**PROTEİN SENTEZİ (TRANSLASYON) VE PROTEİN TRANSPORTU**

DNA ve RNA sentezinde olduğu gibi, protein sentezi de bir şablona (mRNA) ihtiyaç duyar. Yine diğer makromoleküllerin polimerizasyonuna benzer bir şekilde; protein sentezi de başlama, zincir uzaması ve sonlandırılma aşamaları ile karakterize edilir. Ancak translasyonda ayrıca, aminoasil-tRNA olarak adlandırılan bir aktif öncü molekülün oluşumu aşaması yer almaktadır. Bu aşama amino asit polimerizasyonunun yapılabilmesi için zorunludur ve translasyonun bir evresi olarak kabul edilmektedir. Zira aktive edilen öncü molekül belirli amino asidi bağlar ve birlikte mRNA ile interaksiyon verirler (kodon-antikodon eşleşmesi). Protein sentezi, ribozom ve diğer yardımcı faktörlerden oluşan komplike bir sistem içerisinde meydana gelir. Ribozom; replizom ve transkripsiyon kompleksleri gibi, reaksiyonların etkinliğini artıran bazı proteinler ile ribozom komplekslerinin oluşmasını sağlayan proteinleri içermektedir. Ancak translasyon sisteminin yukarıda söz edilen diğer sistemlerden temel farklılığı, sistemin tamamen bir protein makinesinden oluşmamasıdır. *E. coli’*de ribozomların 2/3’ ü RNA’dan oluşmaktadır. Ribozomal RNA (rRNA) ribozomun kalbidir. Zira rRNA, peptit bağlarının katalizinde, mRNA’nın ribozoma doğru bölgeden bağlanmasında ve translasyon için doğru okuma kalıbının seçiminde aktif bir şekilde rol oynamaktadır. Bundan dolayı ribozom, aynı zamanda, bilinen en karmaşık RNA enzimidir. Peptit bağ oluşumu ribozomlarda meydana geliyor ise de; bazı proteinler, polipeptit zincirleri kovalent olarak modifiye edilmedikçe ve aktivite gösterecekleri hücresel lokasyona transferleri gerçekleşmedikçe, olgun protein özelliği göstermezler. Bu kovalent modifikasyonlar ve transfer, polipeptit sentezi ribozomlarda devam ederken ya da sentezin bitiminden hemen sonra meydana getirilmektedir. Bundan dolayı biyolojik bilgi akışı mantıksal açıdan ne kadar basitse, sürecin biyokimyası da o derece karmaşıktır. 1950’ li yıllarda tipik bir memeli hücresinin sitosolü elektron mikroskobisi ve hücresel fraksiyon teknikleri ile incelendiğinde, stoplazmada 10 milyon rRNA+protein partikülünün (ribozom) bulunduğu saptanmıştır. Bu bulgudan kısa bir süre sonra söz konusu partiküllerin, amino asitlerin (radyoaktif işaretli) polipeptit zincirine dahil edildikleri bölgeler olduğu deneysel olarak tespit edilmiştir. Bu deneylerde hücreler birkaç saniye radyoaktif amino asitlerle birlikte muamele edilmiş ve radyoaktivitenin çoğunun ribozomlarda toplandığı belirlenmiştir. Muamele süresi 1 dakikaya çıkarıldığında ise, radyoaktivitenin çoğunluğu proteinler ile birlikte sitosole geçmiştir. Bu süreçte üretilen proteinlerin radyoaktif amino asitleri içermesi, protein sentez bölgelerinin ribozomlar olduğunu kanıtlamıştır. Hücresel bilginin akışında görev yapan diğer enzimlerle karşılaştırıldığında, ribozomların bir miktar yavaş çalıştığı görülmektedir. DNA polimeraz bir saniyede yaklaşık 1000, RNA polimeraz ise yaklaşık 55 nukleotit sentezi yaparken, ribozomlarda aynı sürede yaklaşık 18 amino asit polimerize edilmektedir. Bu oransal farklılık, nukleik asitlerin polimerizasyonuna yalnız 4 alt ünitenin, proteinlerin polimerizasyonuna ise 20 alt ünitenin katılmasından ileri gelmektedir. Nukleik asit polimerazlar doğru alt üniteyi 4 alternatif içinden seçerken, ribozomlar doğru aminoasil-tRNA’yı çok daha fazla alternatiften seçmek zorundadır. Yanlış aminoasil-tRNA’yı yapıya sokmamak için daha fazla zamana ve düşük oranda protein sentezine gereksinim duyulur. Ancak, bir memeli hücresinin 10 milyon ribozom içerdiği göz önünde bulundurulduğunda, her saniyede hücrenin yaklaşık 200 milyon peptit bağı gerçekleştirdiği ortaya çıkar. Bu, toplamda çok yüksek bir orandır.

Ribozomlar protein sentezine katılan reaktantları ilişkilendirecek şekilde taşır ve peptit bağlarının doğru yönde oluşmasını sağlar. Ribozomlar ayrıca protein sentezinin diğer aşamalarına da aktif olarak katılırlar. Protein sentezinin başlama aşamasında mRNA’yı doğru kodondan başlayacak şekilde bağlar. Translasyonun doğru ilerlemesi ve etkinliği, mRNA’nın yanlış okunması ve dolayısı ile protein yapısına yanlış amino asitlerin ilavesi ile sınırlandırılmaktadır. Ribozomlar, translasyonun sonlanması ve polipeptit zincirinin salınması aşamalarına da katılmaktadır. Ribozomların yapısı ve fonksiyonu, protein ve rRNA partiküllerinin interaksiyonuna bağlıdır. rRNA; ökaryotik ribozom kütlesinin yarısını, prokaryotlarda ise 2/3’ünü teşkil etmektedir. rRNA, proteinlerin temas edeceği ribozom iskeletini oluşturur. Ancak rRNA’nın, iskelet görevinden çok, ribozomun katalitik çekirdeğini oluşturduğu bilinmektedir. Ribozomal proteinler ise; ribozomun yapısını stabilize etmeleri yanında, fosfodiester bağlarının negatif yüklerini nötralize ederek mRNA ve tRNA moleküllerinin interaksiyonunu olanaklı hale getirir. Bu nedenle ribozomlar, yalnız genetik kodun translasyonu açısından değil, karmaşık protein-RNA interaksiyonları açısından da yoğun biyokimyasal araştırmaların odağı haline gelmiştir. Prokaryot ve ökaryotlarda protein sentezi detaylarda farklılık gösterse de, ribozomun organizasyonu evrimsel süreçte korunmuştur. Prokaryotik ribozomlar üzerinde -doğal olarak- çok daha fazla bilgi bulunduğu için, öncelikle bu organizmalardaki yapı ve fonksiyonları incelenecektir. Yine bu bölüm içeriğinde prokaryotik ve ökaryotik protein sentezi arasındaki farklılıklar tartışılacaktır.

