülüne bağlanarak yapısal genlerin transkripsiyon hızını regüle ederler

DOĞADA 3 KOMBİNASYON BULUNUR

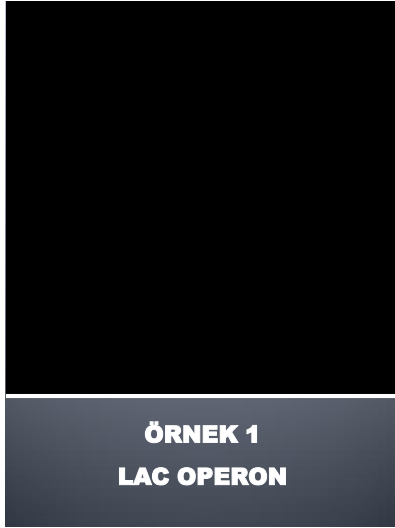
	REPRESSIBLE	INDUCIBLE
NEGATIVE	Bu operon transkripsiyonu repress etmek için co-repressor'e bağlanan repressor kullanır	Bu operon transkripsiyonu induce etmek için inducer'a bağlanan repressor kullanır
POSITIVE	----	Bu operon transkripsiyonu induce etmek için inducer'a bağlanan activator kullanır

REGÜLASYONDAN SORUMLU PROTEİNLER

Regülasyondan sorumlu iki tip protein bulunmaktadır:

NEGATİF ve **POZİTİF** etki gösteren proteinler

- NEGATİF** etki gösteren proteinler promotor bölgesinden veya o bölgeye yakın bir yerden DNA molekülüne bağlanarak gen veya operonu baskılar ve RNA polimeraz enziminin gen veya operona fiziksel ulaşımına engel olarak mRNA sentezine engel olmuş olur
 - Regülasyondan sorumlu olan bu tip proteinler **REPRESSOR**, represörün bağlandığı DNA bölgeleri de **OPERATÖR** olarak bilinmektedir
- POZİTİF** etki gösteren proteinler DNA molekülüne promotor bölgesinden veya promotora yakın bir noktadan bağlanarak RNA polimeraz enziminin promotora bağlanma verimliliğini artırır.
 - Pozitif etki gösteren proteinler **AKTİVATÖR**, bağlandıkları DNA noktaları da **AKTİVATÖR NOKTASI** olarak bilinmektedir



Laktoz katabolizmasında gerekli olan genler
indüklenebilir operonda (lac operon)
organize olmuşlardır



Operonda
birbiri ile yakın ilişkide olan gen kümelerinin
tek bir polygenik mRNA molekülüne
transkripsiyonundaki avantajı
farklı polipeptitlerin sentezinin
tek bir basamakta kontrol edilebilir olmasıdır



Lac operonu
indüklenmediği sürece aktif olmayacağı için
“indüklenebilir operon”
olarak isimlendirilmektedir

Laktoz metabolizmasında gerekli olan genlerin organizasyonuna

Lac operonunun transkripsiyonu RNA polimeraz enziminin bağlanma noktası olan **promotor** bölgesinden başlar, *operatör ve yapısal genler* boyunca ilerleyerek **terminatör** sekansında son bulur

Laktoz metabolizmasında gerekli olan genlerin organizasyonuna

E. coli'de Lac operonu
laktoz yıkımı için gerekli olan üç enzimi sentezler

Laktoz metabolizmasında gerekli olan genlerin organizasyonuna

E. coli'de Lac operonu
laktoz yıkımı için gerekli olan üç enzimi sentezler

LacZ: Beta-galaktosidaz enzimini kodlar

- Laktozu glikoz ve galaktoza parçalar (galaktoz, aynı zamanda metabolizma için glikoza dönüştür)
- Laktozu allolaktöz indüserine izomerize eder (Laktoz varlığı, allolaktöz varlığı anlamına gelir)

