GEN İFADESİNİN REGÜLASYONU-I

Biyolojik bilgi akışı; enzimler, yapısal proteinler ve spesifik RNA moleküllerinin (tRNA, rRNA) sentezi ile sonuçlanmaktadır. Canlı organizma tüm gen ürünlerinin eş zamanlı bir şekilde ve aynı oranlarda üretimine gereksinim duymadığı için, enzimlerin ve diğer makromoleküllerin sentezini regüle eder (düzenler). Bu kontrol global olarak, gen ifadesinin regülasyonu adını almaktadır. Bir gen ürünün sentez oranı, biyolojik bilgi akışı aşamalarının herhangi birinde kontrol edilebilir. Örneğin; olgun RNA moleküllerinin üretim miktarı; transkripsiyonun başlama, uzama ve sonlanma etkinliği ile değişik RNA işleme süreçlerine bağlıdır. Hücrede üretilen aktif protein miktarı ise; olgun mRNA moleküllerinin stabilitesi, translasyonun başlama etkinliği, polipeptit zincir uzama oranı, translasyonun sonlanma etkinliği ve posttranslasyonel modifikasyonlara bağlıdır. Bu nedenle, önceki bölümlerde söz edildiği gibi, gen ifadesinin düzeyi ribozom bağlanma bölgeleri, promotor sekansları ve işleme sinyalleri gibi birçok eleman tarafından kontrol edilmektedir. Çoğu genin ifadesi, organizmanın metabolik ihtiyaçları doğrultusunda ve evrimsel sürecin milyar yıl ile ifade edilen seçimi sonucu optimize edilmiştir. Örneğin; yüksek miktarda üretilmesi zorunlu proteinlere ait genler etkin promotorlar içermektedir. Bu genler mRNA moleküllerine transkribe edildikten sonra, maksimuma yakın bir oranda ifade edilir (mRNA molekülleri yüksek translasyon oranı içerir). Bunun aksine hücrenin düşük oranda ihtiyaç duyduğu proteinler zayıf promotorlar içerirler. Bu genler, translasyon oranı düşük mRNA moleküllerine transkribe edilmektedir.

Organizmanın içerdiği birçok genin ifadesi, hücresel koşullara göre değişim gösterir. Bu genler regüle edilen genler adını alırlar ve çevresel faktörler (sıcaklık vb. gibi) ile metabolit konsantrasyondaki değişimlere karşı duyarlıdırlar. Regüle edilen genlerin bir alt sınıfı, “organizimanın gelişimine bağlı olarak regüle edilen genler” olarak adlandırılmaktadır. Bu genler, gen ifadesinin programlanmış süreci gereği, organizmanın yaşamı süresince yalnız belirli zamanlarda ifade edilir. Ökaryotların çok hücreliler grubunda bulunan ve embriyonik gelişim için zorunlu proteinleri kodlayan genler ile prokaryotlardaki bakteriyofaj enfeksiyonuna bağlı olarak ifade edilen genler, bu tür genlerdir.

Regüle edilen birçok gen transkripsiyonun başlama aşamasında kontrol edilmektedir. Eğer gen ifadesi bu aşamada düzenlenir ise, hücrenin kısıtlı kaynakları yalnız ihtiyaç olduğunda gen ürünlerinin oluşturulmasına olanak sağlar. Gen ifadesi ayrıca transkripsiyon sonlanması etkinliği kontrol edilerek de düzenlenebilmektedir. Bu bölümde, farklı organizmalarda yaygın olarak bulunan transkripsiyonel regülasyon mekanizmalarından söz edilecektir. Prokaryotlarda değişik promotorlar, RNA Polimeraz enziminin farklı σ alt üniteleri tarafından tanınırlar. Örneğin; *E. coli* RNA polimerazın σ70 alt ünitesi, makromoleküllerin intermediyer (ara) metabolizmasına dahil olan birçok genin (housekeeping genes) promotorunu tanır. σ32 ısı-şok ve σ60 ise azot metabolizmasını yöneten genlerin promotorlarını tanır ve bağlanma aktivitesi gösterir. Prokaryotik genlerin transkripsiyon oranı, hücrede σ alt ünitelerinin bağıl oranı ile kısmen ilişkilidir. Bu nedenle prokaryotik genlerin transkripsiyonu, değişik σ alt ünitelerinin sentezinin kontolü yolu ile regüle edilebilir. Bu regülasyon mekanizmasının bir örneği *Bacillus subtilis* bakteriyofajı SPO1 genlerinin, bu organizmadaki zamana bağlı ifadesidir. SPO1 genleri; erken, orta ve geç transkribe edilen genler olarak üç gruba ayrılmaktadır. Bu grup genlerin her birinin promotoru, farklı σ alt ünitesinin bağlanabileceği konsensüs serileri (sekans) içerir. Faj SPO1 erken genleri promotorunu *B. subtilis*’in ana σ alt ünitesi olan σA tanımaktadır. Faj enfeksiyonunu yönlendirecek genler yanında, transkribe edilen bir erken gen de, 28 genidir. Söz konusu gen faj spesifik σ alt ünitesi olan σgp28’i kodlamaktadır. σgp28 sentezlenir sentezlenmez, bir bakteriyel RNA polimeraz çekirdeğine bağlanarak haloenzimin faj orta aşama genlerinin promotorunu tanımasına ve bunlardan transkripsiyonun başlamasına yol açar. Faj orta aşama genlerin ikisi (33 ve 34) bir diğer faj-spesifik σ alt ünitesini kodlamaktadır (σgp33/34). σgp33/34 bakteriyel RNA polimerazla birleştiğinde, haloenzim geç transkribe edilen genlerin promotoruna bağlanmakta ve transkripsiyon başlatılmaktadır. Bu mekanizmadan anlaşılacağı üzere; SPO1 fajı gen ifadesinin belirli bir sırayla meydana gelmesi, faj genomu tarafından kodlanan σ faktörlerinin sıralı sentezi sonucu gerçekleşmektedir. Gelişime bağlı bu regülasyon mekanizması “σ çağlayanı” adını alır (Şekil 48).

*B. subtilis*’te sporulasyon için zorunlu genlerin dizisel (belirli bir sıraya bağlı olarak) ifadesi de bir σ çağlayanı yolu ile yapılmaktadır. *B. subtilis* hücreleri, azot ya da fosfor eksikliği gibi uygun olmayan gelişme koşullarına maruz bırakıldığında spor yapılarını oluşturmak üzere farklılaşmaya başlar. Bu farklılşamanın ana aşamaları, sırasına göre; asimetrik septa oluşumu ve stoplazmanın ayrılması, spor korteksi oluşumu, spor ceketi oluşumu ve endosporun salınımı şeklinde özetlenebilir (Şekil 49). *B. subtilis*’te vejetatif gelişme gösteren hücrelerde ifade edilmeyen sporulasyon spesifik (sporulasyonu yöneten) genler bulunmaktadır. Sporulasyon spesifik genlerin dizisel ifadesi, bu genlerin promotorlarına özgül σ faktörlerine bağlı olarak yürür (Çizelge 10). Vejetatif olarak

Çizelge 10. *B. subtilis*’te sporulasyon spesifik σ faktörleri

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Faktör | Moleküler Ağırlık | Hedef Genler | Konsensüs Serileri  -35 -10 | |  | |
| σA (σ55, σ43) | 43000 | Merkezi Metabolizma | TTGACA | TATAAT | |
| σB (σ37) | 30000 | Erken Sporulasyon | AGG-TT | GG-ATTG-T | |
| σC (σ32) | 32000 | Sporulasyon | AAATC | TA-TG-TT-TA | |
| σE (σ29) | 24000 | Orta Sporulasyon | TT-AAA | CCGATAT | |
| σF (σIIAC) | 29000 | Sporulasyon | Bilinmiyor | Bilinmiyor | |
| σG (σIIIG) | 17000 | Geç Sporulasyon | >> | >> | |
| σH (σ30) | 25000 | Sporulasyon | >> | >> | |
| σK (σIIIC) | 27000 | Geç Sporulasyon | >> | >> | |

gelişen hücrelerde σB ve σC sporulasyon spesifik faktörleri bulunur, ancak çekirdek RNA polimeraz ile birleşmezler. Sporulasyonun başlangıcında σB faktörü, hücredeki çekirdek RNA polimeraz enzimlerinin yaklaşık %10’undaki σA faktörünün yerini alır ve sporulasyon spesifik genlerin promotoruna bağlanarak transkripsiyonu başlatır. Aynı zamanda σC (hücrede daha az bulunan faktör) diğer bazı RNA polimeraz enzimlerindeki σA faktörünün yerini alır ve erken sporulasyon genlerinin değişik bir grubunun transkripsiyonu başlatılır. Besinsel koşulların kısıtlanması durumunda σB ve σC faktörlerinin aktivasyonu oldukça karmaşık bir süreçtir. σB faktörünün σA faktörü ile yer değiştirmesinde birçok protein rol oynar ve bu nedenle erken sporulasyon-spesifik genlerin transkripsiyonunun başlaması, en az 8 farklı gende oluşturulan mutasyonlarla durdurulabilir. Bu genlerin biri δ (delta) proteinini (MA=21000) kodlamaktadır. δ proteini *B. subtilis* transkripsiyon kompleksinin bir bileşenidir ve RNA polimerazın promotorlara bağlanma aktivitesi gösterebilmesi için zorunludur. Ancak δ proteininin haloenzime bağlanması, aynı zamanda çekirdek polimeraz ile σ alt ünitesinin interaksiyonunu (ilişkilenmesini) destabilize eder. Dolayısı ile δ proteini, σA faktörünün haloenzimden ayrılmasını sağlayarak σB ve σC bağlanmasını olanaklı hale getirebilmektedir.

Bazı sporulasyon spesifik genlerin ifadesi polar septumun oluşması ile mümkün olmaktadır. İki erken sporulasyon spesifik gen (*sig*E ve *spo*IIGA) çekirdek polimeraz+σB vasıtası ile transkribe edilir. *Sig*E gen ürünü, σE faktörünün inaktif öncüsü olan P31 proteinidir. σE aktif formu, *spo*IIGA proteinaz ve diğer üç proteinin, P31’in N-terminalindeki 29 amino asidi uzaklaştırması sonucu oluşturulur. Transkripsiyonel inaktif P31 protreininin proteinaz kesimi ve σE meydana gelmesi, sporulasyonun başlamasından yaklaşık 4 saat sonra, yani polar septum oluşumu ile eş zamanlıdır. σE faktörü septasyon (bölgesel farklılaşma) süreci sonuna dek aktivitesini korur. σE aktive olduğunda, çekirdek RNA polimeraz ile birleşerek, hem önspor ve hem de ana hücrede faj gelişimi için gerekli orta aşama genlerinin transkripsiyonunu yönlendirir. Geç genlerin transkripsiyonunun başlamasına değin, transkripsiyonel aktivitelerini sürdüren bu genlerin bazıları; protein ürünü önsporda işlev gören *spo*III*G* geni ve protein ürünleri ana hücrede işlev gören *spo*IIIC*/spo*IVCB genleridir. Söz konusu genler, hem önsporda ve hem de ana hücrede işlev görerek transkripsiyonel çağlayanın sürekliliğini sağlayan, geç genlere ait σ faktörlerini kodlamaktadır. Septum oluştuğunda, önspor ve ana hücre bir membran sistemi ile birbirinden ayrılır. Bazı geç sporulasyon spesifik genler bu iki bölgenin yalnız birinde ifade edilir. Örneğin; korteks proteinlerini kodlayan genler ön spor içinde, ceket proteinlerini kodlayan genler ana hücrede ifade edilir. Bu iki farklı sporulasyon spesifik genin transkripsiyonu, farklılaşan hücrenin yalnız bir bölgesinde yer alan değişik σ faktörleri tarafından sağlanır. σG (*spo*IIIG geni tarafından kodlanır) önsporda, σK ise (*spo*IVCB*/spo*IIIC geni tarafından kodlanır) ana hücre kısmında bulunmaktadır. σ çağlayanının polar septum oluşmasından sonra, mekanizmanın farklılaşma nedeni bilinmemektedir. Fakat bu farklılaşma, bölgesel ayrılma olan hücrede σE faktörünün aktivasyonu ile eş zamanlı olarak meydana gelmektedir (Şekil 50).

Bakterilerde yalnız az miktarda “gelişime bağlı regüle edilen gen”, σ çağlayanı yolu ile regüle edilir. Diğer bir çok gen, regülatör proteinler olarak adlandırılan özel proteinlerin etkisi sonucu ve transkripsiyonun başlama aşamasında kontrol edilmektedir. Bu proteinler, DNA’ya bağlanmak suretiyle gen ifadesini regüle ederler. DNA bağlanma bölgeleri genellikle promotor bölge yakınındadır. Söz konusu proteinlerin genleri, regüle ettikleri genlerin bulunduğu DNA molekülü üzerinde bulunmuyor ise “trans” etkili olarak tanımlanırlar. Buna karşın gen kodu, üretimini kontrol ettiği genle, aynı DNA molekülü üzerinde bulunan regülatör genler ve proteinler ise “cis” etkili seriler olarak adlandırılmaktadır.

Regülatör proteinler tarafından transkripsiyonun başlangıcı düzeyinde regüle edilen genler iki temel tiptedir:

1. Negatif regüle edilen genler
2. Pozitif regüle edilen genler

Negatif regüle edilen genlerde transkripsiyon, represör olarak adlandırılan düzenleyici protein tarafından engellenir. Regülasyonun bu mekanizması, represyon olarak adlandırılır. Negatif regüle edilen bir gen yalnız aktif represörün yokluğunda transkribe edilebilir. Pozitif regüle edilen genlerde ise, transkripsiyonun başlayabilmesi için RNA polimeraz enzimine ilave olarak, bir aktivatöre ihtiyaç vardır. Pozitif regüle edilen genler aktivatörün bulunmaması halinde çok düşük oranlarda transkribe edilirler. Represör ve aktivatörler, çoğunlukla, allosterik özellikte olan proteinlerdir. Yani aktiviteleri değişik ligantların (enzime bağlanma yeteneğindeki moleküllerin) bağlanması ile etkilenir. Bazı aktivatör proteinler, ligantların bağlanması sonucu aktif hale geçer. Bazı represörler ise, enzim sentezini katabolik yolda kontrol eder ve katabolik yolun ilk substratının bağlanması sonucu aktivasyonlarını kaybederler. Represörlere bağlanarak, onları inaktif hale getiren ligantlar indükleyici (teşvik edici) olarak adlandırılır. Çünkü represörler tarafından kontrol edilen genlerin transkripsiyonunu indüklerler (teşvik ederler). Diğer represörler, bir biyosentetik yolda enzimlerin sentezini kontrol ederler ve biyosentetik yolun son ürünün bağlanması ile aktive olurlar. Represörlere bağlanarak onları aktive eden ligantlara ”korepresör” ve bu regülasyon stratejisine de **korepresyon** adı verilmektedir (Şekil 51).

Regülatör sistemlerin diğer bazı tipleri de yukarıda tanımlanan sistemler kadar basittir. Örneğin; birçok genin transkripsiyonu, represyon ve aktivasyon sistemlerinin kombinasyonu ile regüle edilmektedir. Ayrıca diğer birçok gende transkripsiyonun regülasyonu birden fazla aktivatör tarafından da yapılabilmektedir. Daha ayrıntılı olan bu transkripsiyonel regülasyon mekanzimaları, değişik organizmalarda özel durumlar içerir. Belirli bir gende transkripsiyonun kontrolünün nasıl yapıldığını anlamak için, pozitif ve negatif regülasyon mekanizmalarının detayları ile başlamak en doğru yoldur. Bu şekilde pozitif ve negatif regülasyon mekanizmalarının beraber işlev gördüğü daha detaylı regülasyon sistemleri de anlaşılabilecektir.

