GENETİK ŞİFRE

PROF. DR. SERKAN YILMAZ

Genetik Şifre (Kod)

Organizmalardaki proteinlerin birincil yapılarının (amino asit dizilerinin), DNA molekülündeki genlerin nükleotid dizisi tarafından tayin edilmesi ile ilgili şifre

= DNA'nın *nükleotid dizisi* ile proteinlerin *amino asit dizisi* arasındaki ilişki.

Genetik Şifrenin Özellikleri

DNA (ve mRNA) da ⇔ proteinlerde

4 çeşit nükleotid *20 çeşit amino asit*

bir nükleotid ⇒ bir amino asit ($4^1 = 4$) **XXX**

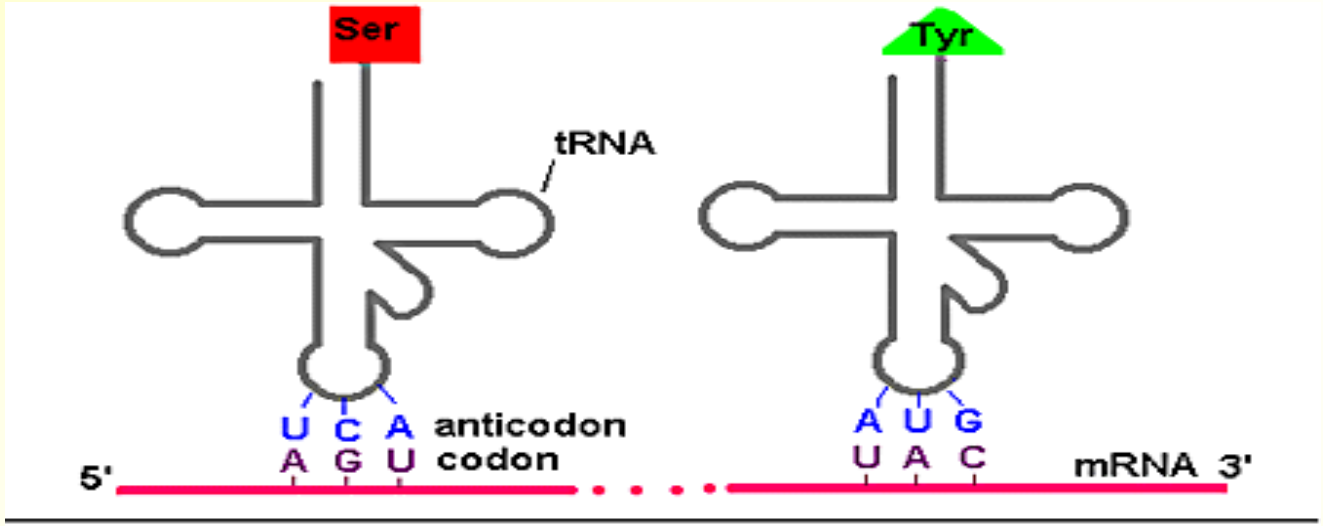
iki nükleotid ⇒ bir amino asit ($4^2 = 16$) **XXX**

üç nükleotid ⇒ bir amino asit ($4^3 = 64$) **!!!!!**

Bir amino asidi belirleyen

üç nükleotidlik (bazlık) dizi = ***kodon***

Genetik Şifre (kodonlar RNA üzerinde ve 5′→ 3′ yönünde yazılı. Buna göre DNA'daki tamamlayıcı kodonlar ters yönde (3′→5′), tRNA antikodonları da mRNA'dakinin tamamlayıcısı ve onunla ters yönde).



2nd base in codon

1st base in codon	U	C	A	G	3rd base in codon
U	Phe	Ser	Tyr	Cys	U
	Phe	Ser	Tyr	Cys	C
	Leu	Ser	STOP	STOP	A
	Leu	Ser	STOP	Trp	G
C	Leu	Pro	His	Arg	U
	Leu	Pro	His	Arg	C
	Leu	Pro	Gln	Arg	A
	Leu	Pro	Gln	Arg	G
A	Ile	Thr	Asn	Ser	U
	Ile	Thr	Asn	Ser	C
	Ile	Thr	Lys	Arg	A
	Met	Thr	Lys	Arg	G
G	Val	Ala	Asp	Gly	U
	Val	Ala	Asp	Gly	C
	Val	Ala	Glu	Gly	A
	Val	Ala	Glu	Gly	G