LacY: permeaz enzimini kodlar

- Hücre membranı boyunca laktozun transportu için

LacA: transasetilaz enzimini kodlar

- Fonksiyonu net olarak anlaşılamamıştır

Laktoz metabolizmasında gerekli olan genlerin organizasyonuna

E. coli'de Lac operonu
laktoz yıkımı için gerekli olan üç enzimi sentezler

LAKTOZ OPERONUNUN 2 KONTROL DEVRESİ VARDIR

NEGATİF İNDÜKLENEBİLİR

- Operondan transkripsiyonu indüklemek için **inducer**'a (**allolactose**) bağlanan **repressor** kullanır
- Arabanın ateşlemesi
- Laktoz varlığını gerekli kılar

POZİTİF İNDÜKLENEBİLİR

- Operondan **transkripsiyonu indüklemek için inducer**'a (cyclic AMP) bağlanan **aktivator**'ü (**CAP**) kullanır
- Gaz pedalı
- (Tercih edilen) glikozun yokluğunda gerçekleşir

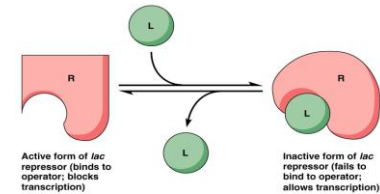
İş nasıl yürür?

Öncelikli olarak
arabayı çalıştırmak için
allolactose'a ihtiyacımız olacaktır

LAC OPERON NEGATİF İNDÜKLENEBİLİR

LAC REPRESSÖRÜ

- **Lac repressörü** allosterik bir proteindir ve DNA molekülüne bağlanması laktoz tarafından kontrol edilmektedir
 - Allosterik protein, uygun bir efektör molekülünün varlığına veya yokluğuna bağlı olarak iki farklı konformasyonda bulunabilir
- **Effektör** molekülü proteine bağlandığı zaman, proteinin konformasyonel yapısında dolayısıyla da aktivitesinde değişikliğe sebep olur ve bağlanma geri dönüşümlüdür



LAC OPERON
NEGATİF İNDÜKLENEBİLİR KONTROL DEVRESİ

- Ortamda **laktöz yok**, represör proteinin aktif formu lac operonundaki operatör bölgesini spesifik olarak tanıyarak bağlanır
- Aktif repressor operatöre bağlandığı zaman, RNA polimeraz promotora bağlanamaz ve yapısal genlerin transkripsiyonu gerçekleşemez (**transkripsiyon blokları**)

LAC OPERON
NEGATİF İNDÜKLENEBİLİR KONTROL DEVRESİ

- Ortamda **laktöz var**, laktöz izomeri olan **allolactose (inducer)** lac represörüne bağlanarak represörün konformasyonunu değiştirir ve onu inaktif yapar; neticede represör DNA üzerindeki lac operatör bölgesine artık bağlanamaz

LAC OPERON
NEGATİF İNDÜKLENEBİLİR KONTROL DEVRESİ

Eğer represörün operatöre bağlanması transkripsiyona engel oluyorsa, hücreler *lac* operonunun transkripsiyonunu nasıl gerçekleştirir?

LAC OPERON
NEGATİF İNDÜKLENEBİLİR KONTROL DEVRESİ

- Ortamda **laktöz var**,
- Repressör bağlanmadığı zaman operatör bölgesi işgal edilmediği için RNA polimeraz enzimi promotora bağlanır ve operon boyunca ilerleyerek *lacZ*, *lacY* ve *lacA* genlerinin tek bir polygenic mRNA molekülüne **transkripsiyonunu gerçekleştirir**



lac operonu

transkripsiyonda **negatif kontrole** örneklerdir
 çünkü repressörün aktif formu
 RNA polimeraz enziminin
 DNA molekülüne bağlanmasına engel olduğu için
 operonun (genlerin) transkripsiyonuna engel olur



- Ancak, RNA Polimerazı Lac operon promotörü için düşük afiniteye sahiptir....
- Dolayısıyla her ne kadar Lac operonu laktoz varlığı ile on konumuna gelmiş olsa da, çok düşük seviyelerde transkribe edilir (tıpkı aracınızın kontağını çevirdikten sonra aracınız bir miktar ileriye atılması gibi)
- Peki araba çalışınca, nasıl gaza basacağız?