**Laktoz Operonunun Negatif Regülasyonu**

Bakteriler gelişebilmeleri için karbon kaynağına ihtiyaç duyarlar. Bu organizmalar pentoz ya da heksozları glikolitik yolla katabolize etme yeteneğindedirler. *E. coli* karbon kaynağı olarak öncellikle glukozu tercih eder. Ancak, laktoz gibi β-galaktozitleri de katabolize edebilir. β-galaktozit alımı ve katabolize edilmesi için gerekli enzimler, ortamda substrat bulunmadıkça sentezlenmez. Ayrıca, β-galaktozitlerin varlığında da, eğer glukoz gibi öncelikli bir karbon kaynağı ortamda bulunuyor ise, bu enzimler sınırlı bir miktarda sentezlenir. Bu durumlarda, β-galaktozitlerin alımı ve katabolizmasında rol oynayan üç enzimin sentezi transkripsiyon aşamasında regüle edilir.

β-galaktozitlerin *E. coli’*de katabolize edilebilmesi için üç proteine (enzime) ihtiyaç duyulur. Bunlar; β-galaktozidaz, laktoz permeaz ve tiogalaktozit transasetilaz’dır. *E. coli’*de β-galaktozit transportu, bir proton gradienti ile birleşik süreçte meydana gelir. β-galaktozitlerin transportundan sorumlu protein laktoz permeazdır (β-galaktozit permeaz). Membrana bağlı protein olan laktoz permeazın moleküler ağırlığı 46504 Dalton’dur. Laktoz permeaz, *lac*Y geninin ürünüdür. Birçok β-galaktozit, *E. coli* hücresi içine alındıktan sonra; aynı alt ünitelerden oluşan ve büyük tetramerik bir enzim olan (MA=116353) β-galaktozidaz aktivitesi ile, metabolize edilebilen heksozlara parçalanır (hidrolize edilir). β-galaktozidaz, *lac*Z geni tarafından kodlanır. β-galaktozitler, tiogalaktozit transasetilaz aktivitesi ile asetillendiğinde, β-galaktozidaz tarafından hidrolize edilemezler. Asetillenmiş β-galaktozitler plazma membranından diffüze olabilirler ve bu yolla hücreden elimine edilebilirler. Böylece metabolize edilmeyen β-galaktozitler veya toksik yan ürünleri hücreden uzaklaştırılır. Bu enzim, benzer iki alt üniteden oluşur (MA=22671) ve *lac*A geni tarafından kodlanır. β-galaktozitlerin katabolizmasını yöneten bu 3 gen (*lac*A*, lac*Z, *lac*Y) tek bir polisitronik mRNA molekülüne transkribe edilir. Burada her bir proteini kodlayan DNA bölgesi, ayrı bir gen olarak kabul edilir. Bu şekilde, beraber transkribe edilen genler “operon” olarak adlandırılır. Operonlar, birbiri ile ilişkili fonksiyonlara sahip proteinleri kodlayan genleri içerirler ve bu genler tek bir promotora sahiptir. Bu nedenle transkripsiyonlarının kontrolü de tek bir promotorda gerçekleştirilir. Operonlar prokaryotlarda oldukça yaygın iken, ökaryotlarda bulunmaz.

*lac* operonunun üç geninin ifadesi, *lac* represörü olarak adlandırılan bir regülatör protein tarafından kontrol edilir. *lac* represörü, aynı alt ünitelerden oluşan bir tetramerdir (MA=38600). Bu protein dördüncü bir gen olan *lac*I tarafından kodlanır. *lac*I geni, *lac* operonunun hemen 5′ bölgesi ile ilişkilidir fakat bu operondan ayrı transkribe edilir. *lac* represörü trans etkili bir protein olduğu için, *lac*I geninin *lac* operonuna yakın olması zorunluluğu yoktur.

Represörlerin bağlandığı DNA serileri operatör adını alır. *lac* operonu, 01 ve 02 olarak tanımlanan 2 operatör içerir. 01, *lac* operonunun promotoru ile *lac*Zgeni başlangıç bölgesinde, 02 ise, *lac*Z geni kod bölgesinde lökalize olmuştur. *lac* represörünün bir tetrameri eş zamanlı olarak 01 ve 02’ ye bağlanır ve 401 baz çifti uzunluğunda bir halka meydana getirir. Bu olayın oluşumu in-vitro koşullarda da gerçekleştirilmiş ve halka oluşumu elektronmikroskopta’da gözlenmiştir. DNA’da süper dönüşler meydana geldiğinde, söz konusu halka daha stabil bir hal alır. Halka oluşumuna, diğer birçok multimerik (çok alt üniteden oluşan) represör de yol açabilmektedir (Şekil 52). *lac* represörü, ortamda laktoz yoksa 01 ve 02’ ye bağlanır ve *lac* operonunun ifadesini engeller (RNA polimeraz transkripsiyona başlayamaz). Eğer laktoz ortamda mevcut ise, az miktarda bir laktoz molekülü allolaktoza çevrilir. Bu reaksiyon, β-galaktozidaz tarafından katalize edilir. Allolaktoz *lac* operonunun indükleyici molekülüdür. *lac* represörüne sıkı bir şekilde bağlanarak represörün konformasyonel yapısını değiştirir ve operonlara bağlanma ilgisini düşürür. İndükleyici varlığında *lac* represörü operatörlerden ayrılır, böylece RNA polimerazın transkripsiyonu başlatması mümkün olur (Şekil 53). Bu nedenle laktoz kullanımı için zorunlu proteinlerin ifadesinde substratın ortamında bulunması zorunludur. Laktoz, *lac* operonunun doğrudan indükleyicisi değildir. Ancak, *E. coli’*de diğer β-galaktozitler doğrudan indükleyici olarak rol oynamaktadır. Dolayısı ile, bu β-galaktozitlerin *E. coli* için laktozdan daha önemli karbon kaynağı olduğu söylenebilir.

Önceleri *lac* represörünün, RNA polimerazın *lac* promotoruna bağlanmasını engelleyerek transkripsiyonun başlamasını durdurduğuna inanılmaktaydı. Ancak bugün *lac* represörünün operatörlere bağlandığı durumda, RNA polimeraz enziminin de *lac* promotoruna bağlandığı, fakat önündeki represör proteini nedeniyle transkripsiyon balonunu oluşturamadığı ve dolayısı ile transkripsiyonu başlatamadığı bilinmektedir. Represör protein operatörlere bağlı iken, önceki bilgilerin tam aksine, RNA polimerazın *lac* promotoruna bağlanma ilgisi 100 kat artmaktadır. RNA polimeraz, indüksiyonun meydana gelmesinden hemen sonra transkripsiyonu başlatır. RNA polimerazın zayıf *lac* promotoruna bağlanmasından sonra *lac* represörünün kendiliğinden çözülmesi (operatörlerden ayrılması) meydana gelir. Bu durumda, diğer bir represör operatörlere bağlanana dek, RNA polimeraz *lac* operonunun bir transkriptini oluşturur. Dolayısı ile *lac* operonu, çok düşük düzeyde de olsa, indüksiyon gerçekleşmeden ifade edilir. Baskılanmış (repsrese edilmiş) genlerin bu yolla transkripsiyonuna “kaçak sentez” adı verilir. Kaçak sentez sayesinde, laktozdan allolaktozu oluşturmak için laktoz permeaz ve β-galoktozidaz üretilir. İndükleyici yokluğunda gelişen bakteriyel hücreler, sitosolde 15 adet β-galaktozidaz ve membrana bağlı birkaç laktoz permeaz molekülü içerirler. İndükleyici varlığında bu sayı β-galaktozidaz için 15000’e ulaşır (1000 kez artar). Hücredeki *lac* represör sayısı ise yalnız 10’dur. Bir represör operatörden (O1) indüktör söz konusu olmaksızın kendiliğinden ayrıldığında, diğer represör 2,5 dk. içinde operatöre bağlanır. Bu dönüşüm süresinde de bir adetden fazla transkript yapmak mümkün olmaz. Represör, özel operatör bölgesini DNA ile üç boyutlu bağlanmalar gerçekleştirerek aramaz. Bunun yerine, DNA’ya spesifik olmayan bir biçimde ve tek boyutlu bağlanma gösterir. Represör, O1 operatöründe yer alan ve iki yönlü simetri içeren bölgelere temas ettiğinde ise, spesifik üç boyutlu bağlanma meydana gelir. O2 operatöründe daha düşük düzeyde iki yönlü simetri söz konusu olduğu için, represör bu operatöre daha düşük ilgi ile bağlanır. DNA’ya bağlanma represör proteininin N terminali (ucu) ile olur. C terminal bölge ise, protein alt ünitelerini birbirine ilişkilendirir. Tetramerin N terminal bölgeleri, her bir operatörle doğrudan temas eder. İki yönlü simetri gösteren serilere bağlanma spesifitesi, DNA’ya bağlanma özelliğindeki proteinlerin genel karakteristiğidir. Bir DNA molekülüne dimerin (iki monomerden oluşan protein) iki bölgeden bağlanmasının bağlanma sabiti, bu dimerin monomerlerinin bağlanma sabitinden daha yüksektir. Söz konusu olay “çelasyon” etkisi adını alır.

Laktoz Operonunun Pozitif Regülasyonu

*E. coli* *lac* operonunun transkripsiyonu, yalnız dış ortamda laktozun bulunmasına bağlı değil, glukozun konsantrasyonuna da bağlıdır. *lac* operonu, tek karbon kaynağının laktoz olması durumunda, maksimum oranda transkribe edilir. Ortamda glukozun da bulunması halinde bu oran 50 kez azalır. Bu regülasyon tipi katabolit represyonu olarak adlandırılmaktadır. Katabolit represyonu metabolik enzimleri kodlayan birçok operonun ortak davranışıdır. Bu operonlar, glukoz varlığında transkripsiyonun etkin bir şekilde başlamasını gerçekleştiremeyen zayıf promotorlar içerirler. Glukoz yokluğunda ise; transkripsiyon başlama oranı, zayıf promotoru güçlü bir promotora dönüştüren bir aktivatörün promotora yakın bir bölgeden bağlanması sonucu, büyük oranda artar. Bu nedenle katabolit represyonu terimine rağmen, söz konusu olay bir represyondan çok, bir aktivasyon mekanizması içermektedir.

Katabolit represyonu siklik adenozin monofosfata (cAMP) bağlanma yeteneğinde bir allosterik proteinin (cAMP reseptör proteini=CRP) varlığında meydana gelir. Glukoz varlığında gelişen *E. coli* hücrelerinde cAMP oranı düşüktür ve CRP inaktif konformasyondadır. Bu nedenle CRP DNA’ya bağlanamaz. Ancak, eğer ortamda glukoz yok ise cAMP konsantrasyonu artar ve CRP, cAMP’ye bağlanarak DNA’ya bağlanabilen CRP:cAMP kompleksini oluşturur.CRP:cAMP *lac* promotoru yakınında bulunan özel DNA serilerine bağlanır. Birçok metabolit operonunun analizi sonucu, CRP:cAMP bağlanma bölgesi için konsensüs serileri belirlenmiştir. *lac* operonunda, CRP:cAMP bağlanma bölgesi, *lac* promotorunun hemen 5′ bölgesindedir. CRP:cAMP bu bölgeye bağlandığında *lac* promotoruna RNA polimerazın bağlanma ilgisi artmakta ve bu yolla transkripsiyon oranı yükselmektedir (Şekil 54). CRP, birbirinin aynı iki alt üniteden oluşur (alt ünite MA=22500). Her bir alt ünite, bir C-terminal (uç) bölge içerir. C-terminal, içerdiği α-heliks kıvrımlı bölgelerden dolayı, DNA’ya spesifik (özgül) bağlanma yeteneğine sahiptir. N-terminal bölge ise, cAMP’ye bağlanmayı ve proteinin dimerizasyonunu sağlar. *E. coli* CRP proteininin cAMP bağlanma bölgelerindeki amino asit dizisi, memelilerin cAMP tarafından aktive edilen protein kinazlarında korunmuş durumdadır. Bu bulgu, memeli ve bakteri cAMP bağlanma bölgelerinin ortak atadan evrimleştiğine işaret etmektedir. CRP:cAMP ile RNA polimeraz haloenzim kompleksi bağlanma bölgelerinin birbirine yakınlığı; CRP:cAMP’nin, RNA polimeraz ile temas ederek transkripsiyon etkinliğini artırdığı yönündeki görüşleri güçlendirmektedir. Bu interaksiyon (etkileşim) in-vitro koşullarda (hücre dışı, deneysel) örneklenmiştir. CRP:cAMP ve RNA polimeraz interaksiyonunun, söz konusu kompleksin *lac* promotoruna bağlanma etkinliğini in-vitro koşullarda artırması, bu komplekslerin DNA’ya ayrı ayrı değil, birlikte bağlandıklarına işaret etmektedir. CRP:cAMP; farklı promotorlarda, farklı yollarla transkripsiyon başlama etkinliğini artırır. CRP:cAMP; bazı promotorlarda RNA polimerazın promotora bağlanma etkinliğini artırırken, bazı promotorlarda da abortif (kesilmiş) transkripsiyon başlamasının oranını düşürür. Bu yolla zayıf promotorlar, güçlü promotorlara dönüştürülür. Bazı promotorlarda ise, CRP:cAMP bağlanması transkripsiyonu baskılar. Örneğin; CRP:cAMP *crp* geni promotoruna (CRP proteinini kodlayan gen) bağlandığında (CRP:cAMP bağlanma bölgesi bu promotor bölgenin içinde yer alır), RNA polimerazın promotora bağlanmasını engelleyerek, *crp* geninin transkripsiyonunu durdurur. Hücre içinde CRP:cAMP konsantrasyonu yeterli düzeye ulaştığında, CRP:cAMP otoregülasyon mekanizması ile *crp* genine bağlanarak transkripsiyonu engeller. [[1]](#footnote-1).