Tüm ribozomlar eşit olmayan iki alt üniteden oluşur. *E. coli’*de büyük alt ünite 50S küçük alt ünite ise 30S olarak adlandırılmaktadır (S=Swedberg ünitesi= ultrasantrifüj işlemi ile sağlanan yoğunluk düzeylerinde partiküllerin bant verdiği bölgeyi ifade eder. Büyük S değerleri büyük kütleleri belirtir. S ve kütle arasındaki ilişki lineer olmadığı için bir kütlenin alt birimlerinin S değerleri, toplam kütlenin S değerinin eşiti değildir). Her iki ribozomal alt ünite de protein ve rRNA içermektedir. 30S ve 50S ribozomal alt ünitelerin biçimi immünoelektron mikroskopu, nötron dağılımı, çapraz bağlama ve x-ışını kristalografisi yöntemleri ile incelenmiştir. Sonuçta 30S alt ünitesinin uzun ve asimetrik bir yapı olduğu saptanmıştır (5,5x22x22,5 nm). Daralmış bir boyun bölgesi, başı temel yapıdan ayırır. Temel yapıda oluşan bir çıkıntı ise, yarık bölgesini meydana getirir. 50S ribozomal alt ünitesi, 30S alt ünitesinden daha geniş ve biraz kısadır. Boyutları 15x20x20 nm’ dir. Bu iki alt ünite beraber 70S ribozomunu oluşturur (Şekil 36).

30S alt ünitesi, *E. coli’*de 1542 nukleotid uzunluğunda bir 16S ribozomal RNA molekülü ve 21 farklı proteinden (S1,S2,S3....S21) oluşmuştur. Bu proteinlerin moleküler ağırlığı 8500-61200 Dalton arasında değişmektedir. 16S rRNA’da 4 ana bölge tanımlanmıştır (Şekil 37). Bu bölgelerin her birinde çok sayıda Watson-Crick baz eşleşmeleri mevcuttur. İkincil yapıyı oluşturan bu baz eşleşmelerinin, birçok prokaryotik türde korunmuş olduğu (aynı bazların eşleştiği) belirlenmiştir. Aynı durum 16S rRNA moleküllerinin tüm nukleotit dizileri için söz konusu değildir. Türler arasında ise; korunmuş baz eşleşmesine neden olan tek zincir bölgelerdeki değişim, tamamlayıcı bölgenin de değişimine neden olmakta, yani korunmuş seriler ve ikincil yapı belirli oranda farklılaşmaktadır. Bu baz eşleşmelerinin korunması, eşleşen bölgelerin ribozomların fonksiyonunda rol oynadığına işaret etmektedir. 30S alt ünitede bulunan 16S rRNA’ in tersiyer yapısı üzerindeki çalışmalar halen sürdürülmektedir. 16S rRNA molekülleri, yukarıda tanımlanan evrimsel süreçte korunmuş seri özelliklerinden dolayı, prokaryotik türlerin tanısı ve akrabalık ilişkilerinin belirlenmesinde yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. *E. coli* ribozomunun büyük alt ünitesi (50S) biri 5S rRNA (120 nukleotit içerir), diğeri ise 23S rRNA (2904 nukleotit) olmak üzere iki farklı rRNA molekülü ve 31 farklı protein içermektedir (L1-L31) (11000-41500 Dalton arasında moleküler büyüklüğe sahip). Bu rRNA moleküllerinin ikincil yapıları da, farklı organizmalarda korunmuş pozisyondadır. Söz konusu korunmuş yapılar, tüm ribozomların ortak bir atadan evrimleştiğine işaret etmektedir.

Ribozomun tam bir aktivite gösterebilmesi için, yukarıda ifade edilen ribozomal proteinlerin tümünün yapıya ilave edilmesi gereklidir. Biyolojik membranlarda, protein komplekslerinde ve bazı virüslerde olduğu gibi, ribozom alt üniteleri de; saf proteinler ve rRNA moleküllerinin uygun oranda karıştırılmaları halinde, hücre dışında kendi kendine birleşme özelliği göstermektedir. 30S alt ünitesinin oluşması; 16S rRNA’ in önce en az 6 veya 7 proteinle birleşmesi (S4, S7, S8, S15, S17 ve S20, muhtemelen S13 ile de bu aşamada birleşir) sonucu 21S partikülünü oluşturulması ve 21S partikülünün konformasyonel bir değişim ile diğer proteinleri yapısına dahil etmesi, aşamalarını içerir. Aynı şekilde 50S alt ünitesinin 31 proteini de kendi kendine birleşme aktivitesi gösterir. Bu proteinlerin yaklaşık yarısı, önce 23S ve 5S rRNA molekülleri ile birleştikten sonra, diğer proteinlere bağlanması olanaklı hale gelir. Herhangi bir türe ait ribozomal proteinler, yalnız o türün rRNA molekülleri ile interaksiyon verir. Örneğin; maya ribozomlarının 16S rRNA molekülleri, *E. coli* ribozomal proteinleri ile interaksiyon vermez. Yani ribozomların benzer morfolojisi evrimsel süreçte korunmuş ise de, spesifik protein-protein temasları ve protein-rRNA interaksiyonları korunmamıştır.

*E. coli’*de rRNA genleri kromozom üzerinde 7 farklı bölgede yer almaktadır. Bakteriyel genomda rRNA genlerinin çok sayıda bulunması genellikle rastlanan bir durum değildir. *E. coli’*de görülen bu özellik; aktif bir şekilde gelişen hücrelerin ortalama 25000 ribozoma ihtiyaç duymasından kaynaklanmaktadır. Bu gen bölgelerinin her birinde, sırasıyla, birer adet 16S, 23S ve 5S geni yer alır. Söz konusu üç gen beraber, bir 30S rRNA öncüsü halinde transkribe edilir. Daha sonra 30S rRNA transkripti işlenerek olgun rRNA molekülleri oluşturulur. Yedi adet 30S rRNA öncüsünün nukleotit dizi analizleri yapıldığında; rRNA bölgelerinin tamamen aynı olduğu, ancak 16S rRNA ile 23S rRNA transkriptleri arasındaki 1 veya 2, ve 5S rRNA transkriptinden sonraki bölgede ise -0- veya 2 tRNA transkriptinin bulunmasına göre, öncü transkriptlerin farklılık gösterdiği saptanmıştır. Bu 30S rRNA öncülerinin işlenmesi, tRNA öncülerinin işlenmesi ile eş zamanlı bir şekilde yürütülür. 30S rRNA öncüsü, önce RNaz III enzimi ile işlenir. Bu enzim, çift zincir RNA’yı spesifik bir şekilde keser. Öncü sentezi süresince, öncü molekülün 16S, 23S ve 5S rRNA yapıları değişik bölgelerinde çift zincir formları meydana gelir. Öncü transkriptte gerçekleştirilen RNaz III çift zincir kesimleri ile, yukarıda tanımlanan rRNA moleküllerinin her birinden bir adet içeren, serbest rRNA öncüleri oluşturulur (Şekil 38). Daha sonra, rRNA öncülerinin 5′ ve 3′ uç işlenmeleri yapılır. Ancak bu işleme ribozomal proteinlere gereksinim duyar. Henüz transkripsiyonları bitmeden, 30S alt ünitesine ait proteinlerin yaklaşık yarısı, 30S rRNA transkriptinin 16S parçasına bağlanır. Bu aşamada RNaz III enzim kesimi başlar. Diğer ribozomal proteinlerin ilavesi ve 16S rRNA’nın da daha ileri düzeyde işlenmesi sonucunda da 30S alt ünite formunun oluşumu tamamlanır (Şekil 39). Bu nedenle 30S alt ünitesinin oluşumu ve rRNA’nın olgunlaşması süreçleri eş zamanlıdır. 50S alt ünitesi de aynı şekilde meydana getirilmektedir.