LAC OPERON
POZİTİF İNDÜKLENEBİLİR



LAC OPERON
POZİTİF İNDÜKLENEBİLİR KONTROL DEVRESİ

Bazı operonların transkripsiyonu
POZİTİF KONTROL altındadır, yani
regülasyondan sorumlu olan proteinin aktif formu
operonun ekspresyonunu sağlar

**LAC OPERON
POZİTİF İNDÜKLENEBİLİR KONTROL DEVRESİ**

Transkripsiyonun pozitif kontrolüne örnek
KATABOLİT REPRESYONUDUR
(sadece ortamda glikoz olmadığı durumlarda
diğer karbon kaynaklarının kullanımını
garanti altına almaktadır)

**LAC OPERON
POZİTİF İNDÜKLENEBİLİR KONTROL DEVRESİ**

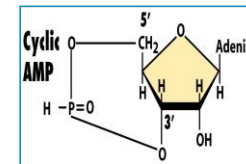
Diğer regülasyondan sorumlu olan mekanizmalarda olduğu gibi,
glikoz molekülünün tercihen kullanımı
regülasyondan sorumlu allosterik bir protein ve
küçük **effektör** molekülünün varlığına ihtiyaç duyan
bir genetik kontrol mekanizması tarafından sağlanmaktadır

**LAC OPERON
POZİTİF İNDÜKLENEBİLİR KONTROL DEVRESİ**

- Glikoz molekülü, tüm prokaryotik hücreler (ve hatta çoğu ökaryotik hücreler) için tercih edilen enerji kaynağıdır
- Çünkü glikolitik ve TCA döngüsünün enzimleri hücrelerin çoğunda devamlı olarak üretilmektedir ve ilave herhangi bir enzim sentezine gerek olmaksızın hücredeki glikoz molekülü katabolize edilebilmektedir

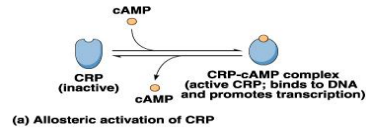
**LAC OPERON
POZİTİF İNDÜKLENEBİLİR KONTROL DEVRESİ**

- Burada, gen ekspresyonunu kontrol eden gerçek **effektör** molekülü glikoz molekülünün kendisi değil ancak *hücrede glikoz molekülünün seviyesini yansıtan ikinci bir sinyal molekülüdür*
- Bu ikinci sinyal molekülü bir çeşit AMP formu olan **cyclic AMP** veya **cAMP**'dir
- Glikoz molekülü, ATP'den cAMP sentezini katalize eden **adenyil cyclase** enzimini dolaylıda olsa inhibe ederek etkisini göstermektedir
- Dolayısıyla, **ortamda ne kadar çok glikoz, o kadar az cAMP**



LAC OPERON POZİTİF İNDÜKLENEBİLİR KONTROL DEVRESİ

- Burada regulasyondan sorumlu protein **CRP**'dir (cAMP reseptör protein) ve transkripsiyonun aktivatörüdür



- CRP kendi başına inaktifdir ama cAMP ile birleştiği zaman CRP aktif forma geçer ve katabolit enzimleri üreten operonun içerisinde belirli baz sekanslarına bağlanır

LAC OPERON POZİTİF İNDÜKLENEBİLİR KONTROL DEVRESİ

CRP, gen ekspresyonu üzerinde pozitif etkiye sahiptir

- CRP aktif formda iken (CRP-cAMP kompleksi) DNA üzerindeki tanıma bölgesine (CRP bağlanma bölgesi) bağlanır, RNA polimeraz enziminin promotor bölgesine bağlanmasını hızlandırarak transkripsiyon işleminin başlamasını tetikler