The Genetic Code

Genetik şifrenin yapısı ile ilgili önemli bir özellik: şifrenin okunma çerçevesinin her gende sabit bir başlangıç noktasından başlaması ve *kodonların dizilişinin üst üste çakışmamasıdır !!!!!*

Bu özellik tek çeşit ürünü şifreleyen genlerdeki kodonlar için geçerli;
birden fazla genin üst üste bulunduğu bölgelerde genlerin okuma çerçeveleri farklı olabilir
(ilk örnek, ϕX174 fajının genomundaki üst üste çakışan genler)

Kodonlar

61 kodon, amino asitleri şifreleyen kodonlar (***anlamlı kodon***)

3 kodon (UAA, UAG, UGA) bir amino asidi şifrelemeyen, protein sentezinde bitim (sonlandırıcı) işareti görevi yapan kodonlar [***anlamsız kodon (bitim kodonu)***].

Protein sentezini ***başlatıcı kodon*** genellikle *AUG* (metionini şifreleyen anlamlı kodon).

Genetik şifrenin özelliği: yapısal benzerlik gösteren amino asitlerin genellikle benzer kodonlar tarafından tayin edilmesi. Örneğin, *aromatik amino asit* olan fenilalanin (UUU, UUC), tirozin (UAU, UAC), triptofan (UGG) *kodonlarının urasil ile başlaması*

Genetik Şifrenin Evrenselliği

Tüm organizmalarda *genetik şifrenin genel biçimi* ve işlemesi *temelde aynıdır !!!*

Şifrenin evrenselliğine ters düşen bazı farklılıklar:

- Bakteriler ve ökaryotlarda *AUG* başlatma kodonunun anlamında küçük farklılık (bakterilerde formil metionin, ökaryotlarda metionin)
- Ökaryotlarda *UGA*'nın anlamsızlığı henüz gösterilmemiş
- *Mitokondrilerde* kullanılan şifrede temel genetik şifreye göre belirgin farklılıklar vardır !!! (memeli mitokondrilerinde *UGA triptofan* kodonu, *AGA ve AGG bitim* kodonları, *AUG ve AUA metionin* kodonları)

Table 14-4 Some Differences Between the "Universal" Code and Mitochondrial Genetic Codes*

Codon	"Universal" Code	Mitochondrial Codes			
		Mammals	*Drosophila*	Yeasts	Plants
UGA	STOP	*Trp*	*Trp*	*Trp*	STOP
AUA	Ile	*Met*	*Met*	*Met*	Ile
CUA	Leu	Leu	Leu	*Thr*	Leu
AGA, AGG	Arg	*STOP*	*Ser*	Arg	Arg

*Italics and color shading indicate that the code differs from the "universal" code.

TRANSLASYON

(PROTEİN SENTEZİ)

Translasyon (Çeviri)

mRNA halinde kopyası çıkarılmış olan genetik bilgiye göre *polipeptid* moleküllerinin sentez edilmesi
Polipeptidler proteinlerin primer yapısını oluşturur
⇒ ***protein sentezi***

Tüm organizmalarda *en fazla korunmuş* ve hücre için *enerji bakımından en pahalı* olan süreç.
Bakterilerde, hücredeki enerjinin ~ %80'i ve hücrenin kuru ağırlığının %50'si protein sentezine ait.
(tek bir proteinin sentezi 100'ün üstünde protein ve RNA'nın uyumlu iş birliği gerekli)

Zorlu bir süreç !!!
Bir polipeptiddeki amino asitlerin düzenli sıralanmasında mRNA kalıbı ile amino asitler arasındaki doğrudan etkileşim mümkün değil.

Translasyon 4 bazlı bir alfabeyle yazılmış bir şifrenin 20 amino asitlik dilde yazılmış bir şifreye çevrilmesi !!!

Translasyon aygıtının başlıca bileşenleri:

- ***mRNA*** translasyon aygıtı tarafından okunması gereken bilgiyi sağlayan kalıp.

- ***tRNA***'lar polipeptid zincirine girecek amino asitlerle mRNA'daki kodonlar arasındaki fiziksel ara yüz.