Polipeptit zincirinin sentez yönü, 1960’lı yıllarda H. M. Dintzis ve çalışma arkadaşları tarafından saptanmıştır. Araştırıcılar, aktif protein sentezi yapan hücreleri, radyoaktif amino asitler ile muamele etmiş ve işaretli amino asitlerin sentezi tamamlanmış proteinde ilk görüldüğü yeri belirlemiştir. Kullandıkları hücreler, tavşanlarda yoğun hemoglobin sentezi yapma yeteneğindeki olgunlaşmamış kırmızı kan hücreleri olan retikülösitlerdi. Retikülösitler, hemoglobin molekülünün tamamlanması için gerekli süreden daha daha az bir zaman diliminde ve kısa aralıklarla, işaretli amino asitlerle muamele edilmiştir. Bu koşullarda, işaretli amino asit ilavesinden önce kısmen sentezlenmiş hemoglobin moleküllerinin sentezi tamamlanabilmiş ve stoplazmaya salınmaları gerçekleşmiştir. Sentezi bu şekilde tamamlanan peptitler, tripsin enzimi tarafından katalizlenen bir hidroliz reaksiyonu ile incelendiğinde; radyoaktivitenin çoğunun C ucunda, gözardı edilecek kadar düşük miktarının ise N ucunda olduğu saptanmıştır. Bu bulgu, protein sentezinin N ucundan başlayarak C ucuna doğru ilerlediğini göstermiştir. mRNA’nın translasyon yönü, ayrıca, baz dizisi bilinen sentetik oligonukleotidlerden peptitlerin üretilmesi suretiyle de tanımlanmıştır. Örneğin; 5′-AAAAAAAAA....AAC-3′ şeklindeki bir polimer, lisin (AAA) kodonları içerir ve asparajinle (AAC) sonlanır (Eğer 5′→3′ yönünde translasyon yapılıyor ise). Bu oligonukleotidin hücre dışı (in-vitro) translasyon ürünü bir karboksipeptidaz ile muamele edildiğinde (polipeptitin C ucundan amino asidi ayırma özelliğindeki enzim), asparajinin sebest kaldığı saptanmıştır. Bu sonuç, translasyon yönünün 5′→3′ olduğunu göstermektedir. mRNA sentez yönünün de 5′→3′ olması, prokaryotlarda transkripsiyon bitmeden translasyonun başlamasına olanak tanımaktadır.

Protein sentezinin özü, peptit bağlarının oluşumudur. Peptit bağları doğru amino asitten başladığı ve doğru amino asit ile sonlandığı zaman ancak aktif protein üretilebilir. Ribozomlardaki sentez reaksiyonları 3 aşamada incelenmektedir. Bunlar; başlama, zincir uzaması ve sonlandırma aşamalarıdır. Bu olaylar çevrimseldir. Başlamayı, 70S ribozomunun 50S ve 30S alt ünitelerine ayrılması teşvik eder. Bu aşamada yeni bir mRNA, 30S alt ünitesine bağlanır ve ardından 50S alt ünitesi ile birleşerek 70S ribozomunu oluşturur. Bu yapıda, sonlandırma aşamasına dek, protein sentezinin zincir uzaması aşaması sürdürülür. Polipeptit sentezi sonlandığında, 70S ribozomu 50S ve 30S alt ünitelerine ayrılır. Bu alt üniteler, ya mRNA interaksiyonu olmaksızın birleşerek inaktif ribozomu oluştururlar ya da diğer mRNA moleküllerinin bağlanmasına ve birleşmeye olanak sağlayan ayrı alt üniteler halinde kalırlar.

Protein sentezinin başlama aşaması, mRNA’nın doğru kodonundan translasyonun başlamasına olanak sağlayacak şekilde ribozoma bağlanmasına gereksinim duyar. Translasyonun doğru kodondan başlaması; ribozomun 30 S alt ünitesinin, 50 S alt ünitesinin, mRNA’nın ve tRNAfMet’in birleşerek başlama kompleksininin (70 S) oluşturması ile sağlanır. Başlatıcı tRNA da denen tRNAfMet , yalnız protein sentezinin başlama aşamasında kullanılır. Proteinin yapısı içindeki metionin rezidüleri (birim, kalıntı) için ise bir başka metionil tRNA kullanılmaktadır. Her iki tip metionil tRNA molekülü de (tRNAMet ve tRNAfMet) metionil tRNA sentetaz enzimi tarafından aminoasilasyona uğratılır. Bir transformilaz enzimi, N10-formil tetrahidrofolattan bir formil grubunu metionil-tRNAfMet’in metionini üzerine taşıyarak, N-formil Metionil- tRNAfMet’i (fMet- tRNAfMet) meydana getirir. Bakterilerde sentezlenen tüm proteinlerde, formil metionin ilk amino asittir. Protein sentezinden sonra ya deformile edilir ya da polipeptit zincirinden uzaklaştırılır.