LAC OPERON POZİTİF İNDÜKLENEBİLİR KONTROL DEVRESİ

CRP bağlanma bölgesi (CRP binding site) olarak bilinen bu sekans promotorun yukarısında yer almaktadır

LAC OPERON POZİTİF İNDÜKLENEBİLİR KONTROL DEVRESİ

Hücrenin içerisinde glikoz konsantrasyonu arttığında,

cAMP konsantrasyonu azalır ve

CRP inaktif halde kalır



CRP:

katabolik enzimlerin üretiminden sorumlu olan operonların transkripsiyonunu stimüle edemez ve hücrede enerji kaynağı olarak glikoz molekülünün olduğu durumlarda hücre ihtiyacı duyulmayan katabolik enzimlerin sentezini kapatır veya bloke eder

LAC OPERON POZİTİF İNDÜKLENEBİLİR KONTROL DEVRESİ

Hücrenin içerisinde glikoz konsantrasyonu azaldığında,
cAMP konsantrasyonu artar ve
CRP'ye bağlanarak onu aktif hale getirir



CRP-cAMP kompleksi
indüklenebilir operonların transkripsiyonunu artırarak
hücrenin glikoz dışı besinlerin yıkımı ile
enerji elde etmesini sağlayan katabolik enzimlerin
üretimine sebep olur

TRP OPERONU (Repressible Operon)

- *Lac* operonu indüklenebilir bir operondur, yani spesifik allosterik bir efektör ile yapısal genler transkripsiyona uğrar
- Bunun aksine, anabolik (biyosentez) yolda gerekli olan enzimleri regüle eden operonlar baskılanabilir (repressible) operonlardır, yani allosterik bir efektör ile yapısal genlerin transkripsiyonu engellenir
 - yani, *Tryptophan sentezinde gerekli olan genler baskılanabilir (repressible) tryptophan operonunda organize olmuşlardır*

ÖRNEK 2 TRP OPERON

TRP OPERONU (Repressible Operon)

- Trp operon, eşgüdümlü (koordineli) gen düzenlenmesinin bir başka örneğidir.
- Trp operonunun tamamı yaklaşık 7000 bp uzunluğundadır.
- Operonun transkripsiyonu, beş yapısal gen için poligenik mRNA'nın üretilmesine neden olur.
- Trp operonunu inaktive etmek için biyosentetik yolda son ürün olan **tryptophan** kendisine ihtiyaç vardır ve **co-repressor (efektör)** olarak isimlendirilir

TRP OPERONU (Repressible Operon)

Trp operonu

transkripsiyonun **NEGATİF KONTROLÜNE** örnektir çünkü repressörün aktif formu RNA polimeraz enziminin DNA molekülüne bağlanmasına engel olur operonun (genlerin) transkripsiyonu engellenir

TRP OPERONUNDA GEN ORGANİZASYONU

- Trp operonunda **BEŞ YAPISAL GEN (A-E)** yer almaktadır (Bu genler trp biyosentezinde gerekli olan reaksiyonları katalize eden enzimleri kodlar)
- Operonun biraz yukarısında yer alan **trpR** geni regülasyondan sorumlu olup inaktif allosterik repressör proteinini (apopresor) kodlar. Bu protein; co-repressor (trp) kendisine bağlandığı zaman aktif, bağlanmadığı yani serbest olduğu durumda ise inaktif'dir

TRP OPERONUNDA GEN ORGANİZASYONU

- **PROMOTOR** ve **OPERATÖR** bölgeleri, DNA üzerinde trpE geninin yukarısında, birbirlerine oldukça integredirler
- **LEADER BÖLGE (trpL)**: promoter-operator bölge ve trpE arasında 162 bp uzunluğunda bir bölgedir
- trpE geninin hemen yukarısında bulunan Leader bölge aynı zamanda **ATTENUATOR BÖLGESİ (att)** olarak adlandırılır ve trp operonunun regülasyonunda oldukça önemli bir role sahiptir

TRP OPERONUNUN REGÜLASYONU

- Trp operonu tarafından üretilen enzimlerin ekspresyonu
 - tryptophan varlığında bloke edilmekte
 - yokluğunda ise yapısal genlerin transkripsiyonu gerçekleşmektedir....