- ***Ribozom*** mRNA'nın doğru tRNA'lar tarafından tanınmasını düzenleyen ve uzamakta olan polipeptid zinciri ile tRNA'ya bağlı amino asit arasındaki peptid bağı oluşumunu katalizleyen yapı.

tRNA'ların Protein Sentezine Katılmaları

Translasyonda aracı moleküller = mRNA'daki *kodon*ların tamamlayıcısı olan *antikodon*a sahip *tRNA'lar*.

tRNA'ların taşıdığı amino asitlerin kodonlara uygun biçimde sıraya dizilip aralarında peptid bağı oluşması.
Çeşitli *tRNA'ların her biri*, mRNA'daki bir kodonu (ya da kodonları) tanıyan *özel bir amino asitle yüklenir* .

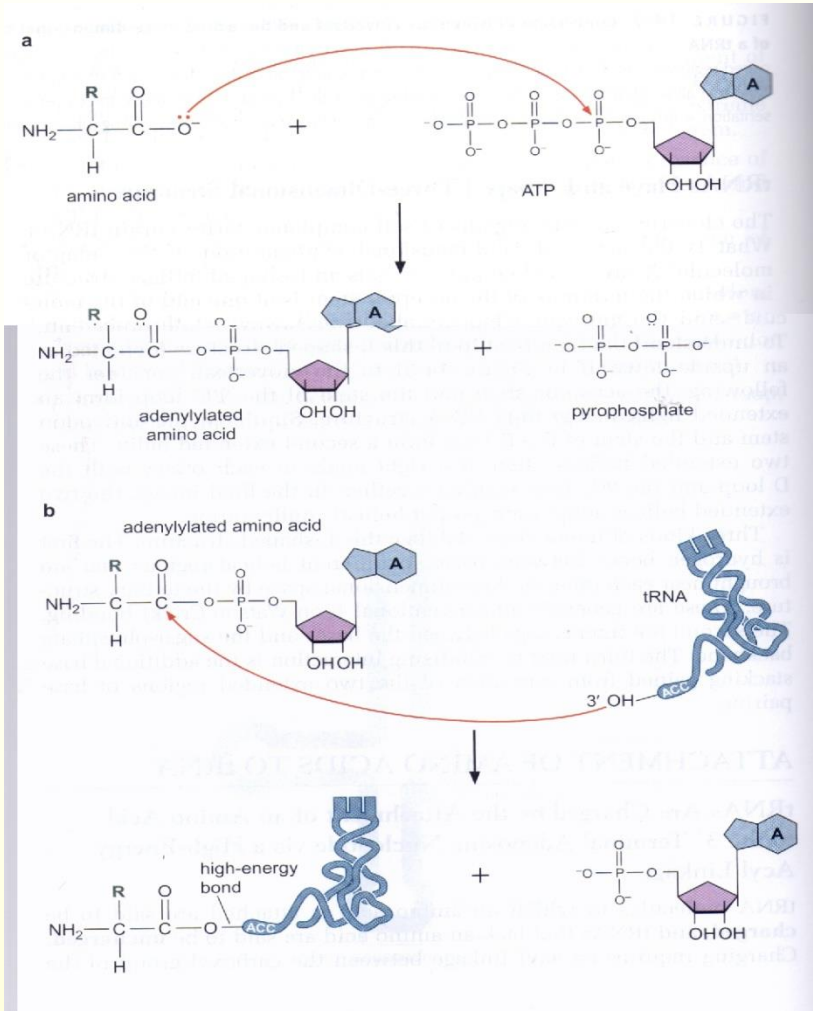
Protein sentezinin doğruluğu ⇐
(1) tRNA'ya özgül ve doğru amino asidin bağlanması
(2) ribozomlarda mRNA'daki bir kodona yanıt olarak *doğru antikodonu taşıyan tRNA'nın seçilmesi.*

tRNA'ların amino asitlerle yüklenmesi

Bir amino asidin tRNA'nın 3'-A nukleotidine yüksek enerjili *açil bağlantı*sıyla tutunması (açil bağlantısı amino asidin COOH grubu ile A nukleotidinin 2' veya 3'-OH grubu arasında). Yüklenmeyi katalizleyen enzim: *amino açil tRNA sentetaz.*

Adenililleme. Amino asidin ATP ile reaksiyona girmesi; amino asidin karbonil grubu ile AMP'nin fosforil grubu arasında yüksek enerjili bir ester bağı oluşumu.

tRNA'nın yüklenmesi. Adenililleme ve enzime bağlı durumdaki amino asidin tRNA'nın 3' ucundaki 2' veya 3'-OH'e bağlanması ve AMP'nin serbest kalması.