*E. coli’*de translasyon başlama kompleksi; IF-1, IF-2 ve IF-3 (8000 D, 115000 Dalton ve 20000 Dalton) olarak adlandırılan, 3 başlama faktörüne bağlı olarak meydana gelir. IF-3, 70S ribozomunun iki alt üniteye ayrılmasını sağlayan ilk başlatıcı faktördür. IF-3, 30S alt ünitesine bağlanarak bu alt ünitenin konformasyonunu değiştirir ve 50S alt ünitesinden ayrılmasına neden olur (Çizelge 9). Süreç aşağıda belirtildiği şekilde ifade edilebilir;

70S + IF-3 50S + 30S : (IF-3)

Diğer başlama faktörleri IF-1 ve IF-2’ de 30S alt ünitesine bağlanır. GTP için bağlanma bölgesi içeren IF-2; tRNAfMet molekülünü, hücredeki diğer tüm tRNA moleküllerinden ayırma özelliğindedir. IF-2’nin fMet- tRNAfMet’e bağlanabilmesi için, IF-2:GTP kompleksinin oluşması zorunludur. IF-1 ise, IF-2 ve IF-3’ün etkisini düzenleyen faktör olarak kabul edilmektedir. Her 3-5 ribozom için, başlatıcı faktörlerin hücrede ortalama birer kopyası bulunmaktadır. Başlama faktörlerinin bağlanması sonucu, 30S alt ünitesi fMet- tRNAfMet ve mRNA bağlanması için uygun hale gelir. mRNA’ya fMet- tRNAfMet bağlandıktan sonra IF-3 ayrılır ve 30S başlama kompleksinin oluşumu tamamlanır. Takip eden aşamada 50S alt ünitesi, 30S alt ünitesi ile birleşir ve mRNA ve fMet-tRNAfMet içeren 70S aktif başlama kompleksi tesis edilir (Şekil 40). 70S başlama kompleksi oluşturulduğunda, GTP hidrolize edilir (Pi salınır) ve IF-2:GDP ile IF-1 molekülleri ayrılır. Daha sonra IF-2:GDP yapısından GDP ayrılır ve yeni bir GTP molekülünün bağlanabileceği serbest IF-2 oluşur. Süreç aşağıda belirtildiği şekilde ifade edilebilir;

30S:(IF-2:GTP):(IF-1)+fMet-tRNAfMet+mRNA+50s→70S:(fMet-tRNAfMet):mRNA+IF-2+IF-1+GDP+Pi

**Çizelge 9. *E. coli*’de tanımlanan translasyon başlama faktörleri ve fonksiyonları**

|  |
| --- |
| **Başlama Faktörü Fonksiyonu** |
| IF-1 30S alt ünitesine bağlanır  IF-2 ve IF-3’ün aktivitelerini güçlendirir |
| IF-2 GTP molekülüne bağlanır.  fMet-tRNAfMet’i 30S başlama kompleksine yerleştirir. |
| IF-3 30S alt ünitesine bağlanır.  30S alt ünitesinin 50S alt ünitesine bağlanmasını engeller. mRNA’nın bağlanmasına ve fMet-tRNAfMet’in P bölgesine yerleşmesine yardımcı olur. |

Başlama aşamasında bilginin doğru transferi, başlama kodonunun fMet-tRNAfMet ile interaksiyonuna bağlıdır. Bir hata fonksiyonel protein sentezini engeller. Okuma kalıbındaki bir nukleotidin kayması, proteinin amino asit dizisini tamamen değiştirir. Metionin amino asidini spesifiye eden AUG en sık bulunan protein başlama kodonudur (bakterilerde ayrıca, fMet-tRNAfMet tarafından tanınan GUG, UUG ve CUG kodonları da, başlatıcı kodonlar olarak bulunmaktadır), ancak metionin polipeptit zincirlerinin içinde de sıklıkla yer alır. Doğru başlama için; birinci sırada ve iç pozisyonlarda yer alan metionin kodonlarının ayrılması zorunludur. Başlama için doğru kodon seçimi; sadece tRNA antikodonu ile mRNA kodonunun interaksiyonuna bağlı bir durum değil, aynı zamanda mRNA+ribozom interaksiyonuna bağlıdır. Bu aşamada, mRNA’nın yaklaşık 30-35 nukleotidi ribozoma bağlanır. mRNA’da başlama kodonunun arkasında (5´ucunda) yer alan bu bölge ribozom bağlanma bölgesi olarak tanımlanmaktadır. Prokaryotik organizmalarda; ribozom bağlanma bölgesi içinde ve translasyonun başlama kodonunun hemen 10 nukleotit gerisinde yer alan bölgede, purin bazları açısından zengin bir seri (Shine-Dalgarno serisi) belirlenmiştir. Shine-Dalgarno bölgesi konsensüs serisi AGGAG’dir. mRNA üzerinde yer alan Shine-Dalgarno serisi, 16S rRNA molekülünün 3´ ucundaki uzun ve primidin bazları açısından zengin bir bölge ile tamamlayıcı özelliktedir. Başlama kompleksi oluşurken, mRNA ile 16S rRNA’nın bu tamamlayıcı bölgeleri eşleşerek, mRNA’nın ribozoma bağlanması gerçekleşir. Translasyonu yapılmayan bu mRNA bölgesinin rRNA ile eşleşmesi; antikodonla, birinci pozisyondaki kodon arasında eşleşmenin meydana gelmesini ve dolayısı ile protein sentezinin doğru başlamasını garanti eder (Şekil 41).

Başlama aşaması tamamlandığında, protein sentezi zincir uzaması evresine geçer (Şekil 42). Bu süreçte, her bir aminoasitin yeni sentezlenen polipeptit zincirine ilavesi 3 aşamada gerçekleşir:

1. Doğru aminoasil-tRNA molekülünün, ribozom kompleksinde doğru pozisyon alması
2. Peptit bağı oluşumu
3. Ribozomun, mRNA üzerinde bir kodon kayması