TRP OPERONUNUN REGÜLASYONU

Tryptophan varlığında

- Ortamda trp olduğunda, trp inaktif represor proteinine (aporepresor) bağlanarak onu aktif yapar.
- Aktif represor operatöre bağlanır ve RNA polimeraz tarafından protein kodlayan trp operonunda **transkripsiyonun başlamasını engeller**. Trp biyosentezinden sorumlu olan enzimler üretilmez.

TRP OPERONUNUN REGÜLASYONU

- Şu ana kadar üzerinde durmuş olduğumuz ve regülasyondan sorumlu mekanizmaların tamamı **transkripsiyonun başlangıç aşaması** kontrol etmektedir.
- Bununla beraber prokaryotlarda regülasyondan sorumlu olan bazı mekanizmalar transkripsiyonun başlangıç aşamasından sonra devreye girmektedir.

TRP OPERONUNUN REGÜLASYONU

- Şiddetli triptofan açlığı altında trp genleri maksimum seviyede eksprese edilir ve **attenuation** ile kontrol edilir.
- Bu, beş yapısal gen dahil olmak üzere transkriptlerin oranını kontrol eden bir mekanizma ile gerçekleştirilir.
- Attenuator bölgesindeki 140 bp'lik transkriptler **leader bölge (trpL)** içinde son bulur.

TRP OPERON ATTENUATION İÇİN KLASİK MODEL

ATTENUATION

Attenuation mekanizması,
transkripsiyon ve translasyon işleminin
prokaryotlarda
yer ve zaman olarak bir arada yürütmesini kendisine temel almıştır

mRNA molekülü tamamlanmadan protein sentezi başlar

ATTENUATION

Leader segmenti kendisinin regülasyonda önemli bir rol oynamasına sebep olan iki alıylmamış özelliğe sahiptir

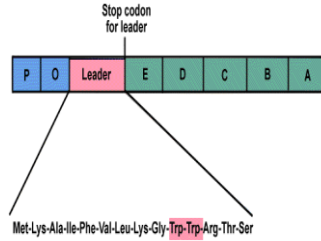
ATTENUATION

- Attenuation mekanizmasının nasıl çalıştığını anlamak için *trp operonundaki leader mRNA* segmentine yakından bakalım. .
- **LEADER SEKANS** olarak isimlendirilen bu DNA segmenti polygenic trp mRNA'sının 5' ucunda bulunan ve 162 nükleotit uzunluğunda olan leader mRNA segmentini üretmektedir

ATTENUATION

- **Birincisi**, mRNA moleküllerinin 5' ucunda bulunan ve translasyona uğramayan leader sekansların aksine, trp leader sekansın bir kısmı translasyona uğrayarak 14 amino asit uzunluğunda leader peptit oluşturmaktadır, ve bu peptidi kodlayan mRNA sekansı içerisinde birbirine komşu **iki kodon trp amino asitini kodlamaktadır**

ATTENUATION



ATTENUATION

- 3 ve 4. bölgeler arasında meydana gelen baz eşleşmeleri saç tokası yapısını oluşturur ve bu durumda **ATTENUATOR transkripsiyon terminasyon sinyali** olarak hareket eder
- Bu şekilde bir yapının oluşumu, RNA polimeraz enziminin ve büyümekte olan RNA zincirinin DNA molekülünden ayrılmasına sebep olmaktadır