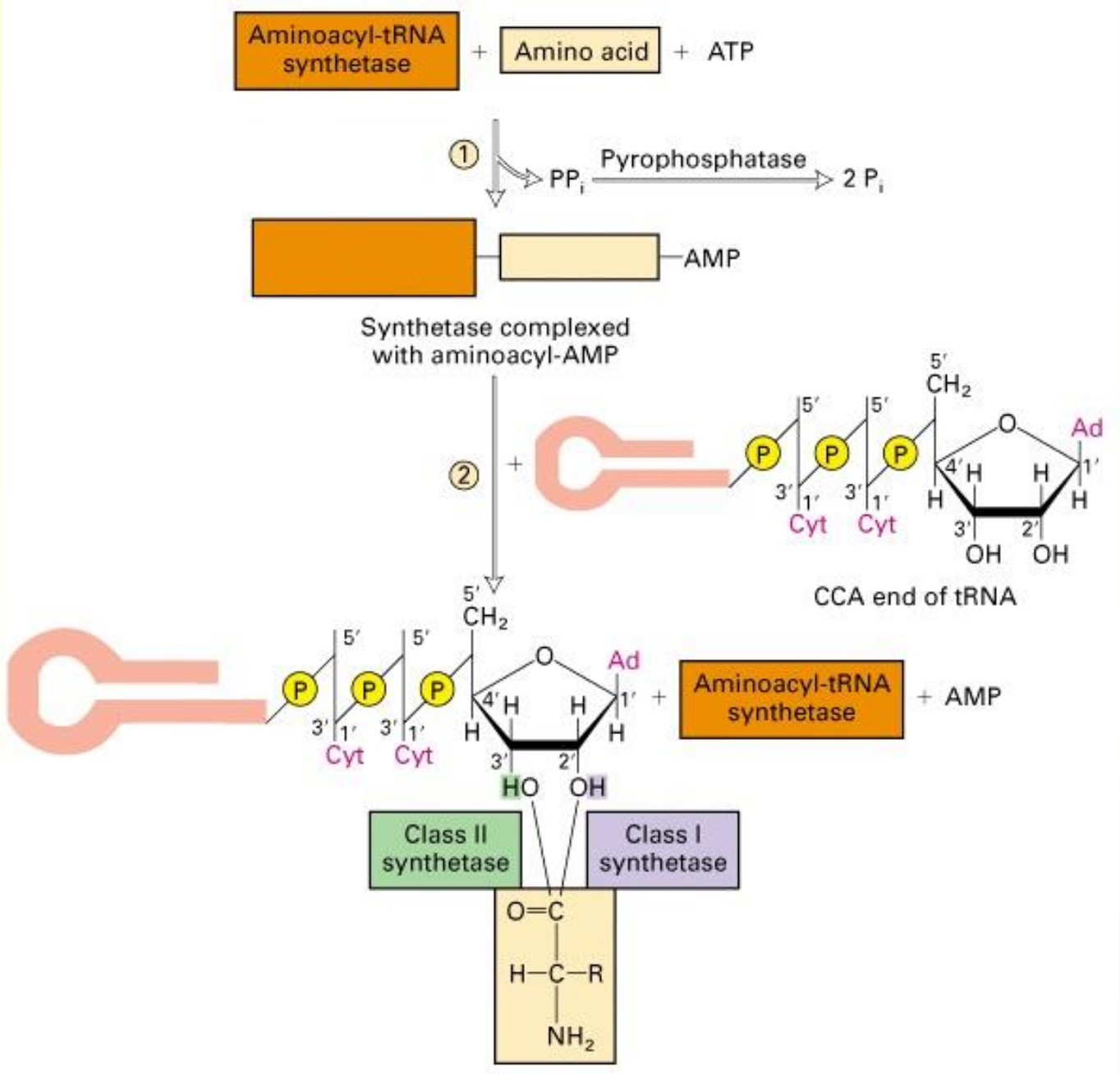
Aminoaçil tRNA sentetazlar tRNA'ların üçüncül yapısındaki farklılığı tanırlar.
Her aminoaçil tRNA sentetaz tek bir amino asidi bir veya fazla sayıda tRNA'ya bağlar ⇒ en az 20 çeşit enzim.