Ribozom; peptit bağı oluşumu için bir aktif bölge ve bu reaksiyonda gerekli substratların bağlanması için de iki bölgeye sahiptir. Peptidil bölge (P bölgesi), sentezlenen polipeptit zincirini tutar. Akseptör bölge (A bölgesi) ise, gelişen zincir için sıradaki amino asidi taşıyan aminoasil-tRNA molekülünü bağlar. Hem P ve hem de A bölgelerinde tRNA moleküllerinin antikodonları, mRNA moleküllerinin kodonları ile hidrojen bağı yapar. Zincir uzama aşamasının (mikroçevriminin) başlangıcında A bölgesi boştur. P bölgesi ise (burada bulunan ve polipeptit zincirini taşıyan tRNA’ya peptidil tRNA adı verilmektedir), başlama aşamasında polimere ilave edilecek ilk amino asidi taşıyan tRNA molekülü tarafından (fMet-tRNAfMet) işgal edilmiş durumdadır. Daha sonra peptidil tRNA, ikinci amino asidi taşıyan tRNA molekülü (aminoasil tRNA) ile ilişkilenir. Bu aminoasil tRNA, EF-Tu adını alan zincir uzama faktörünü taşımaktadır. EF-Tu, protein sentezi süresince doğru aminoasil-tRNA bağlanmasını sağlar. Monomerik yapıdaki bu proteinde (MA=42000) GTP bağlanma bölgesi bulunur. *E. coli’*de EF-Tu:GTP molekülleri, aminoasil-tRNA moleküllerine bağlanarak, A bölgesi için uygun üçlü kompleksleri oluştururlar (Şekil 43). Bir hücrede yaklaşık 135000 EF-Tu molekülü bulunur (*E. coli’*de en fazla bulunan proteinlerden biridir). *E. coli* kromozomunda EF-Tu için iki ayrı gen saptanmıştır. EF-Tu, fMet-tRNAfMet dışındaki aminoasil tRNA molekülerine sıkı bir şekilde bağlanır. Bu protein; tRNA moleküllerini, özellikle akseptör bölgelerindeki ortak tersiyer yapılarından tanır. Söz konusu bölge, aynı zamanda, tRNAfMet molekülünün diğer tüm tRNA moleküllerinden ayrıldığı yerdir. EF-Tu:GTP komplekslerinin bir rolü de, üçlü komplekslerde 2′ pozisyondaki yer alan ester bağı ile aminoasil-tRNA’yı stabilize etmeleridir. Üçlü kompleksler, ribozomun A bölgesine serbest bir şekilde diffüze olur ve EF-Tu, burada doğru kodon-antikodon eşleşmesine yardım eder. Eğer kodon ve antikodon uygun değilse, üçlü kompleks A bölgesinde stabilize edilmez ve denenen aminoasil tRNA ayrılarak bir diğeri yerini alır. Özetle, burada kodon antikodon uygunluğu test edilir. Zincir uzaması aşamasında saniyede yaklaşık 18 amino asit polipeptit zincirine dahil edilir. Bu da, her 5 milisaniyede bir üçlü komplekslerin A bölgesinden ayrılması anlamını taşır. Her bir başarılı kodon-antikodon eşleşmesi için, ortalama 19 başarısız eşleşme (yanlış antikodon) denemesi yapılır. A bölgesindeki kodon ile, üçlü kompleksteki bir aminoasil tRNA’nın antikodonu doğru eşleşme yaptığında, EF-Tu:GTP ribozomun P bölgesindeki peptidil tRNA ile ilişkilenecek şekilde pozisyon alır. Bu ilişki, GTP’ın hidrolizini ve EF-Tu:GDP kompleksinin yapısal değişimini başlatır. Bu değişim, EF-Tu:GDP’nin aminoasil tRNA’dan ve uzama kompleksinden ayrılmasını sağlar. Ribozomun GTPaz aktivitesi, ribozomal proteinler olan L7 ve L12’ den ileri gelir. GTP, ancak EF-Tu:GTP:aminoasil-tRNA üçlü kompleksinin doğru pozisyon alması halinde hidrolize olur. EF-Tu, GDP ayrılana dek yeni bir aminoasil-tRNA molekülüne bağlanamaz. Bu aşamada uzama faktörü Ts (EF-Ts) devreye girer. EF-Ts membrana bağlı bir proteindir (MA=31000) ve GDP ile GTP arasında nukleotit değişimini katalizler. Bu süreç aşağıda belirtildiği şekilde ifade edilir;

EF-Tu:GDP + EF-Ts EF-Tu: EF-Ts + GDP

EF-Tu: EF-Ts + GTP EF-Tu:GTP + EF-Ts

A bölgesine girişe bağlı olarak, aminoasil tRNA; nukleofil özellikte serbest amino grubunu, P bölgesindeki tRNA’ya -yani yeni sentezlenen polipeptit zincirinin ester bağının enerjice zengin karbonil karbonuna- etki edecek şekilde yönlendirir. Amino grubu, 3′ riboz esterinin yerini alır. Böylece peptit zinciri P bölgesindeki tRNA’dan A bölgesindeki tRNA’ya transfer edilir. Bu nukleofilik yer değiştirme reaksiyonu (ya da amino asil grup transfer reaksiyonu) bir peptit bağının oluşumu ile sonlanır. Peptit bağı oluşumundan sorumlu peptidil transferaz aktivitesi, 70S ribozomunun 50S alt ünitesine ait en az beş proteinin (L2, L3, L4, L15 ve L16) kısmi birleşmesi ile gerçekleştirilir. Katalitik bölge, muhtemelen, 70S ribozomun oluşumunun tamamlanmasında zorunlu bir eleman olan 23S rRNA üzerindedir.

Peptit bağının oluşumu (polipeptit zincirine bir amino asit ilavesi) reaksiyonu, yaklaşık 1 kcal mol-1 enerjiye ihtiyaç duyar. Peptidil transferaz tarafından katalizlenen grup transfer reaksiyonunda, enerji; aminoasil tRNA sentetaz enzimi tarafından aktive edilen amino asitten sağlanır. Yeni bir peptit bağı oluşturulduğunda, aktivasyonu gerçekleştiren grup ayrılır. Bu reaksiyonda oluşan enerji, protein sentezinin peptit bağı formasyonu aşamasındaki reaksiyonun tümü için yeterlidir. Bu reaksiyon, termodinamik açıdan uygun yöne doğru olduğu için, tersinir değildir. Peptidil-tRNA ve aminoasil t-RNA aktive edilmesine rağmen, peptidil transferaz reaksiyonu esnasında peptidil-tRNA bağı kırıldığı için; peptit bağı oluşumunda gerekli aktivasyon enerjisi, amino asil-tRNA molekülünden değil, gelişen polipeptit zincirindeki son peptidil-tRNA molekülünden sağlanır. Bu tür polimerizasyon reaksiyonları “baş büyüme reaksiyonu” adını alır. Bunun aksine, nukleik asit polimerizasyonlarında baz ilavesi için gerekli yüksek enerji bağı, zincir sonundaki bazdan değil, gelen monomerden sağlanır. Bu özellikleri nedeniyle bu tip reaksiyonlar “kuyruk büyüme reaksiyonu” olarak adlandırılır. Polimerizasyon mekanizmalarındaki söz konusu farklılıklar, nukleik asit polimerizasyonlarının hatalı eşleşmeleri bulma ve düzeltme aktivitesinden, proteinlerin polimerizasyonlarında ise bu mekanizmanın bulunmamasından kaynaklanmaktadır. Eğer hatalı ilave edilen bir bir amino asit kontrol mekanizması ile polipeptitten ayrılabiliyor olsa idi, yüksek enerjili fosfoanhidrit bağı elimine edilebilir ve polipeptit ribozomdan salınabilirdi. Kontrol (onarım) böylece protein sentezini sonlandırabilirdi. Oysa bunun yerine, protein sentezinin doğruluğu; aminoasil tRNA’nın doğru amino asidi ve ribozomun doğru aminoasil-tRNA’yı seçmesine bağlıdır. Bir peptit bağı oluştuğunda, A bölgesi henüz oluşmuş bir peptidil tRNA içerirken, P bölgesi deaminoasile edilmiş tRNA içerir. Bir sonraki kodonun translasyonu (okunması) öncesinde, deaminoasile edilen tRNA ayrılmalı ve peptidil tRNA “A” bölgesinden P bölgesine geçmelidir. Peptidil-tRNA’nın bu hareketine bağlı olarak, mRNA ribozom üzerinde bir kodon kayar (3’ yönünde). Zira mRNA, transloke olan tRNA’ya bağlı durumdadır. Bu hareket “translokasyon” olarak adlandırılır. Translokasyon aşaması, üçüncü bir uzama faktörünün katılımına gereksinim duyar. EF-G olarak adlandırılan bu faktör, 84000 Dalton (Da) moleküler ağırlıkta, monomerik bir proteindir. Diğer uzama faktörleri ile benzer şekilde, EF-G de, *E. coli’*de yüksek oranda bulunan bir proteindir. *E.coli* hücreleri yaklaşık 20000 EF-G proteini içerir (ribozom başına yaklaşık bir EF-G faktörü düşer). EF-G faktörü GTP için bağlanma bölgesi içerir (bu bölge EF-Tu faktöründe de vardır). EF-G:GTP’nin ribozoma bağlanması sonucu, aminoasile edilmiş tRNA “P” bölgesinden salınır ve peptidil tRNA “A” bölgesinden “P” bölgesine transloke olur. Yalnız bağladığı GTP hidrolize edilip Pi salındığında, EF-G kendi kendine ribozomdan ayrılır. EF-G:GDP ribozomdan ayrıldığında, ribozom zincir uzamasının bir diğer aşaması için serbest hale gelir.