**Bakteriyofaj λ Genlerinin Represörler Aracılığı İle Regülasyonu**

Bakteriler, çok sayıda bakteriyofaj tarafından enfekte edilmektedir. Bakteriyofajların bazısı lamda (λ) grubu üyesidir. *E. coli* λ fajı, bir baş (ya da viral genomu içeren kapsit) ve viral DNA’yı hücre içine enjekte etme yeteneğinde bir kuyruk içermektedir. λ fajı DNA’sı 48502 baz çifti uzunlukta çift zincir bir moleküldür. Kapsit içine paketlendiğinde DNA molekülü lineerdir (düzlemsel), ancak, *E. coli* hücresine girdiğinde çevrimsel duruma geçer. λ fajı *E.coli* hücresini enfekte ettiğinde iki yol izler. Birinci yolda, faj genleri hücrede transkribe edilerek faj proteinleri üretilir ve bu proteinler hücre içinde olgun fajları oluşturur. Sonuçta hücre lize edilerek, üretilen fajlar ortama salınır (litik yol). İkinci yolda ise; litik yolu yöneten genler baskılanır, bunun yerine faj DNA *E. coli* kromozomuna entegre olarak kromozomla birlikte replike olur (lizogenik yol). Belirli koşullarda lizogenik yol, litik yola dönüşür. Bu durumda entegre faj genomu kromozomal DNA’dan kesilerek ayrılır ve konakçı hücre replikasyon sistemi kullanılarak fajlar üretilir (kopya sayısına bağlı olarak, çoğu kez yüksek sayıda faj üretimi yapılır). λ fajının içerdiği 50 gen, 3 fonksiyonel gruba ayrılmıştır. Bunlar; çok erken, erken ve geç genlerdir. Çok erken genlerin kodladığı regülatör proteinler, erken genlerin ve erken genlerin kodladığı proteinler de geç genlerin transkripsiyonunu regüle eder. Geç genler, kapsit alt birimlerinin birleşmesi ve enfektif fajların oluşumu için gerekli proteinleri kodlar. λ fajı, *E. coli* hücrelerini enfekte ettiğinde, transkripsiyonu yapılan ilk faj genleri, çok erken genlerdir. Bu genler λ fajı genomunda kontrol bölgesi olarak adlandırılan küçük bir segmet (DNA parçası) içerisinde lökalize olmuştur. *c*I geni, λ represörü olarak adlandırılan ve lizogeninin devamını sağlayan bir represörü kodlamaktadır. Erken gen *c*I’ in transkripsiyonu iki promotordan biri tarafından yapılır. Bunlardan biri PRM promotoru (represör koruyucu promotor), diğeri ise PRE promotorudur (represör tesis eden promotor). Çok erken gen *N*’in transkripsiyonu PL promotorundan, bir başka çok erken gen olan *cro* geninin transkripsiyonu ise, PR promotorundan başlatılır. *N* ve *cro* gen ürünleri litik yolda işlev görür*. N* ve *cro*, “cI” proteini yokluğunda ifade edilir ve litik yol korunur. “cI” proteini varlığında ise *N* ve *cro* baskılanır ve lizogenik yol meydana gelir. “cI” proteini belirli bölgeleri ile PL ve PR promotorlarında bulunan OL ve OR operatörlerine bağlanarak, *N* ve *cro* genlerinin transkripsiyonunu baskılar. *c*I represörünün bu operatörlere bağlanması, RNA polimerazın PL ve PR promotorlarından transkripsiyonu başlatmasını engeller (Şekil 55). *lac* represörü ve CRP gibi, *c*I represörü de hem represör ve hem de aktivatör olarak işlev görür. Lizogenide *c*I geni transkripsiyonu PRM promotorundan yapılır. Bu promotor zayıf bir promotordur. Düşük konsantrasyonda iken, *c*I represörü OR operatörüne bağlanır ve PRM promotorunda transkripsiyon etkinliği 10 kez artırılır. Bundan dolayı *c*I otoregülasyon mekanizmasına sahiptir. Litik yolda *c*I geni transkripsiyonu PRE promotorundan başlatılır ve öncelikle *cro* geni ürünü oluşturulur. *cro* gen ürünü, “Cro” adını alan bir represördür (control of repressor and other things=cro=represörün ve diğer özelliklerin kontrolü). Düşük konsantrasyonda iken, Cro represörü OR operatörüne bağlanır ve *c*I geninin PRM promotorundan transkripsiyonunu engeller. cI üretimi engellendiğinden konakçı hücrede yalnız litik yol kullanılır. Yüksek konsantrasyonda iken ise, Cro represörü çok erken genler ve erken genlerin transkripsiyonunu baskılar ve bu yolla otoregüle olur (kendi regülasyonunu gerçeklestirir).

Prokaryotik regülatör proteinlerin çoğunluğu multimerik yapıdadır ve iki yönlü simetri gösteren operatörlere bağlanma yeteneğindedir. Bu düzenleyici proteinlerin her bir alt ünitesi iki farklı bölge içerir. Düzenleyici (regülatör) proteinler söz konusu bölgelerin biri ile DNA’ya bağlanırken, diğeri ile allosterik bağlanmalar ya da alt üniteler arası interaksiyonlar oluştururlar (Şekil 56). *c*I, *cro* ve CRP:cAMP’nin üç boyutlu yapılarının analizi sonucu, her üç proteinin de DNA bağlanma bölgelerinin ortak yapısal motif içerdiği saptanmıştır. Bu motifte her bir alt ünite, α-helis yapısı içeren amino asit zincirlerinden meydana gelmektedir. Helisler birbirine, protein yapısında bir dönüş meydana getiren 4 amino asit ile bağlanır. Bu nedenle söz konusu motife “helis-dönüş-helis” motifi adı verilmiştir. Regülatör proteinlerin helisleri, DNA’nın ardışık iki büyük yivinde bulunan ve iki yönlü simetri gösteren operatör serilere bağlanır. Bağlanma DNA molekülünün bir yüzünde meydana gelir. DNA bağlanma proteinlerinin amino asit dizi benzerliği, bu proteinlerin çoğunun “helis-dönüş-helis” motifi içerdiğine işaret etmektedir. Biyokimyasal analizler sonucu, farklı bağlanma proteinlerinin değişik sayıda helis (monomer) içerebileceğini gösterilmiştir. DNA bağlanma proteinleri ile DNA molekülleri arasındaki interaksiyonların doğası, bağlanma karakteristiğini belirler. DNA’nın negatif yüklü şeker fosfat iskeletinde gerçekleşen iyonik interaksiyonlar spesifik olmayan bağlanma için önem taşırken, van der Waals güçleri ve hidrojen bağı gibi diğer bağlar hedef DNA serisinin doğrudan bulunmasında, yani spesifik bağlanmada önem taşır. Ayrıca bu proteinler, dolaylı yoldan spesifik seri belirlemesi de yapabilirler. Bu durumda; DNA üzerindeki spesifik protein bağlanması, doğrudan spesifik serinin belirlenmesi yolu ile değil, söz konusu serinin DNA’ya bağlanan protein tarafından yapısal olarak tanınması (Örneğin; serinin iki yönlü simetri göstermesi bu yapısal tanımaya yardımcı olur) ile gerçekleştirilir.

***E. coli* Triptofan (*trp*) Operonunun Regülasyonu**

Şu ana kadar σ çağlayanı ve represyon-aktivasyon kombinasyonu ile transkripsiyonun başlamasının regülasyonu üzerinde duruldu. *E. coli* triptofan operonu, transkripsiyonun başlaması yanında, transkripsiyonun terminasyonu yoluyla da regüle edilmektedir. Bu mekanizmaya zayıflatma (attenuation) adı verilir. *trp* operonu, triptofan biyosentezi için zorunlu proteinleri kodlayan genleri içerir. Organizmalar yapılarında bulunan amino asitleri çoğunlukla sentezlemezler. Bunun yerine amino asitleri, besinsel olarak yapılarına aldıkları ekzogen proteinleri parçalayarak sağlarlar. Bu nedenle çoğu organizma; besinsel ortamda amino asitler bulunduğunda, amino asitlerin biyosentezi için gerekli enzimlerin sentezini baskılayan bir mekanizma içerir. Örneğin; triptofan kendi biyosentezi için negatif bir regülatördür. Ortamda triptofan varlığında *trp* operonunun ifade edilmesi, 4 benzer alt üniteden (alt ünite MA=12500) meydana gelen *trp* represörü tarafından engellenir. Triptofan represörünü kodlayan *trp*R geni, *E. coli* kromozomunun farklı bir bölgesinde lökalize olmuştur ve *trp* operonundan ayrı transkribe edilir. Ortamda triptofan bulunduğunda, *trp* represörü triptofana bağlanarak represör:triptofan kompleksini oluşturur. Bu kompleks de triptofan promotoru içinde yer alan operatöre bağlanmak suretiyle RNA polimeraz enziminin promotora bağlanmasını engeller. *lac* represörü ile *trp* represörünün ligantlarının etkisi, temel farklılıklar gösterir. Allolaktoz, katabolik substratın ortamda bulunması halinde oluşturulur ve *lac* operonunun bir indükleyicisi olarak görev görür. *lac* represörü allolaktoz ile birleştiğinde, represör “lac” operatölerinden ayrılır ve *lac* operonu transkribe edilir. Buna karşın triptofanın ortamda bulunması halinde, fazla triptofan molekülü (son ürün) *trp* operonunun bir korepresörü gibi davranır. *trp* represörü triptofana bağlandığında, represör DNA’ya spesifik bağlanma aktivitesi gösterir ve *trp* operonunun transkripsiyonu engellenir (Şekil 57).

*E. coli* *trp* operonunun regülasyonu; transkripsiyonun sonlandırılmasının, tamamlanmamış (premature) ya da tamamlanmış transkriptte olup olmayacağını belirleyen ikinci bir bağımsız mekanizma ile desteklenmekte ve detaylandırılmaktadır. RNA polimerazın promotordan *trp*E geni içine hareketi, promotor ile *trp*E geni arasında bulunan 162 nukleotit uzunluğunda bir seri (sekans) tarafından idare edilir. Bu seri, öncü bölge adını alır. Öncü bölgede bulunan 45 nukleotit uzunluğundaki bir bölge, 14 amino asit içeren öncü peptidi kodlamaktadır. Öncü bölgenin mRNA transkripti, birbirini takip eden ve triptofanı kodlayan iki kodon içerir. Kodonlar, öncü peptidin kodlu bölgesinin sonuna yakın bir bölgede yer alır. Ayrıca öncü bölgede, GC bakımından zengin dört seri bulunmaktadır. Triptofanı spesifiye eden kodonlar ve GC zengin bölgeler, zayıflatma (attenuation) adını alan bir mekanizma ile mRNA’nın sentezini regüle eder. mRNA transkribe edildiğinde, GC-zengin bölgelerde meydana gelen baz eşleşmeleri sonucu, alternatif iki adet sekonder (ikincil) yapıdan biri meydana gelir. Bu alternatif yapılar, farklı GC-zengin bölgelerin mRNA’da oluşturduğu saç tokası yapılardır. İlk ikincil yapı, 2 saç tokası içerir. Birinci saç tokası (transkripsiyon sırasına göre önceki bölge) tipik bir transkripsiyon duraksama bölgesidir. İkinci bölge ise, içerdiği Urasil uzamaları nedeni ile daha çok rho-bağımsız terminasyon sinyalinin özelliklerini içermektedir. Birinci saç tokası “1. ve 2.” seriler (sekans) arasında, ikinci saç tokası (terminasyon serisi) ise “3. ve 4.” seriler arasında meydana gelir ve triptofan operonunun ilk geninin arkasında yer alır. Operonun yapısal genlerinin gerisindeki terminatör seriler, genetik yapılarda nadir rastlanan bir durumdur. Diğer bir ikincil yapı ise, “2. ve 3.” seriler arasında meydana gelen saç tokası yapısıdır. Bu saç tokası yapısı, ancak birinci serinin ikinci seri ile saç tokası oluşturamadığı durumlarda meydana gelir. Birinci seri ile ikinci seri arasında 14 baz uzunluğunda bir eşleşme, 2. seri ile 3. seri arasında 13 baz uzunluğunda bir eşleşme ve 3. seri ile 4. seri arasında da 7 baz uzunluğunda bir bir eşleşme gerçekleşmektedir (Şekil 58).

Öncü bölgenin transkripsiyonu esnasında RNA polimeraz, mRNA’da 1. ve 2. serilerin arasında saç tokası yapısının oluşumu ile duraksar. RNA polimeraz duraksadığında, öncü peptidi kodlayan mRNA’nın translasyonu 5’ uçtan başlamış durumdadır. Translasyonu yapılan bu mRNA bölgesi 1. ve 2. seriler arasında meydana gelen mRNA saç tokası yapısının hemen arkasındaki bölgedir. Birinci seri, öncü peptidin C-terminal amino asitlerini ve ayrıca bir sonlandırma kodonunu kodlar. Ribozom, “1. ve 2.” Seri arasında oluşan saç tokasını bozarak, birinci serinin translasyonunu yaptığında, duraksayan RNA polimeraz serbest kalır ve 3. seri transkribe edilir. Triptofanil-tRNATrp varlığında ribozom ve RNA polimeraz aynı oranda çalışır. Ribozom, *trp* öncü mRNA’sının terminasyon kodonuna ulaştığında alt ünitelerine ayrılır ve “1. ve 2.” seriler arasındaki saç tokası yeniden oluşur. Ribozomun alt ünitelerinin ayrılmasından sonra, RNA polimeraz 4. seriyi transkribe eder ve böylece 3. seri ile 4. seri arasında bir sonlandırıcı saç tokası yapısı oluşur. Bu terminasyon sinyali, *trp* operonunun transkripsiyonu yapılmadan, transkripsiyon kompleksini DNA şablonundan ayırır. Triptofan ortamda azaldığında, ribozom ve RNA polimeraz eş zamanlı (senkronize) bir şekilde çalışamaz. Hücresel triptofan konsantrasyonu düşük ise, hücresel triptofanil-tRNATrp konsantrasyonunda da düşme meydana gelir. Bu koşullarda mRNA’nın birinci serisinde bulunan ve triptofanı spesifiye eden iki kodona ulaşıldığında, ribozom durur. Aynı anda RNA polimeraz “1. ve 2.” seriler arasında meydana gelen duraksama bölgesini geçmiş durumdadır. Dolayısı ile 3. ve 4. seriler transkribe edilir. Ribozom , birinci seride durduğu için, saç tokası yapısı 2. ve 3. seri arasında meydana gelir. “2. ve 3.” Seri arasında meydana gelen saç tokası, 3. ve 4. seri arasında meydana gelen saç tokasından daha stabil olduğu için, 3. seri ile 4. seri eşleşerek terminasyon saç tokasını oluşturamaz. Bu durumda RNA plimeraz, potansiyel transkripsiyon terminasyon bölgesini geçerek *trp* operonun transkripsiyonunu tamamlar.

Zayıflatma, yalnız *E. coli* gibi enterik bakterilerde rastlanan bir regülasyon mekanizmasıdır. Ökaryotlarda transkripsiyon ve translasyon ayrı bölgelerde oluştuğu için, bu mekanizma söz konusu değildir. *E. coli’*nin histidin, fenilalanin, treonin, losin ve izolosin operonlarında da bu regülasyon mekanizması saptanmıştır. Histidin operonunda yalnız zayıflatma mekanizması söz konusu iken, diğerlerinde represyon ile kombine olan bir zayıflatma söz konusudur.

**Maltoz Regülasyonu (iki aktivatör ile pozitif regülasyon)**

Metabolizmaya dahil olan tüm genler represyon yolu ile regüle edilmezler. Bakterilerde nişastanın metabolizması için gerekli genlerin ifadesi iki farklı aktivatör tarafından regüle edilir. Maltozun bakteriler tarafında kullanımı için gerekli genlerin organizasyonu Şekil 59(a ve b)’da şematize edilmiştir. Bu genler ve operonlar düzenleyici protein maIT ve CRP:cAMP tarafından regüle edilir. CRP:cAMP, doğrudan ya da dolaylı bir şekilde regülasyonda rol alır. Maltoz kullanımını yöneten bağımsız genler ve operonlarda olduğu gibi, farklı aktivatörler tarafından koordineli bir şekilde regüle edilen operonlara ya da ortak çalışan genlere “regülon” adı verilir. Regülatör protein malT, büyük bir monomerik proteindir (MA=102988) ve hücrede normalde düşük konsantrasyonda bulunur (hücre başına 20-40 molekül). Ortamda glukoz yok ise, hücre içinde maIT konsantrasyonu birkaç yüz moleküle ulaşıncaya değin, CRP:cAMP kompleksi *maI*T geninin transkripsiyonunu aktive eder. MaIT, maltoz regülonunun diğer genlerinin aktivatörü olduğu için, nişastayı glukoza çeviren enzimler yalnız glukozun yokluğunda üretilir. Bu mekanizma, CRP:cAMP’nin dolaylı aktivatör rolü üstlenmesi ile, *lac* operonunun regülasyonundan ayrılır. Maltoz genlerinin transkripsiyon oranı substratın varlığına bağlıdır. “maIT” proteininin maltoz genlerinin transkripsiyonunu aktive etme yeteneği, maltotriyoz (α-1→4 glukozidik bağlarla bağlı bir glukoz trimeri ) varlığında artırılır. Maltotriyoz, amilopektinin ve amilozun hücre dışında enzimatik parçalanması sonucu oluşturulur. Bakteri hücrelerinde İki maIT proteini formu eşit oranda oluşur. Aktif maITa , özel DNA sekanslarına bağlanarak transkripsiyonu aktive eder. İnaktif form olan maITi ise, aktivatör işlevi göremez. Maltotriyoz varlığında bu iki form arasındaki denge maITa lehine bozulur. MaITi’nin MalTa’ya dönüşüm mekanizması bilinmemektedir. Büyük bir olasılıkla maltotriyoz maITi’ ye bağlandığında protein yapısında konformasyonel değişim oluşmakta ve maITa meydana gelmektedir. maITi ATP bağlayan protein özeliğinde olduğu için, bu konformasyonel değişim ATP hidrolizi ile gerçekleşmektedir. Glukozun ortamda bulunması halinde, *maI*T’yi de içeren maltoz genleri çok düşük oranda transkribe edilir. Ancak ortamda glukoz yok ise, CRP:cAMP *maI*T geninin transkripsiyonunu stimüle eder ve maITi konsantrasyonu artırılır. maITi/maITa konsantrasyonu dengeye ulaşıncaya değin, maITi molekülleri maITa’ ya çevrilir. “maITi” ile denge durumundaki “maITa” proteini varlığında, tüm maltoz genleri düşük oranda transkribe edilir. Bu düşük düzeydeki maltoz genlerinin ifadesi hücrenin dış ortamdaki maltoz dekstrinleri alması ve kullanmasına olanak sağlar. Eğer dış ortamda maltotriyoz var ise hücre içine alınır ve sonuçta maITa oranında maITi’ ye göre artış meydana gelir ve maltoz genlerinin ifadesi 10-50 kez artar.