ATTENUATION

- **İkincisi**, trp leader mRNA molekülü 4 bölge içermektedir (1, 2, 3 ve 4. bölge) ve bu bölgede yer alan nükleotitler birbirleri ile baz eşleşmeleri yaparak çeşitli ve özel saç tokası şeklindeki yapıları meydana getirirler
- 3 ve 4. bölgelerle birlikte bu bölgeleri takip eden ve 8 U nükleotitinden oluşmuş zinciri içine alan bölge **ATTENUATOR** olarak isimlendirilmektedir

ATTENUATION

Tryptophan seviyesi az olduğunda,

- **Trp seviyesi az olduğunda**, trptophanyl tRNA molekülünde (tryptophan taşıyan tRNA) konsantrasyonu azdır
- Dolayısıyla, ribozom, leader RNA üzerindeki tryptophan kodonlarına vardığında orada bir süreliğine durarak trptophanyl tRNA molekülünün gelmesini bekler

ATTENUATION

Tryptophan seviyesi az olduğunda,

- Ribozom trptophanyl tRNA molekülünün gelmesini beklerken 1.ci bölgeyi bloke ederek 2 ve 3.bölge arasında alternatif bir saç tokası yapısının oluşmasına olanak sağlayarak antiterminasyon sinyali verir
- 3.bölge bu durumda 4.bölge ile terminasyon yapısını oluşturamaz ve RNA polimeraz enzimi devam ederek nihayetinde trp operonuna ait tüm mRNA transkriptini oluşturur

ATTENUATION

Tryptophan az olduğunda: transkripsiyon son bulmaz

ATTENUATION

Tryptophan seviyesi çok olduğunda,

- Tryptophan seviyesi, dolayısıyla da trptophanyl tRNA (tryptophan taşıyan tRNA) konsantrasyonu çok olduğunda ribozom tryptophan kodonlarının olduğu yerde durmaz
- Kodlama sekansına sahip leader peptidin sonunda yer alan stop kodonlarına kadar ilerler ve burada durarak 2. bölgeyi bloke eder

ATTENUATION

Tryptophan seviyesi çok olduğunda,

- Ribozomun 2. bölgede duraklaması transkripsiyon terminasyon sinyali olan ve **attenuator** olarak isimlendirilen 3-4 saç tokası yapısının oluşmasına olanak sağlar
- Dolayısıyla, RNA polimeraz enzimi tarafından transkripsiyon leader sekansın sonuna doğru son bulur ve trptophan sentezinde gerekli olan enzimleri kodlayan mRNA molekülü artık üretilmez

ATTENUATION

Tryptophan çok olduğunda: transkripsiyon son bulur

ATTENUATION**Prokaryotlarda**

attenuation işleminin gerçekleşebilmesi için transkripsiyon ve translasyon işleminin bir arada gerçekleşmesi gerekmektedir

Ökaryotlarda

bu olay söz konusu değildir
çünkü DNA molekülü nükleus da
transkripsiyona uğrarken
translasyon sitoplazmik bir işlemdir

ATTENUATION

- Lider bölgenin mRNA transkripti, kısa bir polipeptit üretmek için translasyona uğrayabilen bir sekans içerir.
- Transkriptin stop kodonundan hemen önce, triptofan amino asiti için bitişik iki kodon attenuation işleminde önemli bir rol oynar.
- Tamamlayıcı baz eşleşmeleri ile ikincil yapıları oluşturabilen ve katlanabilen lider peptit mRNA'sında dört bölge vardır.
- Bölge 1 ve 2'nin eşleşmesi transkripsiyon duraklama sinyali ile sonuçlanır. Bölge 3 ve 4'ün eşleşmesi transkripsiyonel sinyalin sonlanmasına yol açar. Bölge 2 ve 3'ün eşleşmesi transkripsiyonun devam etmesi için anti-terminasyon sinyali ile sonuçlanmaktadır.
- Ribozomun lider transkript üzerindeki pozisyonu, attenuator bölgesinde transkripsiyon terminasyonunun regülasyonunda önemli bir rol oynar.