*E. coli’*de RF-1, RF-2 ve RF-3 olarak adlandırılan salınma faktörleri, protein sentezinin sonlandırılmasına katılır. Polipeptit zincirinde son peptit bağı oluşumundan sonra, sentezlenen protein “A” bölgesindeki peptidil-tRNA’ya bağlanır. Peptidil-tRNA “P” bölgesine transloke olduğunda, A bölgesi mRNA’da bulunan üç sonlandırma kodonunun (UGA, UAG, veya UAA) biri ile doldurulur. Doğal tiplerde bu kodonlar herhangi bir tRNA molekülü tarafından tanınmaz, ancak salınma faktörleri tarafından tanınır (yalnız mutant hücrelerde bu kodonlar süpresör tRNA molekülleri tarafından tanınabilir). Bu durumdaki “A” bölgesi, üçlü komplekslerin başarısız bağlanma girişimlerine maruz kalır. RF-1; UAA ve UAG kodonlarını, RF-2; UAA ve UGA kodonlarını tanır. RF-3, GTP’ye bağlanarak, RF-1 ve RF-2’nin peptidil transferaz aktivitesini artırır. Bunun sonucunda, peptidil-tRNA’nın ester bağı peptidil transferaz tarafından hidrolize edilir. Polipeptitin salınımı, büyük bir ihtimalle, GTP hidrolizi ve salınma faktörlerinin ribozomdan ayrılması ile gerçekleştirilir. Bu aşamada 50S alt ünitesi mRNA’dan ayrılır, 30S alt ünitesi ise başlatıcı faktörlere bağlanır (Şekil 44).

Protein sentezinin başlangıcında ribozom mRNA’nın 5′ ucundadır. Protein sentezi sürerken ribozom, 5′ mRNA ucunu arkada bırakacak şekilde, 5′-3′ yönünde hareket eder. 5′ ucu serbest kalan mRNA diğer ribozomlar ve başlama faktörleri için uygun hale gelir. Böylece, aynı proteinin bir diğer molekülünün sentezi başlar. Bu sayede bir mRNA molekülünün, çok sayıda ribozomda ve eş zamanlı olarak translasyonu yapılır. Polizom veya poliribozom olarak adlandırılan bu yapılarda bulunan ribozom sayısı, mRNA’nın uzunluğuna ve protein sentezinin başlama etkinliğine bağlıdır. Polizomlarda mRNA translasyonu maksimuma ulaştığında, herbir ribozom arasında 97 nukleotitlik bir uzaklık bulunur. Bu, 500 nuklotitlik bir mRNA molekülünün translasyonunda, en fazla 5 ribozomun aynı anda işlev görebileceğini ifade etmektedir. Herbir mRNA molekülü *E. coli’*de yaklaşık 50 kez translasyona uğratılır. Bu yolla tek bir mRNA molekülünden çok sayıda protein molekülü oluşur. Herbir amino asidin polipeptit zincirine katılması, 4 fosfodiester bağının kırılması ile olur. Bu reaksiyonlar; amino asidin aktivasyonunda ATP’ın, AMP+2Pi’ye hidrolizi ve zincir uzaması aşamasında iki GTP molekülünün 2GDP+2Pi’ye hidrolizi yolu ile gerçekleştirilir. Albert Lehninger *E. coli’*de en önemli makromoleküllerin sentezinin enerji bilançosunu saptamıştır. Protein sentezi, hücrenin makromoleküler biyosentetik kapasitesinin %90’ ını kullanmaktadır. Küçük moleküller hariç tutulursa, protein sentezi toplam hücresel ATP’nin %30-50’ sini kullanır.

Birçok mikroorganizma, rekabet ettiği diğer canlılara karşı savaşma ajanı olarak antibiyotik üretir. Bazı antibiyotikler peptit bağı oluşumunu engelleyerek bakteriyel üremeyi durdururlar. Örneğin; puromisin, aminoasil tRNA’nın 3′ ucuna çok benzer bir yapı içerir. Bu özelliğinden dolayı, ribozomda “A” bölgesini işgal eder. Puromisinin serbest amino grubu, P bölgesindeki peptidil tRNA ile peptit bağı yapar. Bu bağın oluşumu ile polipeptit zinciri bir tRNA’dan puromisine aktarılır. Peptidil puromisin, “A” bölgesine zayıf bir şekilde bağlanır ve kısa bir süre sonra ribozomdan ayrılarak protein sentezini sonlandırır. Puromisin protein sentezini prokaryotik ve ökaryotik organizmaların her ikisinde de etkin bir şekilde bozduğu için, tıbbi tedavide kullanılamamaktadır. Klinik olarak önemli antibiyotikler yalnız bakteriler için spesifik olmalıdır (streptomisin, kloramfenikol, eritromisin, tetrasiklin ve türevleri gibi). Bu antibiyotiklerden; streptomisin, ribozomal proteinlere bağlanarak protein sentezi başlama aşamasının engellenmesine ve yanlış okumaya, eritromisin prokaryotik ribozomun 50S alt ünitesine bağlanarak translokasyonun engellenmesine ve tetrasiklin ise 30S alt ünitesi ile interaksiyon vererek aminoasil-tRNA moleküllerinin bağlanamamasına neden olmaktadır.