Tüm bakterilerde, maIT yokuluğunda maltoz regülonunun transkripsiyonu zayıftır. Bu nedenle maIT proteininin RNA polimerazla interaksiyon verdiği ve bu yolla transkripsiyonu aktive ettiği düşünülmektedir. MaITa kontrolündeki tüm promotorlar, -34 ya da -35 başlama pozisyonunda GGATGA ya da GGAGGA konsensüs serileri içermektedir. Bu konsensüs serileri ile maITa proteininin temas ettiği belirlenmiştir. -35 bölgesi, aynı zamanda, RNA polimerazın normal bağlanma bölgesi olduğu için, maITa’nın RNA polimeraz ile interaksiyon vermesi güçlü bir olasılıktır. maITa, diğer multimerik bağlanma proteinlerinin aksine, DNA üzerindeki asimetrik sekanslara bağlanır. maIT ve CRP:cAMP bağlanma bölgeleri, maltoz regülonundaki farklı promotorlarda farklı bölgelere yer almaktadır. *maI*K-*lam*B-*maI*M gibi bazı operonların promotor bölgeleri, farklı birkaç maIT ve CRP:cAMP bağlanma bölgeleri içerirken, *pul*A ve *mal*X genlerinde yalnız bir bağlanma bölgesi bulunmaktadır. Farklı yerlerdeki bağlanma bölgelerinin fonksiyonu bilinmemektedir. Örneğin; *mal*EFG ve *mal*K-*mal*M-*lam*B operonlarının transkripsiyonu, CRP:cAMP ve malT tarafından aktive edilir. Fakat, bu iki farklı operondaki promotorlara; 4 molekül CRP:cAMP ve 4 molekül malT’nin bağlanmasının, transkripsiyonu nasıl aktive ettiği henüz anlaşılamamıştır. Diğer yandan, *ma*lPQ promotoru, CRP:cAMP bağlanma bölgesi içermesine rağmen, CRP:cAMP’den etkilenmemektedir. Ayrıca transkripsiyonun maksimal aktivasyonu, *mal*PQ promotorundaki her üç bağlanma bölgesine de malT proteinin bağlanması sonucu oluşur. Bununla beraber, *pul*A ve *mal*X promotorlarındaki tek malT bağlanma bölgesi transkripsiyonun etkili aktivasyonu için yeterli olmaktadır.

Tüm bu gözlemler; bazı genlerin transkripsiyonel aktivasyonunun; belirli uzaklıkta fonksiyonel olan, farklı aktivatörlerin interaksiyonuna bağlı olduğuna işaret etmektedir. Bu dizisel interaksiyonlar muhtemelen DNA ilmekleri ve diğer yapılarda gerçekleşmektedir. Diğer yandan, maltoz genlerinin promotorlarının aktivitesinin DNA süper dönüşlerinin oluşum oranına bağlı olduğu da saptanmıştır. Buradan hareketle, maltoz kullanımı genlerinin transkripsiyonunun, aktivatörler ve DNA’nın kompleks üç boyutlu düzenlemelerinin oluşumu ile yürüdüğü söylenebilir.

**Ökaryotik Genlerde Transkripsiyonel Aktivasyon Yolu İle Regülasyon**

Maltoz regülonunun transkripsiyonel regülasyonu, ökaryotik genlerin transkripsiyonel regülasyonu için mükemmel bir örnektir. Zira, ökaryotik promotorlar, çoğunlukla farklı aktivatörler için birden fazla bağlanma bölgesi içerirler ve aktivasyonun sağlanabilmesi için, çoğu kez aktivatör bağlanma bölgelerinin transkripsiyon başlama bölgesinden belirli uzaklıkta olması gerekmektedir. Ökaryotlarda aktivasyon için gerekli bazı DNA sekansları asimetriktir ve her iki yönde de fonksiyoneldir. Birkaç ökaryotik gen represörlerle regüle edilirken, çoğu ökaryotik gende aktivatörlerin yokluğunda transkripsiyon meydana gelmez. Bu nedenle ökaryotlardaki transkripsiyonel aktivasyon, diğer bakteriyel operonlardan çok, maltoz regülonunun aktivasyonu ile büyük oranda benzerlik göstermektedir. Ancak ökaryotik transkripsiyonel aktivasyon üzerindeki bilgi, prokaryotlardan çok daha azdır. Prokaryotlarda hem regülatör proteinler ve hem de bunların bağlanma bölgeleri tanımlanmıştır. Ökaryotlarda ise, çoğu kez, yalnız regülatör DNA serileri saptanmıştır. Ancak birkaç örnekte transkripsiyonel regülasyon için ökaryotik regülatör proteinler ve bağlanma serileri belirlenmiştir. Bugüne kadar, aktivatörlerin bağlandığı iki temel tip ökaryotik DNA serisi tespit edilmiştir. Bunların 1. tipi; mayalar gibi tek hücreli ökaryotların metabolik enzimleri kodalyan çoğu geninde bulunan ve amino asit kodu içeren bölge arkasındaki (ard, upstream) aktivasyon serisidir. Aktivatörler bu serilere bağlanır ve bu yolla promotorlardan transkripsiyon başlama oranını artırılır. İkinci tip regülatör protein bağlanma serisi ise; çok hücreli ökaryotlarda bulunan güçlendiricilerdir (enhancer). Ard aktivasyon serilerinin aksine, güçlendiriciler genin hem 5′ ve hem de 3′ yönünde lökalize olmakta ve ayrıca transkripsiyon başlama bölgesi ile aralarındaki çok uzun mesafelere rağmen, transkripsiyon oranını etkileyebilmektedirler.

Ard aktivasyon serisi ve buna bağlanan aktivatörün regüle ettiği ökaryotik genler için tipik örnek *Saccharomyces cerevisiae’*da GAL4 proteininin kontrol ettiği gen setidir (Şekil 60). GAL4 proteini monomer yapıda olup (MA 99000), en az 5 genin transkripsiyonunun regülasyonunda rol oynamaktadır. Bunların bazısı galaktoz metabolizmasına dahil olan *GAL*1 ve *GAL*10 genleridir. *GAL*1 Galaktoz kinaz, *GAL*10 galaktoz epimeraz enzimlerini kodlamaktadır. Bu genler maya genomunda ardışık olarak yer alır, ancak farklı yönlerde transkribe edilir. Her iki geni birbirinden ayıran, promotorların da dahil olduğu, 680 baz çiftlik bir bölge mevcuttur. Bu bölgede *GAL*1 ve *GAL*10 promotorları arasında bir ard aktivasyon serisi bulunmaktadır. “GAL4” proteini bu ard aktivasyon serisine bağlandığında, hem *GAL*1 ve hem de *GAL*10 geninin transkripsiyon oranı 1000 kattan fazla artmaktadır. Galaktoz ard aktivasyon serisi, 4 adet GAL4 bağlanma bölgesi içermektedir (I, II, III, IV). Bu bağlanma bölgelerinin her biri; iki yönlü simetri gösteren ve birbirinin aynı olan, 17 baz çifti uzunluğunda birer seri içerir. GAL4’ ün her bir bağlanma bölgesine bağlanma ilgisi eşit değildir ve bağlanma en az iki bölgede (III, IV) gerçekleşir. Transkripsiyonun aktivasyonu için GAL4’ün tüm bu bölgelere bağlanması zorunlu değildir. Ancak *GAL*1 ve *GAL*10 genlerinin transkripsiyon oranının, GAL4 proteininin ard aktivasyon serisindeki bağlanma sayısı ile orantılı olduğu gösterilmiştir. Dolayısı ile, GAL4’ün bağlanma sayısının, transkripsiyon üzerinde artırıcı bir etki yaptığından söz etmek mümkündür. Her bir “GAL4” protein molekülü, birbirinden bağımsız bir şekilde transkripsiyon oranını teşvik eder.

GAL4 proteini iki aktif bölge içerir. Bir bölge ile DNA’ya bağlanırken, diğer bölge ile amino asit kodlu gen bölgesinin transkripsiyonunu teşvik eder. Metabolik enzimleri kodlayan prokaryotik operonlarda olduğu gibi, *GAL*1 ve *GAL*10 genleri de yalnız substrat varlığında (galaktoz) transkribe edilir. Ortamda galaktoz yok ise, “GAL4” proteini ard aktivasyon serisine bağlanır, ancak negatif stimülatör (inhibitör ya da negatif teşvik edici protein adlarını da almaktadır) bir proteinin bağlanması ile (GAL80, MA =48309) GAL4’ün transkripsiyonu teşvik eden bölgesi değiştirilir. Yani GAL80’in GAL4’e bağlanması sonucu, GAL4’ ün *GAL*1 ve *GAL*10’ un transkripsiyonunu aktive etmesi engellenir. Galaktoz varlığında galaktoz (ya da galaktozdan türeyen bir indükleyici) GAL80’ e bağlanır ve GAL4’ den ayrılması sağlanır. Böylece “GAL4” proteini yeniden *GAL*1 ve *GAL*10 genlerinin transkripsiyonunu aktive edecek hale gelir (Şekil 61).

Glukozun varlığında; negatif regülasyon söz konusu olduğu için, *GAL*1 ve *GAL*10 genlerinin regülasyonu bu anlatılanlardan daha karmaşıktır. Transkripsiyonun glukoz varlığındaki bu inhibisyonu prokaryotlardaki katabolit represyonunun benzeridir. Ortamda glukoz ve galaktozun her ikisi de bulunduğunda, *GAL*1 ve *GAL*10 minimum oranda transkribe edilir. Glukoz, GAL4 proteininin galaktoz ard aktivasyon serisine bağlanmasını engelleyerek, transkripsiyonu bloke eder. Bu süreçte GAL4 proteinine doğrudan glukozun mu, yoksa onun bir metabolitinin mi bağlandığı bilinmemektedir. Genelde GAL4 gibi ökaryotik proteinlerin aktivasyon bölgelerinin doğası üzerinde fazla bilgi yoktur. Ancak bu bölgeler esas alınarak aktivatör proteinler üç kategoriye ayrılmıştır;

1. Bazı aktivatör proteinlerin aktivasyon bölgeleri amfipatik (hem hidrofobik ve hem de hidrofilik bölgeler içeren molekül) α-helis yapısında, negatif yüklü amino asitlerden oluşan ilave bir bölge içerir. Bu tip proteinlerin karakteristik örneği GAL4’dür. GAL4 aktivasyon bölgesi transkripsiyonun aktivasyonu için gerekli ve yeterlidir.
2. Bazı aktivatör proteinlerin aktivasyon bölgeleri glutamince zengindir (Örneğin; insan transkripsiyon faktörü SP1 gibi). Glutamince zengin bölgelerin ikisi aktivatör proteinden (SP1) uzaklaştırılır ise, SP1’in aktivasyon yeteneği kaybolmaktadır.
3. Bazı aktivatör proteinlerin aktivasyon bölgeleri prolince zengindir (Örneğin; insan transkripsiyon faktörü CTF gibi).

Aktivasyon bölgelerinin transkripsiyonu nasıl teşvik ettiği henüz anlaşılamamıştır. Ancak RNA polimeraz II ile interaksiyonlarında, başka proteinlerin devreye girdiği bilinmektedir (Şekil 61).

**Güçlendiriciler** (enhancer), II. sınıf ökaryotik genlerin çoğunda saptanan ikinci tip aktivatör serileri teşkil etmektedir. Bu DNA serileri üç karakteristik özelliğe sahiptir;

1. Genellikle her iki yönde de (5′ ve 3′) etkilidirler.
2. Güçlendiriciler, transkripsiyon başlama bölgesinden binlerce baz çifti uzakta olsalar da transkripsiyon üzerinde etkili olabilirler. Bu DNA serileri, intron içinde ya da genin 3′ ucunda bulunabilirler.
3. Güçlendiriciler, etki alanında bulunan komşu genlerin tümünün transkripsiyonunu etkilerler.

Yalnız birkaç II. sınıf ökaryotik gende transkripsiyon detaylı bir şekilde analiz edilmiş olduğu için, ökaryotik genlerin hangi oranda güçlendiricilerin kontorlünde olduğu bilinmemektedir. Güçlendiricilerin birçok viral genin aktivasyonunu gerçekleştirdiği de saptanmıştır. Viral güçlendiriciler spesifik aktivatörlere ihtiyaç duyar. Bu durum, bir bakıma virüslerin konakçı özgüllüklerine de ışık tutmaktadır. Güçlendiricilerin 4 farklı yolla fonksiyonel olduğu düşünülmektedir:

1. Aktivatör güçlendiriciye bağlanır ve güçlendirici transkripsiyonu teşvik eder ya da RNA polimerazın promotora ilgisini artırır. Güçlendiriciler “hormon uyumlu elementler” oldukları için, hormonlar bu süreçte aktivatör görevi görür.

1. Güçlendirici varlığında, transkribe edilecek komşu genlerin DNA konformasyonunda değişiklik oluşturulur ve DNA, RNA polimerazın bağlanabilmesi için daha uygun hale gelir. Bu hipotez; birçok güçlendiricinin birbirini izleyen purin/primidin dizilerinin, in-vivo koşullarda, genelde rastlanmayan konformasyonlar oluşturduğunun belirlenmesi ile güçlenmiştir.
2. Güçlendiriciler, büyük olasılıkla, DNA’yı çekirdek matriksi ile ilişkilendirecek bölgeleridir. Bu sayede DNA’yı, RNA polimerazın etkili konsantrasyonunun bulunduğu bölgede tutabilirler.
3. Güçlendiriciler; RNA polimeraz ya da transkripsiyon için zorunlu diğer bazı proteinlerin bağlanabilmesi için, promotor bölgelerde büyük hedef seriler oluştururlar.

Bazı güçlendiriciler sadece doku ya da tür spesifiktir. Farelerde immünoglobulin genlerinin güçlendiricileri yalnız lenfoit hücrelerde etkilidir. Bu gözlem, söz konusu güçlendiricilerin yalnız beyaz kan hücrelerinde bulunan düzenleyici bir DNA bağlanma proteini tarafından tanındığına işaret etmektedir. Güçlendiriciler, I. sınıf genlerde promotorun yakınında bulunmaktadır. I. sınıf güçlendiriciler transkribe edilmeyen alanda, transkripsiyon başlama bölgesinin hemen arkasında yer almaktadır. Burada güçlendirici (RNA polimeraz I promotorunun 1000 baz çiftlik multimeri içinde) 2-6 kopya halinde bulunmaktadır. Tipik bir I. sınıf güçlendirici rRNA geni; rRNA promotorunun (-)120 - (-)70 bazları arasıdaki bölgesi ile %80 oranında homolog bir serinin 60 kopyasını ve rRNA promotorunun (–)150 - (+)10 bölgesi ile % 90 oranında homolog bir serisinin altı kopyasını içerir. Bu serinin fonksiyonu, RNA polimeraz I enzimini bağlamak olabilir. Böylece yoğun transkripsiyonel aktivitenin olduğu devrede, genin promotoru hızlı bir şekilde RNA polimeraz I ile doldurulur.