Aminoaçil tRNA oluşumu (tRNA'ların yüklenmesi):

$$aa + ATP \xrightarrow{\textit{amino açil tRNA sentetaz}} aa\text{-}AMP + P\sim P$$

$$aa\text{-}AMP + tRNA \xrightarrow{\textit{amino açil tRNA sentetaz}} aa\text{-}tRNA + AMP$$

Enzimin 2 bölgesi önemli: özel amino asidi ve özel tRNA'yı (L biçimini) tanıma. Amino asit ile tRNA'nın CCA ucu arasındaki (ATP'den sağlanan) yüksek enerji bağındaki enerji ribozomda polipeptid bağı oluşumunda kullanılır.


Aminoacyl-tRNA synthetase
+
Amino acid
+ ATP
1
PP$_i$
Pyrophosphatase
2 P$_i$
AMP
Synthetase complexed with aminoacyl-AMP
2
+
5′ CH$_2$
5′
5′
P
P
P
O
Ad
4′ H
H
1′
H
H
3′
1′
3′
1′
Cyt
Cyt
3′
2′
OH
OH
CCA end of tRNA
5′ CH$_2$
5′
5′
P
P
P
O
Ad
4′ H
H
1′
H
H
3′
1′
3′
1′
Cyt
Cyt
3′
2′
HO
OH
+
Aminoacyl-tRNA synthetase
+ AMP
Class II synthetase
Class I synthetase
O=C
H—C—R
NH$_2$

Aminoaçil-tRNA oluşumu çok doğru biçimdedir

Aminoaçil tRNA sentetazların doğru amino asidin seçimi oldukça zor (⇒ amino asitlerin boyutu çok küçük ve bazen benzerlikleri fazla). Fakat, hatalı yüklenme olasılığı son derece düşüktür (<1/1.000).

Ribozom doğru ve yanlış yüklenmiş tRNA'ları ayırt edemez

Doğru yüklenmede tüm sorumluluk aminoaçil tRNA sentetazlarda !!! Yüklenmiş tRNA'lar daha sonra ayırıma tutulmazlar.
Ribozom doğru kodon-antikodon etkileşimine göre yüklü herhangi bir tRNA'yı (uygun amino asidi taşıyıp taşımadığına bakmaksızın) kabul eder.

rRNA'ların Protein Sentezine Katılmaları

Nukleustaki genlere ait proteinlerin sentezi *sitoplazmadaki ribozomlarda*,
organellerdeki genlere ait proteinlerin sentezi *organellerdeki ribozomlarda*
meydana gelir.

Ribozomların temel işlevi: aminoaçil tRNA'lar ile mRNA'nın yönlendirilmiş düzenli etkileşimlerini ve genetik bilginin protein yapısına doğru biçimde çevrilmesini sağlamak.
⇒ Proteinlerin sentezini yöneten makromoleküler aygıt.

RİBOZOM = *rRNA'lar* + r-proteinler
(ribonükleoprotein partikülleri)