Ökaryotik ribozomlar; mitokondri/kloroplast ribozomları ve stoplazmik ribozomlar olmak üzere başlıca iki tiptedir. Protein sentezinin büyük bir kısmı stoplazmada meydana geldiği için, stoplazmik ribozomlar ökaryotik ribozomlar olarak kabul edilmekte, diğerleri ise organel ribozomları olarak adlandırılmaktadır. Bu tipler, büyüklükleri ve protein sentezini durduran antibiyotiklere duyarlılıkları bakımından birbirinden ayrılmaktadır. Mitokondriler ökaryotik ribozomlardan çok, prokaryotik ribozom özelliği gösterirken, kloroplast ribozomları prokaryotik ribozomların aynısıdır. Bu benzerlik mitokondri ve kloroplastların, milyonlarca yıl önce ökaryotik hücrelerin parazitlerinden türediği fikrini doğurmuştur. Prokaryotik ribozomlar gibi, ökaryotik ribozomlar da iki alt üniteden meydana gelir. Ancak, 80S büyüklükte olan bu ribozomların alt üniteleri, 40S ve 60S büyüklüktedir. Küçük alt ünite (40S) prokaryotik ribozomun 30S alt ünitesinin analogudur (işlevsel benzeri). Bu alt ünite, bir adet 18S rRNA ve 30 protein içerir. Büyük alt ünite ise, (60S) 40 protein ve üç adet farklı rRNA molekülü (5S rRNA, 28S rRNA ve 5,8S rRNA) içerir. Prokaryotik 23S rRNA’nın, ökaryotlarda iki alt üniteye bölündüğü görülmektedir. 5,8S rRNA, prokaryotik 23S rRNA’ in 5′ uç pozisyondaki nukleotid serisinin tamamen aynı olan, 160 nukleotid uzunluğunda bir bölge içermektedir. Yine çoğu ökaryotik 28S rRNA molekülünde; 3′ terminal (uç) bölge, prokaryotik 23S rRNA ile benzer yapıda belirlenmiştir. Prokaryotik ve ökaryotik rRNA molekülleri benzer yapı özellikleri taşır. *E. coli* 16S ribozomal RNA molekülünün farklılaşmış 4 bölgeli yapısı, insan 12S mitokondriyel rRNA ve kurbağa (*Xenopus laevis)* 18S rRNA moleküllerinde benzer bulunmuştur. Aynı şekilde, 5S rRNA molekülleri de prokaryot ve ökaryotlarda benzer yapıdadır. rRNA’nın bu farklılaşmamış yapısı, protein sentezindeki fonksiyonlarının ortak atalardan beri korunduğuna işaret etmektedir (Şekil 45).

Protein sentezi, ökaryotik organizmalarda da başlama, uzama ve sonlanma aşamalarını içermektedir. Bu iki organizma tipi arasında, zincir uzaması ve sonlanma aşamaları büyük ölçüde benzerdir. Ancak, ökaryotik protein sentezi başlama aşaması , translasyondan önce mRNA’nın çok sayıda modifikasyona uğraması nedeniyle, prokaryotik protein sentezi başlama aşamasından oldukça farklıdır. Prokaryotlarda translasyon, mRNA’nın 5′ ucunun transkripsiyonundan hemen sonra başlamaktadır. Bunun aksine, ökaryotik mRNA yoğun bir işlem görür (5′ uçta kapak oluşturulur, işlenir ve nukleustan sitosole transfer edilir). Bu işleme sürecinde ökaryotik mRNA’da yoğun ikincil yapılar oluşur. mRNA işlenmesi sonunda, işleme sürecinde mRNA ile interaksiyon veren proteinlerin ayrılması için ökaryotik başlama faktörleri devreye girer. Bunlar, eIF-4A, eIF-4B ve eIF-4F’dir (e=ökaryotik). eIF-4F “kapak bağlanma proteini”dir (CBP). Spesifik olarak 5′ 7-metil guanin kapaklarına bağlanır ve başlama için doğru kodon seçimine yardımcı olur. Bu kodon genellikle 5′ kapağın 3′ bölgesinde yer alan AUG kodonudur. Başlama aşaması mekanizmasının özgüllüğü, mRNA moleküllerinin iç serilerinde yer alan diğer AUG kodonlarının tanınmasını engeller. Ökaryotik mRNA molekülleri daima tek bir polipeptit kodladığı için “monosistronik”, prokaryotik mRNA molekülleri ise çoğunlukla birden fazla polipeptit kodladıkları için “polisistronik” olarak adlandırılmaktadır. Ökaryotlarda başlama kodonunun tanınması sürecinde, 1 mol ATP kapak bağlanma proteini tarafından hidrolize edilir.

Ökaryotik protein sentezinin başlaması birkaç temel aşamada olur (Şekil 47). İlk aşama 80S ribozomunun 40S ve 60S alt ünitelerine ayrılmasıdır. Bu olay başlama faktörleri eIF-3, eIF-4 ve eIF-6 tarafından yürütülür (eIF-3 ve eIF-4 40S alt ünitesine, eIF-6 ise 60S alt ünitesine bağlanır). 40S alt ünitesi, daha sonra eIF-2, GTP ve başlatıcı aminoasil tRNA’dan oluşan (Met-tRNAiMet) üçlü komplekse bağlanır. Prokaryotlarda olduğu gibi, ökaryotlar da ayrı bir başlatıcı tRNA içerirler. Yalnız bu tRNA formil metionin değil, metionin taşır. Üçlü komplekste GTP, allosterik effektör olarak davranır. Devam eden süreçte 40S alt ünitesi ve üçlü kompleks, mRNA’ya bağlanarak 40S başlama kompleksi oluşturulur. Bu aşamada eIF-5, diğer başlama faktörlerinin kompleksten ayrılmasını ve GTP’nin hidrolizini sağlar. Böylece, 60S alt ünitesinin bağlanması ve 80S ribozomunun oluşumu gerçekleşir. 80S başlama kompleksi oluştuktan sonra, *E. coli’*deki EF-Tu/EF-Ts çevriminin benzeri döngü ile, eIF-2:GDP, eIF-2:GTP’ye dönüştürülür. Böylece protein sentezi başlama kompleksi tamamlanır.