Çok hücreli organizmaların hücreleri birbiri ile haberleşir. İnsülin gibi peptit hormonlar, testesteron gibi steroit hormonlar ve tiroksin gibi tiroit hormonlar hücreler arası haberleşme ajanlarıdır. Böylece değişik hücrelerin etkilerini koordine ederler. Estrojenler, glukokartikoitler ve progesteron, kolestrol analogu (benzeri) hormonlardır. Hücreler hormonların sinyallerini almak için reseptörler içerirler. Reseptörler, dış membran da dahil hücrenin her yerinde bulunabilir. Hormonlar kana salındığında bütün vücutta dolaşırlar ve membran üzerindeki reseptörlere bağlanırlar. Bağlanma gerçekleştirildiğinde reseptörler ve yağda çözülen ligantları membrandan geçerek hücre çekirdeğine girer. Burada “hormon uyumlu elementler” olarak adlandırılan özel güçlendiricilere bağlanarak onları doğrudan etkiler ve belirli genlerin transkripsiyonunu teşvik ederler. Glukokortikoitlerin ve estrojenlerin reseptörleri; DNA’ya ve ligant’lara bağlanmada ve transkripsiyonel aktivasyonda rol oynayan değişik bölgeler içerirler. Reseptörler, hormonla ilişkilenmedikçe DNA’ya bağlanamaz ve transkripsiyonel aktivatör görevi göremezler.Tiroksin gibi tiroit hormonunun da kolestrol analogu hormonlarla aynı mekanizmayı içerdiğine inanılmaktadır. Tiroksin ve triiyodotironin birçok hücredeki reseptöre bağlanma yeteneği içerir ve bu yolla belirli genlerin transkripsiyonunu teşvik eder.

**GEN İFADESİNİN REGÜLASYONU-II**

Regülasyon süreçlerinin konu edildiği ilk bölümde; transkripsiyonun başlama ve terminasyon aşamalarının kontolü yolu ile sağlanan gen ifadesi regülasyonundan söz edildi. Gen ifadesinin kontrolünde transkripsiyonel regülasyon en yaygın kullanılan stratejidir. Ancak, biyolojik bilgi akışının diğer aşamalarında da gen ifadesinin regülasyonu (translasyonun regülasyonu, DNA uygunluğunun regülasyonu, mRNA stabilitesi ve protein stabilitesinin regülasyonu) söz konusudur. Ayrıca bakteriyofaj λ genlerinin gelişime bağlı regülasyonunda, birlikte etki eden çoklu sistemler de devreye girebilmektedir.

**DNA Uygunluğunun Regülasyonu**

Prokaryotlarda proteinleri kodlayan genler genellikle operonlar halinde organize olmuştur. Bu organizasyon söz konusu genlerin koordineli regülasyonuna olanak sağlar. Operonların transkripsiyonu, çoğu kez spesifik düzenleyici proteinler tarafından kontrol edilir. Bu proteinler DNA’ya, genellikle promotora yakın bir bölgeden bağlanır ve diğer komşu operonlar üzerinde etkisi olmaksızın spesifik bir operonunun transkripsiyonunu kontrol ederler. Ökaryotlarda ise, protein kodlayan genler operonlar halinde organize olmamıştır. Bu nedenle, ilk bakışta her bir gen için ayrı represör ve aktivatörün regülasyonda rol alması gerekliliği akla gelmektedir. Ancak ökaryotik genlerin çoğunluğu bu mekanizmanın yerine, hücresel transkripsiyona katılacak DNA’nın uygunluğunu düzenleyen bir regülasyon sistemi kullanır. DNA uygunluğu; hem transkribe edilecek DNA bölgesinin uygun hale getirilmesi ve hem de transkribe edilecek bir genin DNA üzerindeki kopyalarının artırılması mekanizmalarını içermektedir.

Ökaryotlarda DNA, kromatin içinde histonlarla paketlenmiş durumdadır. Kromatinin, belirli boyalarla boyanması halinde; ökromatin ve heterokromatin olmak üzere, iki farklı bant verdiği saptanmıştır. Ökromatin bölgeler, transkripsiyon için uygun durumdaki genom bölgeleridir ve boyalarla zayıf interaksiyon verirler (açık renktedirler). Buna karşın transkripsiyona uygun olmayan genom bölgeleri koyu boyanır ve heterokromatin adını alır. Heterokromatin de, fakültatif ve konstitüv olmak üzere iki alt sınıfa ayrılır. Fakültatif heterokromatin; bazı türlerin ya da bazı hücrelerin belirli bireylerinde heterokromatin yapıda iken, diğerlerinde ökromatin özelliği gösteren kromozomlar ya da kromozom kısımlarıdır. Konstitüv heterokromatin ise, bir türün bütün hücrelerinde heterokromatik yapı gösteren ve dolayısı ile asla transkribe edilmeyen kromozom ya da kromozom bölgeleridir. Konsititüv heterokromatin örnekleri, çok hücreli ökaryotların tümünde bulunabilir. Örneğin; mısır hücrelerinde B kromozomu olarak adlandırılan, küçük ve çok sayıda kopyası bulunan heterokromatik bir kromozom yer almaktadır. Yine *Drosophila*’da sentromerlere yakın ve bütün DNA’nın 1/3-1/4’ ünü oluşturan heterokromatik bölgeler tanımlamıştır. Heterokromatinin transkripsiyonunun yapılamamasından dolayı ökaryotlarda gen ifadesi, belirli ökromatin bölgelerin heterokromatin yapısına dönüştürülmesi ile baskılanabilmektedir. Ökromatin bölgeler, heterokromatinden daha az yoğun (kondense) paketlenmiş DNA bölgeleridir. Ancak, transkripsiyondan önce, daha ileri düzeyde dekondense (yoğunlaşma bölgelerinin çözülmesi) edilerek bir tele dizilmiş boncuk yapısını alırlar. Ökromatin dekondensasyonuna katılan faktörler henüz tanımlanamamıştır. Ancak bu faktörlerin spesifik DNA serilerini (dizi ya da sekans) tanıyan proteinler olduğu düşünülmektedir. DNA’ya bağlandıklarında ~10000 baz çiftinin dekondensasyonu için sinyali DNA’ya naklederler. Ökaryotlarda; aynı dokularda, aynı metabolik yollara ya da gelişimsel olarak aynı zamanda üretilen proteinlere ait genler, beraber gen grupları (gene clusters) halinde organize olmuştur. Bu nedenle, ökromatin bölgelerin kondensasyonu ya da dekondensasyonu gen gruplarının bereber regülasyonununa yol açar. Hemoglobin, eritrositlerde bulunan ve omurgalılarda kan dolşımı ile oksijen transportunu gerçekleştiren bir proteindir. Bu protein tetramerik bir yapıdır ve her biri alt ünite (2α ve 2β) bir hem (demir) prostetik grubunu içerir. α ve β alt üniteleri, omurgalılarda gelişimin değişik aşamalarında farklıdır. Her aşamada α ya da α benzeri, β ya da β benzeri alt üniteler tanımlanmıştır. Farklı alt üniteleri kodlayan her bir farklı gen, birbiri ile koordineli bir şekilde ifade edilir ve böylece alt ünitelerin gereğinden fazla üretilmesi engellenir. α ya da α benzeri hemoglobin genleri bir kromozom, β ya da β benzeri hemoglobin alt ünite genleri bir başka kromozom üzerinde grup genler olarak bulunur. Hemoglobin alt ünitelerinin bu grup gen organizasyonu; tavşanlar, kurbağalar, tavuklar ve insanlar gibi omurgalılarda ortaktır. Ancak türler arasında hemoglobin gen grupları, büyüklüklerine ve içerdikleri pseudogenlere (yalancı genler) göre farklılık gösterir.

DNaz I gibi nukleazlar, kromatinin konformasyonunu işaretlemek için kullanılmaktadır. DNaz I hem heterokromatin ve hem de ökromatin yapılarında düşük kesme aktivitesi gösterir. Ancak DNaz I’in, bir tele dizilmiş boncuk konformasyonundaki DNA yapısında -konsantrasyonu düşük olsa bile- güçlü bir kesim aktivitesi gösterdiği belirlenmiştir. Kromozomların hücrelerden izolasyonundan sonra DNaz I ile muamele edilmesi ve oluşan DNA fragmentlerinin jel elektroforezi yöntemi ile tanımlanması suretiyle transkripsiyonel olarak aktif ya da inaktif DNA bölgelerinin belirlenmesi olasıdır. Bu şekilde izole edilen genler (jel üzerinde belirlenen DNA parçaları); DNaz I tarafından sindirilemeyen, yoğun paketlenmiş (transkribe edilmeyen) ve bu nedenle transkripsiyonel açıdan inaktif olan kromatin bölgelerindeki genlerdir. Örneğin; embriyonik tavuk eritroit hücrelerinin çekirdeğinden izole edilen DNA materyalinin değişik bölgelerinin DNaz I duyarlılıklarının farklı olduğu belirlenmiştir. Bu hücrelerde hiç bir zaman ifade edilmeyen tavuk ovalbumin geni, 5 ve 14 günlük eritroit hücrelerin her ikisinde de yüksek konsantrasyondaki nükleaz I’e dirençli bulunmuştur. Yine β alt ünitesini kodlayan gen, 5 günlük hücrelerde DNaz I’e düşük bir duyarlılık gösterirken, 14 günlük hücrelerde bu duyarlılık maksimuma ulaşmıştır. Ancak β benzeri alt ünitenin embriyonik örnekleri, β alt ünitesinin tamamen zıddı sonuçlar vermiştir. Bu genler 5 günlük eritroit hücrelerinde nükleaz I’e karşı maksimum düzeyde duyarlı iken, 14 günlük hücrelerde duyarlılık minimuma inmiştir. DNaz I’e karşı bu duyarlılık farklılıkları hemoglobin alt ünite genlerinin dekondensasyon (tele dizilmiş boncuk formasyonunun oluşumu=transkripsiyonel aktif form) veya kondensasyonu (transkripsiyonel inaktif form) yolu ile gelişime bağlı bir regülasyona tabi tutulduğunu göstermektedir.

Ökromatin yapının heterokromatin halinde kondensasyonu (yoğunlaştırılması), ökaryotik gen ifadesinin represyonunun etkin bir mekanizmasıdır, Bu olay, memeli dişilerinde X kromozomunun inaktivasyonunda tipiktir. Memelilerde eşey, erkek spesifik Y kromozomunun yokluğu ya da varlığı ile belirlenir. İnsanda erkekler, normalde somatik hücrelerinde bir X ve bir Y kromozomu, dişiler ise iki X kromozomu içerirler. X kromozomu oldukça büyüktür ve yüksek oranda genetik bilgi içerir. Ergin bir birey gelişim için, her bir somatik hücresinde tamamen aktif olan yalnız bir X kromozomuna ihtiyaç duyar. Bu nedenle dişilerdeki iki X kromozomundan biri heterokromatin içinde yoğunlaştırılarak inaktivite edilir. X kromozomu inaktivasyonu, “dozaj düzenlenmesi” (dozaj compensation) adı verilen genetik fenomene bir örnektir. Dişi (insan) bireylerde X kromozomu inaktivasyonu, embriyonik gelişimin çok erken aşamalarında meydana gelmektedir (20 hücreli aşamada). X kromozomunun heterokromatin içinde kondensasyonu, tek bir noktadan başlamakta ve iki yönlü bir şekilde sürmektedir. Ana ya da babaya ait bir X kromozomu, 20 hücreli embriyonun her bir hücresinde birbirinden bağımsız bir şekilde inaktive edilir (bazılarında anaya, bazılarında ise babaya ait X kromozomu kondanse edilir). X kromozomu 20 hücreli embriyonun her bir hücresinde inaktivite edildiğinde, bu öncü hücreden türeyen tüm hücrelerde aynı X kromozomunun (anaya ya da babaya ait) inaktivasyonu yapılır. X kromozomu inaktivasyonu memeliler arasında değişiklik gösterir. Örneğin; keseli dişilerinde babaya ait X kromozomu inaktive edilir. Bu türlerde anaya ve babaya ait X kromozomları aynı değildir ve embriyo gelişimlerinde farklılaşırlar. Birçok memelide (insan da dahil) X kromozomu, aşağı yukarı, rastgele kondense edilir. Bunun sonucu olarak, olgun organizmanın bazı hücreleri anaya ait aktif X kromozomunu, bazısı ise babaya ait aktif X kromozomunu içerir. Böylece organizma, farklı genetik bilginin ifade edildiği hücrelerin mozayiği halini alır. Bazen hücrelerin içerdiği anaya ait aktif X kromozomları, babaya ait aktif X kromozomlarından fiziksel olarak farklılık gösterirler. Örneğin; kaplumbağa benzeri kedi kürkü, bu mozaiği yansıtmaktadır. Bu tip kürke sahip kediler dişidir ve kürklerindeki yamaların rengi, portakal ve siyah olur. Bu parçaların renkleri, dişi kedilerde X kromozomunun rastgele inaktivasyonundan (ana ve baba X kromozomlarında ayrı ayrı bulunan siyah ve portakal renk genlerinin hücrelerde farklı kondensasyonu-bazılarında ana bazılarında ise baba X kromozomu kondense olur-) ileri gelmektedir.

**Not**: İnsanlarda erkek eşey, embriyoda Testis-Determine Eden Faktörün (TDF) bulunmasına bağlıdır. TDF geni, Y kromozomu üzerinde bulunur. DNA dizi analizleri sonucu, söz konusu genden üretilen proteinin bir DNA bağlanma proteini olabileceği ileri sürülmüştür. Embriyoda bir Y kromozomu kopyası bulunması halinde TDF üretilmekte ve embriyo erkek olarak gelişme göstermektedir. TDF’nin embriyoda üretilmemesi halinde ise, embriyo dişi olarak gelişir. Tüm erkeklerde bir X ve bir Y kromozomu bulunmadığı gibi, tüm dişilerde de iki X kromozomunun bulunmadığı durumlar mevcuttur. Bu durumlar değişik nedenlerle meydana gelen hücre bölünmesi bozukluklarından kaynaklanmaktadır. Bunun sonucunda somatik kromozomlar yanında eşey kromozomu düzensizlikleri ve bunun neden olduğu karakteristik klinik sendromlar ortaya çıkmaktadır (Çizelge 11).