Zincir uzaması aşamasında, EF-1α , EF-1β ve EF-2 olmak üzere 3 faktör devreye girer. EF-1α aminoasil tRNA’yı “A” bölgesine yerleştirir. Aktivitesi, *E. coli’*de tanımlanan EF-Tu faktörü ile aynıdır. EF-1β (*E. coli* EF-Ts analogu), EF-1α faktörünü tekrar çevrimsel hale sokar. EF-2 ise translokasyonda rol alır (*E. coli* EF-Ganalogu). Ökaryotlarda sentez sonlandırma için GTP’ a gereksinim duyan yalnız bir sonlanma faktörü (RF) söz konusudur.Translasyon devam ederken, yeni sentezlenen polipeptit zincirinin sitosoldeki serbest N-terminal bölgesinde, proteinin doğal yapısını oluşturacak bazı enzimatik modifikasyonlar ve katlanmalar başlar. Bu nedenle, söz konusu katlanma ve modifikasyonlar “kotranslasyonel” olarak tanımlanır. Kotranslasyonel ve postranslasyonel modifikasyonlara prokaryot ve ökaryot organizmalar için yüzlerce örnek vermek olasıdır (prokaryotlarda N-terminal amino asidin deformilasyonu, prokaryot ve ökaryotlarda N-terminal metionin’in ayrılması ve ökaryotlarda histonlardaki lisin amino asitlerinin asetilasyonu gibi). Kotranslasyonel süreçte meydana gelen en önemli olaylar, proteinlerin işlenmesi ve membranlardan transportudur. Protein sentezi stoplazmik ribozomlarda meydana gelir, ancak, proteinlerin büyük çoğunluğu membranların diğer yüzünde (stoplazmaya bakan yüzün aksi yönünde) lökalize olur. Örneğin; ökaryotların ve bakterilerin birçok reseptör proteini membranın dış yüzeyinde lökalize olmuştur. Diğer bazı proteinler ise hücreden dışarıya salınır. Üretilen proteinlerin bir kısmı da lizozomlar ya da diğer vesiküllerin içerisinde bulunur. Bunların tümünde, stoplazmada sentezlenen proteinin bir membran bariyerden transportu söz konusudur.

En iyi tanımlanmış transport sistemi, hücre dışına salgılanan proteinlerin sitosolden plazma membranına taşınmasıdır. Ökaryotlarda salgılanacak proteinler öncelikle endoplazmik retikulum membranından, endoplazmik retikulum lümenine ve endoplazmik retikulumdan türeyen küçük vesiküller aracılığı ile de golgi kompleksine taşınırlar. Golgi kompleksi, golgi kesecikleri ya da sisterna olarak adlandırılan 3-8 adet sıvı dolu yassı kesecikten oluşmuştur. Değişik sisternalar farklı enzimler içerir. Golgi kompleksinin endoplazmik retikuluma yakın yüzeyi “cis” yüzü, plazma membranına yakın yüzeyi ise “trans” yüzüdür. Golgi kompleksinin “trans” yüzünden türeyen salgı vesikülleri, plazma membranına proteinleri taşırlar ve ekzositoz ile hücre dışına transfer gerçekleşir. Endoplazmik retikulumun lümeni, plazma membranı ile topolojik olarak aynı olduğu için, endoplazmik retikulum transportu ile hücre dışı transport aynı olaylardır.

Proteinlerin değişik organellere gönderilerek nihai işlenmeye tabi tutulması, polipeptit zincirinin ilk 20 amino asidi sentezlendiğinde başlamaktadır. Birçok membrana bağlı protein ya da salgı proteininde bu amino asitler yalnız öncü molekülde bulunur, olgun proteinde ise yer almaz. Söz konusu amino asitler “sinyal peptit” adını alır. Salgılanacak proteinde N-terminalde yer alan ve transportu gerçekleştiren sinyal peptitler, büyüklük ve kompozisyon bakımından farklılık gösterirler. Tipik olarak 16-30 amino asit içerirler ve yapılarında 4-12 arasında değişen hidrofobik amino asit bulunur. Sinyal peptidin hidrofobisitesi, proteinin transportunda önem taşımaktadır. Hidrofobik amino asitlerin baz kompozisyonu değişse de sinyal peptidin fonksiyonu etkilenmemektedir. Sinyal peptit sentezlendikten sonra “sinyal tanıma partikülü” olarak adlandırılan bir proteine bağlanır. Bu protein 300 nukleotid uzunluğunda bir RNA ve 4 protein içerir. Sinyal peptit tanıma partikülü, sinyal peptit sentezi yapılır yapılmaz ribozoma gelir ve sinyal peptide bağlanır. Bu bağlanma sağlandığında translasyon durur. Ribozom-sinyal tanıma partikülü kompleksi, endoplazmik retikulum membranına giderek sitosolik yüzeyine bağlanır. Ribozom, endoplazmik retikulum membranını “riboporin”ler olarak adlandırılan ribozom bağlanma proteinleri ile deler. Ribozom-sinyal tanıma partikülü endoplazmik retikulum mebranına bağlandığında, translasyon blokajı kaldırılır ve sinyal tanıma partikülü sentezlenen proteinin membrandan translokasyonuna yardımcı olur. Özetle, sinyal tanıma partikülü 3 aktiviteye sahiptir:

1. Sinyal peptidi tanır
2. Translasyonu bloke eder
3. Translokasyonu başlatır (Şekil 46 ve 47).

Sinyal peptit, endoplazmik retikulum membranından tamamen geçtikten sonra, bir sinyal peptidaz tarafından kesilerek polipeptit zincirinden ayrılır. Protein sentezi bu esnada devam etmektedir. Membrana bağlı proteinler için bu süreç biraz farklıdır. Protein sentezi sonlandığında; sentezlenen polipeptitin büyük bir kısmı endoplazmik retikulum membranı içinde iken, C terminal (uç) kısmında belirli bir bölge (seri) endoplazmik retikulumun sitosolik yüzeyinde, ancak ribozom ayrılmış durumda kalır. Bu proteinler, C terminal bölgesinin membrandan geçişini engelleyecek transfer durdurma sekansları içerirler. Birçok membrana bağlı protein bu mekanizmanın varyasyonu ile üretilmektedir.

Birçok integral membran proteini ve salgı proteini oligosakkarit zincirlerle kovalent bağ yapma özelliğindedir. Proteinlere oligosakkaritlerin ilavesi, protein glikosilasyonu olarak adlandırılır. Protein glikosilasyonu, endoplazmik retikulum lümenleri ve golgi kompleksinin ana metabolik aktivitesidir. Bu aşamanın genel bir proses olarak kullanıldığı proteinler glikoproteinler olarak adlandırılır. Bir glikoproteinde, protein oranının %1–85’i oranında karbonhidrat bulunabilmektedir. Granüllü endoplazmik retikulumdan golgi komplekslerine transport süresince, proteinlerin yapılarında disülfit bağlarının oluşumu ve proteolitik kesim gibi değişik kovalent modifikasyonlar meydana getirilir. Golgi kompleksi, proteinlerin ve oligosakkaritlerin modifikasyonlarının tamamlandığı yerdir. Golgi kompleksinden geçen tüm proteinler salgı proteinleri değildir. Bazıları buradan diğer hücresel organellere gider. Bazen glikoproteinler hücresel lokasyonlarına ulaştığında, oligosakkaritler modifiye edilir.