**Çizelge 11. İnsanda eşey kromozomu düzensizliklerinin yol açtığı klinik sendromlar**

|  |  |
| --- | --- |
| **Genotip** | **Fenotip** |
| X0  Y0  XXY  XYY  XXX, XXXX  XXXY, XXXXY, XXYY  XYYY  XXXXX | Turner Sendromu; gelişmemiş eşey organı, boyunda yelelenme ve kısa boya sahip dişi bireyler ile karakterize edilmektedir.  Embriyo gelişemez(fatal).  Klinefelter Sendromu; ince vucut yapılı, uzun bacaklı, küçük testisli ve kısmen gelişmiş göğüs içeren erkekler.  Normal erkekler (bazen çok uzun boy görülür).  Dişi; zihinsel gerilik ya da ikincil eşeysel karakterlerin normal olmayan gelişimi tipiktir.  Erkek; Knilefelter sendromunun değişik formları.  Erkek; genital anomali, değişik mental retardasyonlar (zihinsel gerilik).  Dişi; değişik mental retardasyonlar. |

**Gen Amplifikasyonu (Genlerin Kopya Sayısının Çoğaltılması)**

Gen ifadesinin regülasyonunda rol oynayan bir başka mekanizma, herhangi bir genin DNA üzerindeki kopya sayısının çoğaltılmasıdır. Bu mekanizma gen amplifikasyonu olarak adlandırılmaktadır. Gen amplifikasyonunda bir yöntem, spesifik DNA serilerinin birden fazla replikasyon çevrimi içerimesidir. Bu yöntem, özellikle amfibiler ve bazı böceklerin değişik gelişme evreleri için gerekli ürünleri kodlayan genlerde kullanılmaktadır. Bazı hücrelerde belirli genlerin amplifikasyonu, söz konusu gen ürününün yüksek oranda üretimini sağlar (Şekil 62). *Xenopus laevis’t*e ribozomal RNA genleri, gen amplifikasyonuna tipik bir örnek teşkil etmektedir. *Xenopus laevis’*te yumurta gelişim süresince; 5.8S, 18S ve 28 S rRNA kodlayan genlerin kopya sayısı birkaç bin kez artar (500 kopya 2 milyona ulaşır). rRNA genlerinin bu ilave kopyaları, çekirdekçikte kromozom dışı fragmentler halinde ortaya çıkarlar. Böylece, yumurta gelişimi sürecinde yapılan protein sentezinin gereksinimi olan yaklaşık 1012 ribozom için, yeterli miktarda rRNA molekülleri üretilebilir.

Gen amplifikasyonunun bir diğer örneği, *D. melanogester’*de saptanmıştır. *D. melanogaster’*in yumurtlama döneminde, çok sayıda yumurta üretimi için, yüksek miktarda yumurta kabuk proteinine (koryon proteini) ihtiyaç vardır. Koryon proteinleri, replikasyon orjininin çevresinde grup halinde bulunan, aynı familyaya ait genler tarafından kodlanmaktadır. Yumurta kabuğu oluşumu süresince, bu genler seçici DNA replikasyonu yolu ile amplifiye edilir. Söz konusu amplifikasyon, replikasyon orjininden başlar ve her iki yönde de 50000 baz çifti bir mesafeyi kapsayabilir. Replikasyon orjini ile ilişkili genin pozisyonu, amplifiye edilecek genin kopya sayısına etki eder. Her bir yeni replikasyon çatalı, sadece yeni bir koryon proteinini kodlayan genin oluşumunu değil, aynı zamanda yeni bir replikasyon orijininin oluşumunu da beraberinde getirir. Böylece koryon genlerinin kopyası katlanarak artar. Bu yolla 16-64 koryon gen kopyası yapılır.

**Posttranskripsiyonel Regülasyon**

RNA sentezinden sonraki herhangi bir aşamada gen ifadesinin regülasyonu, posttranskripsiyonel regülasyon olarak adlandırılır. mRNA’nın yarılanma ömrünün prokaryotlardan oldukça fazla olduğu ökaryotlarda, posttranskripsiyonel regülasyon daha da önemlidir. Genelde posttranskripsiyonel kontrol, moleküler düzeyde, transkripsiyonel regülasyondan daha az anlaşılmıştır. Posttranskripsiyonel regülasyonun bir tipi, mRNA stabilitesinin kontolüdür. Yarılanma ömrü yüksek mRNA molekülleri, çok kez translasyona uğratılabilir. Yarılanma ömrü düşük mRNA molekülleri ise, translasyonları bir kez yapıldıktan sonra parçalanır. Bu nedenle, mRNA transkriptlerinin parçalanma oranı, gen ifadesi ile doğrudan ilişkilidir. mRNA stabilitesinin düzenlenmesi sureti ile gen ifadesinin regülasyonuna tipik bir örnek, histonları kodlayan gen ailesinde belirlenmiştir. Histonlar DNA’ya spesifik olmayan şekilde bağlanan ve nukleozom yapısını oluşturarak, DNA’nın in-vivo paketlenmesinde rol oynayan proteinlerdir. Hücrelerin histonlara ihtiyacı, DNA replikasyonunda en yüksek düzeye ulaşır.

Memeli hücrelerinde histon mRNA miktarı, hücrenin yaşam devrindeki aşamalarına göre farklılık gösterir. Birçok fazda histon mRNA hücrede düşük miktarda bulunur. Bununla birlikte, DNA replikasyon fazının başlangıcında histon mRNA miktarı 20-40 kat artar. Replikasyon sonunda ya da replikasyonun inhibe edildiği (durdurulduğu) durumda, histon mRNA oranı diğer fazlardaki oranına düşer. Histon mRNA oranındaki bu değişikliklerin tümünün, histon mRNA’yı kodlayan 40 ya da daha fazla genin transkripsiyonel regülasyonu ile meydana getirildiğine inanılmaktaydı. Bu kısmen doğrudur. Ancak, histon mRNA miktarındaki artış, transkripsiyonel regülasyonun etkisinden daha fazladır. İlave artış, mRNA’nın yarılanma ömrünün 8 dk. dan yaklaşık 40 dk. ya çıkarılmasından ileri gelir. Histonların yarılanma ömrü, spesifik olarak histon mRNA’yı parçalayan enzimlerin aktivasyonundan dolayı, DNA replikasyonundan sonra değişir. Düşük replikasyon aktivitesi süresince histon mRNA’nın 3′→5′ yönündeki parçalanması, toplam histon sentez oranını düşürür. mRNA parçalanma oranı, 5 tip histonun (H1, H2A, H2B, H3 ve H4) tümünde aynıdır. Histon mRNA’nın parçalanma sisteminde en az 3 elemanın görev aldığı bilinmektedir. Bunlar;

1. DNA replikasyonunun sonlandığını belirten hücre içi sinyal
2. Histon mRNA’nın spesifik seleksiyonuna (özgül bir şekilde tanınması) olanak tanıyan bir determinant
3. Bir parçalanma sistemi,

Olarak tanımlanmaktadır. Bu elemanların içinde en iyi anlaşılmış olan, histon mRNA’nın spesifik seleksiyonuna olanak tanıyan determinanttır. Histon mRNA, 3′ uç bölgenin yapısal farklılığı esasına göre hücresel mRNA havuzundan seçilir (diğer bir çok mRNA molekülünün aksine, histon mRNA poliadenin kuyruğu içermez). Ayrıca memeli histon mRNA’nın translasyonu yapılmayan 3′ bölgesi kendine has 16 nukleotit uzunluğunda bir halka yapısı içerir. Bu iki özellik, parçalanmanın regülasyonu için zorunludur. mRNA’nın 3′ ucuna yapay olarak bir kuyruk ilave edilmesi ya da halka yapısının kaldırılması veya yeniden ilavesi halinde histon mRNA, DNA replikasyonu evresinde parçalanmaz. Hücrede parçalanmadan önce Histon mRNA’nın translasyonu yapılmalıdır. Histon mRNA’nın amino asit kodlu serileri arasına terminasyon kodonları sokulduğunda, mRNA’nın parçalanması engellenir. Bu olay için mRNA’nın, parçalayıcı sistem devreye girmeden, bir ribozoma bağlanması ve ribozomun bu serileri geçmesi zorunludur. Bu zorunluğunun nedeni bilinmemektedir. Ancak bu sayede, 3′ uçta bulunan ve translasyonu yapılmayan bölgedeki saç tokası yapısının oluşumunu engelleyen alternatif ikincil yapıların, ribozom tarafından (translasyonda) ortadan kaldırıldığına inanılmaktadır. Saç tokası bir kez oluştuğunda, bu yapı bir nukleaz tarafından tanınır (nukleaz, DNA replikasyonu kesildiğinde aktive olur). Söz konusu son aşamaya dahil olan nukleaz karakterize edilememiştir. Bu mekanizmanın diğer örnekleri; hormonlar ve doku spesifik mRNA moleküllerinin stabilitesinin düzenlenmesidir. Tavuklarda yumurta akı proteinleri ovalbuminin ve kanalbuminin mRNA stabilitesi, ösrtrojen hormonu varlığına bağlıdır. Yine memelilerdeki süt proteini kazeinin mRNA stabilitesi, prolaktin hormonunun sürekliliğini ile doğrudan ilgilidir. Bu örnekler dikkatli bir şekilde incelenmiş, ancak henüz kontrol mekanizmasının esası anlaşılamamıştır.

**Gen İfadesinin Translasyonel Regülasyonu**

Gen ifadesinin regülasyonu, mRNA’nın proteinlere translasyonu aşamasında da yapılmaktadır. Translasyonun başlamasının kontrolü, hem prokaryotlarda ve hem de ökaryotlarda bir çok proteinin regüle edilmesinde kullanılmaktadır. Ayrıca translasyonun terminasyonunun kontrolü yolu ile de, bir kaç prokaryotik ve viral genin regülasyonunun yapıldığı bilinmektedir. Genelde gen ifadesinin translasyonel kontrolü; canlılığın sürdürülebilmesi için sıkı bir şekilde kontrol edilmesi gereken çok alt üniteli komplekslerin ya da proteinlerin üretiminin düzenlenmesi şeklinde gerçekleşir.

Her bir *E. coli* ribozomu, 51 farklı proteinin birer molekülünü ve L7/L12 proteininin ise dört molekülünü içerir. Ribozomal proteinlerin genleri, *E. coli* kromozomu üzerinde dağılmış durumdadır. Söz konusu genler, 13 operon ve 7 bağımsız gen organizasyonunda tanımlanmıştır. Bazı ribozomal proteinleri kodlayan genlerin çok sayıda kopyası *E. coli* kromozomuna ilave edildiğinde, bu proteinlerin hücresel üretim oranı önemli düzeyde artmaktadır. Ancak ribozomal proteinlerin *E. coli’* deki net oranı çok az değişmektedir. Bunun dışında ribozomal proteinlerin bağıl oranı -mRNA molekülleri her bir ribozomal protein için farklı olsa da- değişmemektedir. Ribozomun alt ünitelerinin birleşmesi; proteinler uygun stokiyometride bulunmadıkça gerçekleşmediğinden, ribozomal proteinlerin sıkı bir şekilde regüle edilme zorunluluğu vardır. Ribozom sentezinin regülasyonu, bağımsız olarak çalışabilen transkripsiyon ve translasyon sistemleri ile in-vitro koşullarda örneklenmiştir. Sonuçta, her bir operonun içerdiği bir ribozomal proteinin, kendi mRNA’sının translasyonunu inhibe ettiği saptanmıştır. Bu ribozomal protein, operonun ilk genlerinden birine ait başlama kodonu yakınından mRNA’ya bağlanarak translasyonu inhibe eder (engeller)(Şekil 63). İnhibisyona yol açan proteinler ve bunların mRNA molekülleri arasındaki interaksiyonu, olgun ribozomları oluşturan protein-mRNA interaksiyonuna benzemektedir. İnhibisyona yol açan herhangi bir ribozomal protein kendi rRNA molekülüne, benzer bölgeye sahip olan kendi mRNA molekülünden daha sıkı bir şekilde bağlanır. Bu nedenle, yeni sentezlenen ribozomal proteinler ribozom yapısına katıldıkça, inhibisyona yol açan proteinlerin rRNA’ya sıkı bir şekilde bağlanması ribozomal proteinlerin transkripsiyonunun sürekliliğini garanti eder. Ancak, ribozom birleşmesinin durması ile paralel bir şekilde, serbest ribozomal proteinlerin hücredeki oranı artar. Sonuçta, inhibisyona yol açan ribozomal proteinler kendi mRNA moleküllerine bağlanarak ribozomal proteinlerin daha ileri seviyede sentezini sentezi engellerler. Bu yolla ribozomal proteinlerin sentezi, ribozomun alt ünitelerinin organizasyonu ile koordineli hale getirilir.

**Translasyonun Başlama Aşamasının Kontrolü**

Hemoglobin sentezi için, öncelikle hemoglobin alt üniteleri ve “hem” gruplarının uygun oranlarda bulunması gerekmektedir. Hemoglobinin sentezi ayrıca, translasyonun başlama aşamasında da kontrol edilmektedir. Kırmızı kan hücrelerindeki ana protein hemoglobindir. Bu protein ilk aşamada rubriblast olarak adlandırılan olgunlaşmamış eritrositlerde üretilir. Memeli rubriblastları olgunlaşmanın son aşamasında çekirdeklerini kaybederek eritrositlerin öncüleri olan retikülositlere dönüşür. Çekirdeklerini kaybeden bu hücrelerde (retikülositler) hemoglobin sentezi devam eder. Retikülositlerdeki hemoglobin sentez oranı, “hem” konsantrasyonu tarafından belirlenir. “Hem” konsantrasyonu düştüğünde, hemoglobin alt ünitesini kodlayan mRNA’nın translasyon oranı hızla azalır. “Hem”in hemoglobin alt ünite translasyonunu engellemesi, memeli hücrelerinde tanımlanan bir peotein kinaz olan “hem-kontrollü” inhibitörün aktivasyonu sayesinde meydana getirilir. “Hem” oranının düşmesi sonucu, “hem” tarafından kontrol edilemeyen ve aktive olan hem kontrollü inhibitör (HCI) ATP’den bir fosforil grubunun, translasyon başlama faktörünün (eIF-2) α alt ünitesine transferini sağlar. Fosforile eIF-2 translasyonunun başlama aşamasına katılamaz ve hücreler içindeki protein sentezi durdurulur. Retikülositlerde “hem” oranı yüksek ise, hemoglobin alt ünite sentezi, “hem” kontrollü inhibitörün “hem” tarafından inaktivasyonunun sağlanması sureti ile devam eder.

**Translasyonel Okuma Kalıbı Kayması**

Translasyonun başlama aşamasında; başlatıcı kodon (AUG) ile bir aminoasil-tRNA molekülü temas ederek, translasyon için doğru okuma kalıbı oluşturulur. Önceki bölümlerde de belirtildiği gibi; eğer aminoasil-tRNA yanlış kodona bağlanır ise, okuma kalıbı kayması meydana gelir ve kodlanan proteinin amino asit dizisi değişir. Okuma kalıbının bir nukleotit bakımından bile olsa kayması, söz konusu genden fonksiyonel protein sentezinin yapılamamasına yol açar. Ancak, protein sentezinin devamı için bazı durumlarda okuma kalıbı kaymasına ihtiyaç duyulduğu belirlenmiştir. Bu olaya “translasyonel okuma kalıbı kayması” adı verilmektedir.Translasyonel okuma kalıbı kayması, RF-2 (salınma faktörü) sentezini düzenler. RF-2’nin ribozoma akseptör bölgeden (A bölgesi) bağlanması, UGA ya da UAA sonlandırma kodon bölgelerinin “A” bölgesine ulaşması anında meydana gelir. RF-2, daha sonra, sentezlenen polipeptit zincirinin salınımına yardım eder. RF-2, 315 amino asit’den oluşur. Başlatıcı kodon AUG’den RF-2 mRNA’nın translasyonu yapıldığında, ilk 25 amino asit gelişen polipeptit zincirine katılır. Söz konusu mRNA’nın 26. amino asit kodonu, bir UGA sonlandırma kodonudur. Bu sonlandırma kodonunu, lösini spesifiye eden bir CUA kodonu takip eder. Ribozom, UGA terminasyon kodonuna ulaştığında durur. Eğer RF-2’nin hücresel konsantrasyonu yüksek ise, salınma faktörü “A” bölgesine girer ve peptidil-tRNA’nın ester bağlarının hidrolizini katalize ederek RF-2 mRNA’nın translasyonunun erken sonlanmasını sağlar. Hücresel RF-2 konsantrasyonunun düşük olması durumunda ise, ribozom bir nukleotit kayarak okuma kalıbını değiştirir ve terminasyon kodonunu atlar (by-pass eder). Böylece ribozom RF-2 mRNA’nın translasyonunu yeni bir okuma kalıbından gerçekleştirir. Özetle, RF-2 mRNA sentezi; RF-2 tarafından otoregüle ededilerek, translasyonun terminasyonu kontrol edilir.

**Proteinlerin Parçalanması İle Kontrol (Posttranslasyonel Regülasyon)**

Hücre içinde bulunan proteinler; yarılanma ömürleri bakımından, birkaç dakikadan birkaç haftaya kadar farklılık gösterir. Örneğin; ribozomal proteinler ve histonlar görece uzun ömürlüdür. Ancak bozulmuş proteinler (mutasyona uğramış genlerin ürünleri) ve birçok düzenleyici protein çok kısa ömürlüdür. Bazı proteinler parçalanma için spesifik hedefler olduklarından, oldukça kısa yarılanma ömrüne sahiptir. Ökaryotlardaki parçalanma için hedef proteinler, önce ubiquitin proteinine kovalent bir şekilde bağlanır ve ardından hidrolize edilir.

Olgun bir proteinin yarılanma ömrünü belirleyen en önemli kriter, proteinin N-terminal (uç) amino asididir. Bu “N-uç” kuralı olarak adlandırılır. Örneğin; N- termial amino asitleri metionin, serin, alanin, treonin, valin, glisin ya da sistein olan olgun proteinlerin yarılanma ömrü 20 saatten fazla iken, N-teminal amino asitleri lösin, aspartat, lisin, asparagin, triptofan ya da arginin olanların ise ancak 2-3 dakikadır. Ubiquitin, E1, E2 ve E3 olarak tanımlanan üç enzimin katalize ettiği bir süreçte hedef proteinlere bağlanır. E3, hedef protein moleküllerinin N-uç bölgelerinin, içerdikleri amino asitler esas alınarak, ayırılmasında rol oynamaktadır. Son aşamada proteinlerin parçalanması, bir araya gelen çok sayıdaki ubiquitin moleküllerinin etkisi ile olmaktadır. Proteinlerin yarılanma ömürleri; N-terminal amino asitlerinin karakteristikleri (pozitif, negatif ya da nötr yüklü) nedeni ile birbirinden oldukça farklıdır. Bu farklı N-terminal amino asitleri tanıyan enzim sistemleri henüz tam anlamı ile belirlenememiştir.

**Faj λ Gen İfadesi (Çoklu Regülatör Mekanizmalar)**

λ fajının gen ifadesi “gelişime bağlı regülasyon”a örnek teşkil etmektedir. Gelişime bağlı regülasyonda, belirli bir gelişimsel yolun seçimi için genetik şalterlerin kullanımı tipiktir. Bu sistem, ayrıca, gen ifadesinin geçici regülasyonunu da kapsar. Yani genlerin belirli sırayla sentezinin garanti altına alınması yanında, bazen de baskılanması söz konusu olur. λ fajı , *E. coli* hücresini enfekte ettikten sonra, litik ya da lizogenik yolu izler. λ fajı DNA’sı enfeksiyonun ilk aşamasında lineer (iki ucu açık düzlemsel) halden çevrimsel (iki ucu kapalı, sirküle) hale geçer. Sirkülarizasyonu takiben, faj çok erken genlerinin transkripsiyonu yapılır. Bunu erken genlerin transkripsiyonu izler. Erken genlerin ifadesi esnasında bir genetik şalter kapatılarak, enfeksiyondan sonra izlenecek litik ya da lizogenik yolun biri seçilmiş olur. Lizogenik yolda λ fajı genomu *E. coli* kromozomuna entegre olur (kromozom ile ilişkilenerek onun bir parçası gibi davranır). Entegrasyonu tamamlamış faj genomu, profaj adını alır. Profaj, *E. coli* kromozomu ile bereber eşlenir ve yavru hücrelere geçer. Fajın lizogenik durumdan litik duruma dönüşümü, belirli koşullar altında meydana gelir. Litik yolda faj, hücrenin sentez mekanizmasını kullanarak, gelişim için gerekli tüm proteinleri üretir. Litik yol, ya lizogeniden sonra, ya da doğrudan enfeksiyonla birlikte meydana getirilir. Bir litik enfeksiyonda faj DNA replikasyonunu yöneten enzimler yanında, kapsit ve kuyruğu oluşturan faj proteinleri de üretilir. Yeni sentezlenen faj DNA’ları, daha sonra boş faj başları içine paketlenir. Son aşamada kuyruk yapılarının montesi ile enfektif faj kuşağı oluşturulur. Bu fajlar hücreyi lize ederek yeni bir enfeksiyon için hazır duruma gelirler.

λ fajının *E. coli* hücrelerinde gelişimi için, gen ifadesinin sırası çok önemlidir. Örneğin; eğer lizogen yaşam döngüsünde faj DNA’sını kromozomal DNA’dan ayıran proteinler üretilir ise, faj DNA’sının kromozomal DNA’ya entegrasyonu engellenir. Aynı şekilde; litik yaşam döngüsünde hücreyi lize edecek proteinler, olgun faj partiküllerinin oluşumundan önce aktive olur ise, söz konusu enfeksiyon sonucu faj kuşağı üretilemez. Faj yaşam döngüsünde gen ifadesi dizisi, düzenleyici proteinleri kodlayan genlerin aşamalı ifadesi ile kontrol edilir. Çok ergen genler, erken genlerin ifadesini kontrol eden regülatör proteinleri üretir. Erken genler; DNA replikasyonu ve λ DNA’sının *E. coli* kromozomal DNA’sına entegrasyonu için gerekli proteinleri ve geç genlerin ifadesini kontrol eden regülatör proteinleri kodlar. Geç genler; kapsit ve kuyruk proteinleri yanında, faj DNA’nın baş yapısı içerisine paketlenmesini ve hücrenin lizisini (parçalanma) gerçekleştiren proteinleri de kodlamaktadır. Çok erken, erken ve geç genler, λ faj genomunda operonlar içinde, gruplar halinde bulunmaktadır. Litik ve lizogenik yollar tamamen bağımsızdır ve eş zamanlı oluşmaz. Lizogenik yol, yalnız faj λ enfeksiyonunun özel bir erken aşamasında meydana gelir. Bir faj litik enfeksiyona başladığında, bakteriyel hücre metabolizması kesintiye uğratılır ve ancak enfeksiyon kesintiye uğratılabilirse hücre yaşayabilir.

λ faj DNA’sı *E. coli* hücresine enjekte edildiğinde, bakteriyel RNA polimerazın bağlanması için uygundur. Bu aşamada, seçilecek yaşam döngüsüne (litik ya da lizogenik) bağlı olmaksızın, aynı faj erken genleri ifade edilir. Bakteriyel RNA polimeraz haloenzimi (σ70) başlangıçta PR , PR’ ve PL olmak üzere 3 promotoru tanır. PR’ güçlü bir promotordur ve bu promotordan yapılan transkripsiyon güçlü bir terminatör (tR’) tarafından sonlandırılır. Burada protein içermeyen 194 nukleotit uzunluğunda bir 6S RNA transkripti oluşturulur. PL de güçlü bir promotordur ve çok erken bir gen olan *N* geni buradan transkribe edilir. Bunların aksine, PR zayıf bir promotordur ve çok erken bir gen olan *cro* geni söz konusu promotordan tranbskribe edilir. PL, PR ’den daha güçlü bir promotor olduğu için; başlangıçta *N* geninin transkripsiyon oranı, *cro* geninin transkripsiyon oranından daha yüksektir. PL ve PR promotorlarından çok erken genlerin transkripsiyonu, transkripsiyon başlama bölgelerinden binlerce nukleotit uzaklıktaki terminatörlerde sonlandırılır. PL ’den yapılan transkripsiyon tL terminatöründe sonlandırılır (*N* geninin 3’ ucunun bitişiğinde yer alır). PR ‘den yapılan transkripsiyon ise, ya tR1 ya da tR2.tR1 (cro geninin 3’ ucunun bitişiğinde yer alan zayıf bir terminatör) terminatöründe sonlandırılır. PR transkriptlerinin %50’si tR1’i geçerek faj λ erken genleri olan *cII, O* ve *P’*nin transkripsiyonuna katılır. Güçlü bir terminatör olan tR2, P geni sonunda yer alır. Bu nedenle PL ve PR promotorlarından yapılan ilk aşama transkripsiyonda; esas olarak *N*, bir miktar *Cro* ve daha az bir oranda *c*II*, O* ve *P* tranbskribe edilir (Şekil 64).

“N” regülatör bir proteindir ve transkripsiyonun terminasyonunun tL, tR1 ve tR2 terminatör serilerinde gerçekleşmesini engeller. Bu nedenle, antiterminatör olarak adlandırılır. “N” varlığında antiterminasyon, PL veya PR promotorlarından başlayan transkripsiyonun faj erken genlerinde devam etmesini sağlar. N proteini, doğrudan terminatör seriler ile interaksiyon vermez. Bunu yerine trankripsiyon komplekslerine bağlanır ve bu komplekslerin terminatörleri tanıma yeteneklerini değiştirir. N, yalnız PL veya PR’den başlayan transkripsiyon kompeksleri ile bağlanır. Bu spesifite (özgül davranış) *nut* bölgeleri (N kullanımına atfen) olarak adlandırılan, spesifik DNA serilerinin varlığına bağlıdır. Faj λ genomunda iki *nut* bölgesi bulunmaktadır. Bunlardan nutR , *cro* yapısal geninin 3’ yönünde (PR promotorundan 250 nukleotit uzakta) ve *nutL* ise *N* yapısal geni içinde (PL promotorundan 50 nukleotit uzakta) yer alır. *nut* bölgeleri iki farklı seri içerirler. Bunlar; 17 baz çifti uzunluktaki kısmi palindrom bir seri ile, A kutusu olarak adlandırılan ve 8 baz çifti uzunlukta olan bir başka seridir. Her iki seri de N varlığında oluşturulan antiterminasyon için zorunludur. *nut* bölgelerinde oluşan transkripsiyon kompleksleri, terminatörlerden transkripsiyonu sağlarlar. Normalde *E. coli* transkripsiyon kompleksleri, RNA polimeraz ve nusA gibi yardımcı proteinler içerirler. Ancak transkripsiyon kompleksi *nut* bölgesine ulaştığında, ilave proteinler (N, nusG ve nusB) bağlanır. Bu proteinlerin tümü, transkripsiyon kompleksi için bir antiterminasyon yapısı oluşturulur. Söz konusu bağlanmanın, DNA üzerindeki *nut* bölgesinde değil, tranbskribe edilen RNA üzerindeki *nut* bölgesinde meydana geldiği düşünülmektedir (Şekil 64).

“N” ve “Cro” üretildiğinde, erken genlerin transkripsiyonu etkin bir şekilde başlatılır. Bu durumda faj λ gelişimi, iki yoldan biri ile olur. Lizogenik yol için *c*I represörünü kodlayan, erken gen *c*I’ e ihtiyaç vardır. *c*I çok erken ve erken genlerin transkripsiyonunu baskılayarak, geç genlerin ifadesini engeller. Litik yol ise, *c*I geninin represyonuna ve geç genlerin ifadesine ihtiyaç duyar. *c*I geninin transkripsiyonunun baskılanması (represyonu), “Cro” proteiniaracılığı ile olur. Geç genlerin ifadesi için, erken gen ürünü olan “Q” proteini ortamda bulunmalıdır. *c*I geni transkripsiyonu PR ya da PL promotorundan başlatılmaz. Bu nedenle, “cI” proteini enfeksiyondan hemen sonra üretilmez. Lizogeni meydana geldiğinde, *c*I kendi promotorundan (PRM) transkribe edilir. Ancak PRM promotorundan transkripsiyonun aktivasyonu için, “cI” proteininin ortamda bulunması ve OR2 operatörüne bağlanması gereklidir. Başlangıç aşamasında, lizogenik yol için zorunlu olan bu “cI” proteini, PRE promotorundan (represör oluşturan promotor) üretilir. PRE , *cro* geni içerisinde yer alır. PRE dizileri, RNA polimeraz σ70 alt ünitesi için konsensüs serisi içermez. Dolayısı ile, bu promotordan transkripsiyonun yapılabilmesi için *c*II aktivatörüne ihtiyaç duyulur. Erken bir faj geni olan *c*II’nin etkin ifadesi, “N” varlığındaki antiterminasyona bağlıdır (Şekil 64). ”cII” proteini, aynı alt ünitelerden (MA=11000) oluşan bir tetramerdir. Bu tetramer, λ faj genomunda 3 promotora bağlanır (PRE, PINT ve PAQ). Bu üç bağlanma bölgesinin konsensüs serisi, TTGCN6TTGC’dir. “cII” proteini, PRE promotoruna bağlandığında (diğer promotorlar ileride söz konusu edilecektir); hem RNA polimerazın bağlanma oranını ve hem de açık kompleks oluşumunu teşvik eder. Transkripsiyonu aktive edilen PRE promotoru da, “cI” proteininin sentezine olanak sağlayarak, lizogeni olasılığını güçlendirir. “cI” proteininin sentezi sağlandığında, PRE promotorundan yapılan transkripsiyon aynı zamanda “Cro” üretiminden de etkilenir. PRE promotorundan transkripsiyon başladığında, RNA polimeraz PR promotorunun aynı DNA bölgesinden, ancak ters istikamette geçer. Birbirine yaklaşan iki RNA polimerazın aynı DNA sekanslarını eş zamanlı olarak transkribe etmesi mümkün olmadığından; PRE transkripsiyonu, zayıf bir promotor olan PR ‘den yapılan transkripsiyonu engeller. Bu nedenle “cII”, eş zamanlı bir şekilde “cI” proteini üretimini başlatır ve “cro” proteini üretimini düşürür (sonuçta PR promotorundan üretilen tüm erken genlerin üretimi azaltılır).“cI” proteininin PRE promotorundan transkripsiyonu, lizogeni için zorunlu bir aşamadır. Eğer “cI” konsantrasyonu uygun düzeye ulaşır ise; “cI”, operatör seriler OR ve OL’ ye bağlanır ve PR ve PL promotorlarından yapılan transkripsiyonu engeller (Şekil 65 a ve b).

**λ Fajı İçin Litik ya da Lizogenik Yolun Seçimi**

λ fajının *E. coli’*yi enfeksiyonundan sonra, litik ya da lizogenik yolun seçimi birçok faktöre bağlıdır. Bunlardan biri enfeksiyonun çoğalması (MOI) ya da populasyonda konakçı hücre başına düşen ortalama enfektif faj sayısıdır. Eğer MOI düşük ise, populasyonda az sayıda bakteri fajlara enfekte olmuş demektir. Bu durumda enfekte olmamış bakteriler, enfekte bakterilerden üretilecek faj kuşağına potansiyel konak teşkil edeceği için, litik yolun devamı avantajlıdır. Tersine, MOI yüksek ise populasyondaki birçok bakteri birden fazla faj ile enfekte olmuş demektir. Bu durumda populasyondaki çok az miktarda bakteri enfeksiyondan kaçabilir. Böyle bir enfeksiyon sonucu bakterilerde (konakçı hücreler) ilk faj kuşağı oluşturuluduğunda, bu fajların enfekte edeceği bakteri ortamda kalmadığı için, lizogeni tercih edilir. Enfeksiyonda, hangi tip faj yaşam döngüsünün seçileceğini etkileyen bir başka faktör de, konak hücrenin metabolik durumudur. Eğer konakçı hücre hızlı gelişme gösteriyor ise, litik döngü; aksine konakçı hücre besinsel yetersizlik nedeniyle yavaş gelişme gösteriyor ise, lizogenik döngü tercih edilir. Hücrenin metabolik durumu kısmen “cII” proteini tarafından düzenlenir. “cII” stabil olmayan bir proteindir ve hücredeki oranı asla çok yüksek olmaz. “cII” proteininin, *E. coli* hücrelerindeki proteinazlara karşı yüksek oranda duyarlı olduğu saptanmıştır. Hızlı gelişen hücrelerdeki aktif proteinazlar “cII”yi hızlı bir şekilde parçalar. Ancak, uygun olmayan besinsel koşullardaki hücrelerin proteinazları çok aktif olmadığı için “cII” proteini daha stabil kalır. “cII” aktivitesi ayrıca, bir diğer faj gen ürünü olan “cIII” proteinine de bağlıdır. *c*III geni PL promotorundan transkribe edilir. “cIII” proteini, konakçı hücre proteinazlarının aktivitesini engelleyerek “cII” proteinini korur. Hızlı gelişen hücrelerde, aktif konakçı proteinazları yüksek orandadır ve “cII” yi parçalanmaktan koruyacak yeterli “cIII” proteini bulunmaz. Bakteri hücreleri çok yavaş üreme gösterdiklerinde ise, “cIII” konsantrasyonu bazı proteinaz moleküllerinin inhibisyonunu yapacak düzeye ulaşır ve “cII” parçalanmaktan korunur. Birkaç faj genomu aynı hücrede eş zamanlı olarak bulunuyor ise, tümü transkribe edilir. “cIII” ve “cII” proteinlerinin oranı, bu çoklu enfeksiyon sonucu artar ve hızlı gelişen hücrelerde de konak proteinazların aktivitesi baskılanır. Sonuç olarak yüksek MOI oranında lizogeni seçilir.

“cII” proteinini stabilize eden koşullar lizogeni için uygunken, “cII” proteinini destabilize eden koşullar da litik döngü için uygundur. Litik ve lizogenik döngü arasındaki seçim, “Cro” ve “cII” proteinlerinin bağıl konsantrasyonları ile ilgilidir. Eğer “cII” çok miktarda ise, “cI” proteini PRE promotorundan transkribe edilir. Yani lizogeni seçilir. Eğer “cI” proteini kritik konsantrasyona ulaşmadan, “cII” proteini parçalanır ise; Cro, OL ve OR operatörlerine bağlanır ve litik yol seçilir.

**λ Faj Genomunun *E. coli* Kromozomuna Entegrasyonu ve Litik Yolun Seçimi İle İlgili Diğer Mekanizmalar**

“cI” proteini vasıtasıyla transkripsiyonun PL ve PR promotorlarından baskılanması, lizogeni için zorunlu bir durumdur. Ancak bu represyon, tek başına lizogeni oluşumu için yeterli değildir. Lizogeni ayrıca, faj λ genomunun *E. coli* kromozomuna entegre olmasına ihtiyaç duyar. Bu entegrasyon ve PRE promotorundan “cI” proteininin sentezi, lizogeni için gerekli iki koşuldur. Faj λ genomunun bölge spesifik entegrasyonu için, faj *int* geninin ürünü olan entagraz enzimi gereklidir. Entegrasyon için ayrıca, ortamda en az iki *E. coli* proteini ve iki spesifik DNA serisi bulunmalıdır. Bu serilerden biri *att*P (faj bağlanma bölgesi=λ genomunda) diğeri ise *att*B (bakteri genomunda) bağlanma bölgeleridir (Şekil 66a). Entegraz enzimi, hem *att*B ve hem de *att*P bölgelerinde DNA zincirlerinin kırılmasını ve her iki bölgenin kesimi sonucunda kalan yarılarının yeniden birbirine bağlanmasını katalizler. Reaksiyonun ürünü; hem λ fajı genomu ve hem de *E. coli* kromozomunu içeren, kovalent olarak kapanmış bir sirküler DNA molekülüdür (cccDNA). Bakterilerdeki bu DNA düzenlenmesi, rekombinasyon olarak adlandırılan olayın tipik bir örneğidir. *int* geni, PL promotorundan transkribe edilen ve “N” proteini tarafından gerçekleştirilen antiterminasyona ihtiyaç duyan bir erken gendir. Faj lizogenik yola girdiğinde, faj erken genlerinin ifadesi baskılandığından, lizogeninin oluşabilmesi için *int* geninin transkripsiyonu bir başka promotordan (PINT) yapılır. PINT , *int* yapısal geni gerisinde ve *xis* yapısal geninin içerisinde yer alır (Şekil 65). *int* geninin PINT promotorundan transkripsiyonu, PRE promotorundan *c*I geninin transkripsiyonunda olduğu gibi, “cII” proteini vasıtası ile aktive edilir. Bu nedenle *int* geninin ifadesi, *c*I geninin ifadesi ile kontrol edilir. “cII” proteininin konsantrasyonu, PRE promotrundan aktif transkripsiyonun yapılabilmesi için uygun düzeye ulaştığında, PINT promotorundan yapılan transkripsiyonu da aktive eder. Böylece, PL ve PR promotorlarından yapılan transkripsiyonun baskılanması ve entegrasyon için gerekli enzim üretimi, eş zamanlı bir şekilde kontrol edilir.

“cI” proteini hücrede aktivite için yeterli konsantrasyonda bulundukça lizogeni sürer. Ancak, “cI” proteini vasıtası ile baskılanan litik genler DNA’da hasar oluşturma özelliğine sahip değişik ajanlar tarafından indüklenebilir (teşvik edilebilir). *lac* operonunun indüksiyonunun aksine, λ fajı indüksiyonu, bir indüktörün represöre bağlanması sonucu meydana gelmez. Bunun yerine; “cI” proteini proteolitik kesime uğratılır ve λ fajında litik yaşam döngüsünü yöneten genlerin indüksiyonu yapılır. Ortamda tek zincir DNA bulunduğunda, *E. Coli’*de endojen bir proteinaz olan “RecA” aktive olur ve “cI” proteinini, N ve C uç bölgeleri arasından keser. Bu durumda “cI” proteini dimerize olamaz ve DNA’ya bağlanamaz (Şekil 66b). Bu aşamada hücresel “cI” havuzu tüketildiği için, operatörlere bağlı “cI” molekülleri kendiliğinden ayrılır ve *N* ve *cro* genlerinin transkripsiyonu PL ve PR promotorlarından başlatılır. Lizogeni için, “cI” proteininin üretimi ve entegrasyonun koordinasyonu gereklidir. Lizogeni’den litik yaşam döngüsüne geçişte ise, indüksiyon ve faj genomunun kesimi başlıca aşamalardır. Faj genomunun kromozoma entegre olduğu bölgeden kesilerek çıkarılması (excision), entegrasyonun tam tersi bir reaksiyondur. DNA, iki hibrit bağlanma bölgesinden kesilir ve *att*B ve *att*P bölgeleri kendi üzerine kapanır. Bu reaksiyon entegraz tarafından katalize edilir. Ancak entegraz tek başına hibritin (faj+kromozomal DNA molekülü) bağlanma bölgelerini tanıyamaz. Bunun yerine entagraz, *xis* geni ürünü olan eksisionaz enzimi aracılığı ile görevini yapar. *xis* geni, *int* geninin hemen arkasında yer alır. Her iki gen de PL promotorundan, koordineli bir şekilde transkribe edilir. “cI” proteini, RecA vasıtası ile parçalandığında, çok erken genlerin transkripsiyonu PL ve PR promotorlarından yapılır. Entegraz ve eksisionaz üretimi, faj λ genomunun *E. coli* genomundan ayrılmasına olanak tanır. Son aşamada λ genomu sirküle (çevrimsel) hale dönüşür. Lizogenide, *xis* geninin transkripsiyonu, “cI” in PL promotorundan yapılan transkripsiyonu inhibe etmesi nedeniyle, söz konusu değildir. Bu süreçte “cII” proteini, *int* geninin PINT promotorundan transkripsiyonunu aktive eder. Eksisionazın PINT kökenli transkripti oluşturulamaz. Zira, PINT *xis* geninin kod bölgesinde yer alır. Böylece lizogeni süresince eksisionazın zararlı etkisi baskılanır.

Diğer yandan, entegraz enzimi de litik yaşam döngüsünü olumsuz yönde etkilemektedir. Zira bu aşamada ortamdaki entagraz, faj genomunun konakçı genomuna bağlanmasını (entegrasyonunu) indükleyecektir. Litik enfeksiyonda, “cII” proteini PINT promotorunu aktive edecek konsantrasyonda olmasa da, *int* geni halen PL promotorundan transkribe edilmektedir. Bu koşullarda entegraz sentezi, entegraz mRNA’nın spesifik bozulması ile bloke edilir. Bu durum “retroregülasyon” adını alır. Litik yaşam döngüsünde, faj λ genomu *E. coli* kromozomuna entegre olmaz. Dolayısı ile *att*P bölgesi bozulmamıştır. Bu nedenle *xis*, *int*, *att*P ve *sib* transkriptleri, PL promotorundan başlar. *sib* sekansı bir mRNA transkripti içinde bulunduğunda, saç tokası yapısı oluşturur. Bu saç tokası yapısı RNaz III tarafından tanınır ve kesilir. Bir sonraki aşamada, mRNA’nın RNaz III kesimi ile oluşan yeni 3′ ucu, endojen ekzonukleazlar tarafından sindirilir. Böylece entegraz mRNA, translasyonu yapılamayacak bir şekilde bozulur. Lizogeninin oluşturulması süresince retroregülasyon, entegraz sentezini inhibe etmez. Çünkü transkripsiyon kompleksleri PINT promotorundan başlatılır. PINT promotorunun terminatör serisi, *int* ve *sib* genleri arasında yer alır. Transkript *sib* bölgesinden önce sonlandığı için, *sib* saç tokası yapısı oluşmaz. *sib* bölgesinden önce, PINT terminatöründe oluşan saç tokası yapısı ise stabildir ve nukleaz parçalanmasına karşı dirençlidir. “N” proteini varlığında, transkripsiyon kompleksleri PL promotorundan başlatılır. Bu durumda transkripsiyon kompleksleri nutLbölgesinden geçerek “antiterminasyon transkripsiyon kompleksleri”ne dönüşürler ve tL terminatör bölgesinde transkripsiyon sonlanmaz. Dolayısı ile , *sib* yalnız antiterminatör protein “N” varlığında, PL promotorundan sentezlenen transkriptlerde bulunur (Şekil 67).

Lizogenik döngüden, litik döngüye geçişde retroregülasyon meydana gelmez, çünkü *att*P ve *att*B bölgeleri arasındaki rekombinasyon, *sib* bölgesini *int* geninden ayırır. Bu nedenle, PL promotorundan transkripsiyon başlatılıdığında (λ DNA halen kromozomal DNA’ya entegre durumda iken) *int* içeren mRNA’da *sib* bulunmaz ve dolayısı ile parçalanmaz*. sib*, faj DNA kromozomdan kesildiğinde; PL promotorundan transkribe edilen operona yeniden bağlanır ve yalnız faj λ genomu kovalent bir şekilde kapanmış sirküler halde iken (ccc, litik döngü için uygun form) retroregülasyon meydana gelir (Şekil 68). Litik döngü için zorunlu genler, bazı erken faj genleri ve tüm geç genleri kapsar. λ fajı orjin bölgesinden yapılan replikasyon için, iki erken gene ihtiyaç vardır. Bunlardan biri *“O*” genidir. “*O”* geni, *E. coli* proteini “dnaA”nın analogu bir orijin spesifik proteini kodlar. λ orijin bölgesine yerleşerek replizom elemanlarının buraya bağlanmasını sağlar. DNA replike edildikten sonra, faj erken genlerinin transkripsiyonundan, geç genlerin transkripsiyonuna geçilir. Bu geçiş, “Q”ve “Cro” proteinleri yardımı ile olur. “Q” proteini, geç genlerin transkripsiyonu için zorunlu bir antiterminatördür. “N” gibi, “Q” proteini de RNA polimeraz bağlanmasını ve transkripsiyon komplekslerinin terminatörleri tanıma yeteneklerini değiştirir. “Q” proteini etkisini gösterebilmek için “*qut*” olarak adlandırılan özel DNA serilerine ihtiyaç duyar. Bu serilerde “Q” proteini “antiterminasyon transkripsiyon kompleksleri” içindeki “nus” proteinlerinin birleşmesine katılır. Q proteini yokluğunda, PR’ promotorundan yapılan transkripsiyon, güçlü bir terminatör olan tR’ aracılığı ile durdurulur. tR’ terminatöründe genlerin transkripsiyonunun sonlandırılması, herhangi bir proteini kodlamayan 6S RNA’nın oluşmasına yol açar. “Q” proteini varlığında ise, transkripsiyon tR’ terminatörünü geçme yeteneği gösterir ve geç gen operonuna girerek 26000 baz çiftini transkribe eder. Bu operon, liziz proteinleri ve faj yapısal proteinlerini (kuyruk ve kapsit proteinleri) kodlayan genleri içerir. *Q* geni, λ fajı genomuda *cro* yapısal geni önünde yer alır. *Q* bir erken gendir ve yalnız “N” proteini varlığında PR promotorundan transkribe edilir. Lizogeninin oluşturulması aşamasında “Q” proteini üretimi “cII” proteini tarafından baskılanır. Ancak, litik döngüde “cII” proteini stabil değildir ve dolayısı ile “Q” miktarı artar. “Q” proteini; yalnız “N” antiterminatör proteini varlığında PR promotorundan sentezlendiği için, “Q” ve “N” faj λ genomunda bir antiterminasyon çağlayanı formu oluşturmaktadır. Bu çağlayan, faj gelişimi için gerekli genlerin doğru sıra ve zamanda ifadesini sağlar (SPO1 σ çağlayanı gibi).

Geç genlerin etkin transkripsiyonu, muhtemelen erken genlerin baskılanmasına ihtiyaç duyar. Erken gen ifadesinin azaltılması ise “Cro” proteini vasıtasıyla sağlanır. “Cro” proteini düşük konsantrasyonda iken, öncelikle OL3 ve OR3 operatörlerine bağlanır. “Cro” proteini OR3’e bağlandığında, *c*I geninin PRM promotorundan transkripsiyonunu engelleyerek, litik döngü oluşumunu zorlar. “Cro” proteini yüksek konsantrasyonda ise, OL ve OR için belirlenen her üç bölgeye de bağlanarak, çok erken ve erken genlerin transkripsiyonunu bloke eder. Bu durumda “Cro” proteini, hem *N* ve hem de *Q* genlerinin transkripsiyonunu engellese de, halihazırda geç genlerin PR promotorundan transkripsiyonunu sağlayacak kadar “Q” proteini sentezlenmiştir. Bu nedenle çok erken, erken ve geç genlerin transkripsiyonu *N*, *cro* ve *Q* gen ürünlerine bağlıdır. Bu proteinlerin hiç biri enfeksiyonun başlangıcında bulunmaz. PR ve PL promotorlarından yapılan transkripsiyon ile “Cro” ve “N” proteinleri sentezlenir. “N” proteini konsantrasyonu yeterli düzeye ulaştığında çok erken genlerin transkripsiyonundan erken genlerin transkripsiyonuna geçilir. Erken genlerin transkripsiyonu devam ederken, her üç proteinin de miktarı artar. “Q” ve “Cro” protein konsantrasyonu yeterli düzeye ulaştığında da erken genlerin transkripsiyonundan, geç genlerin transkripsiyonuna geçilir (Şekil 69).

1. **.Not**: cAMP adenilat siklaz enzimi katalizörlüğünde ATP’tan üretilir. Adenilat siklaz enzimi; glukoz fosfotransferaz enzim sisteminin bir elemanı olan Enzim IIIglc tarafından aktive edildiğinde ancak bu işlevi görür. Glukoz ortamda var ise, Enzim IIIglc hızlı bir şekilde defosforile edilir. Bu nedenle fosforil grubunu adenilat siklaza aktararak, adenilat siklazı aktive edemez ve sonuçta cAMP oluşturulamaz. Glukoz ortamda yok ise, Enzim IIIglc fosforil gurup transferi yaparak adenilat siklazı aktive eder ve cAMP oluşturulur. [↑](#footnote-ref-1)