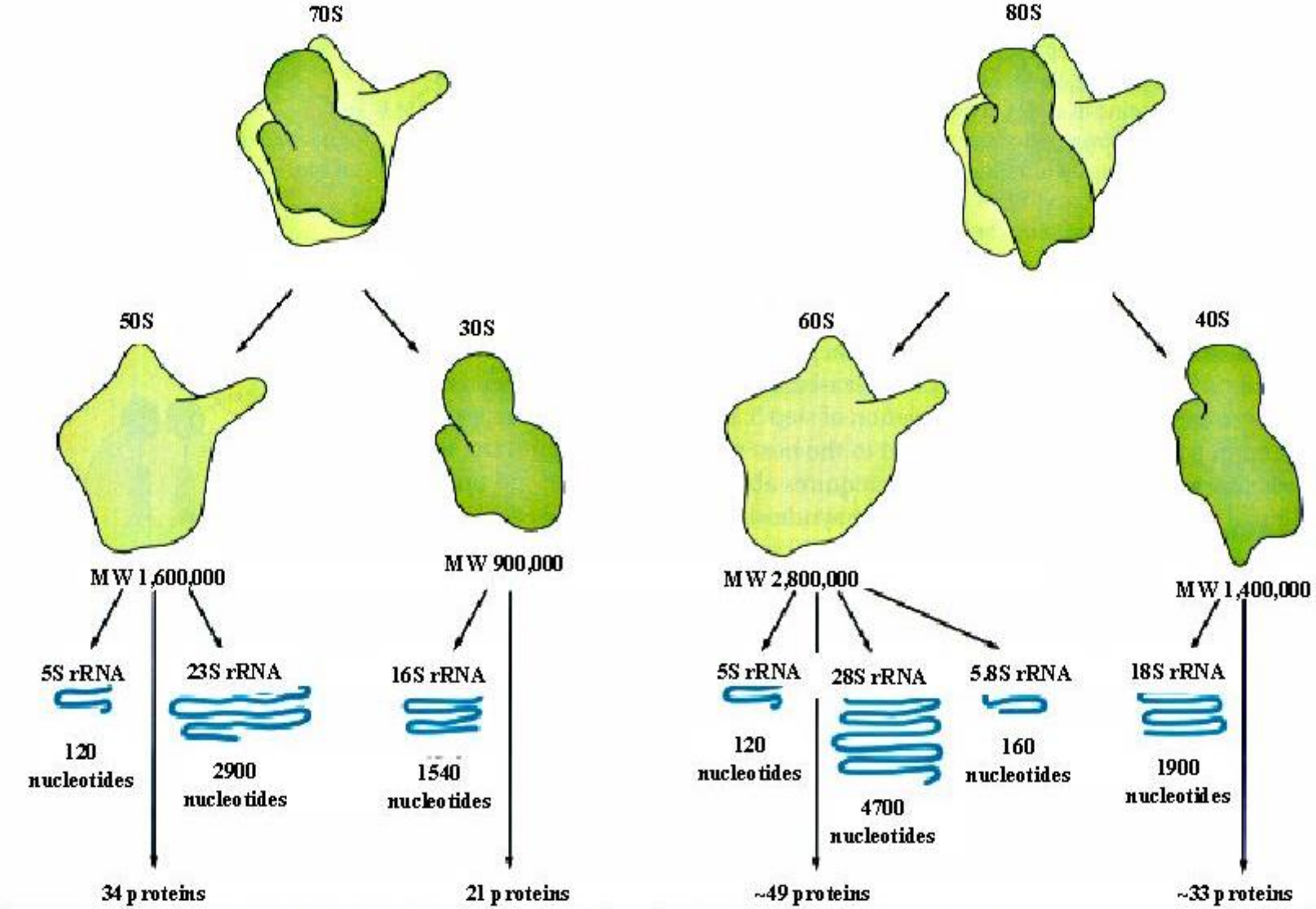
RNA: protein oranı (prokaryotlarda) ~2 : 1 , (diğer organizmalarda) ~1 : 1.
Ribozomlar bakteri hücrelerinde toplam ağırlığın yaklaşık %25'i (~ 15.000-20.000 ribozom/hücre)

Ribozomlar *prokaryotlarda sitoplazmada serbest* durumda, *ökaryotlarda sitoplazmada serbest* veya *endoplazmik retikulum zarlarına tutunmuş* olarak bulunur.

Ribozomun iki alt birimi vardır: *büyük* ve *küçük* alt *birim*.

Kitle: Prokaryotik ribozomlar 70S, ökaryotik ribozomlar 80S ağırlığındadır.
Mitokondri ve kloroplastlardaki ribozomlar boyut ve antibiyotiklere duyarlılık bakımından prokaryotik ribozomlara benzerler.

***[Svedberg (S)**, çökelme birimi]*


70S
50S
30S
MW 1,600,000
MW 900,000
5S rRNA
120 nucleotides
23S rRNA
2900 nucleotides
16S rRNA
1540 nucleotides
34 proteins
21 proteins
PROKARYOTIC RIBOSOME
80S
60S
40S
MW 2,800,000
MW 1,400,000
5S rRNA
120 nucleotides
28S rRNA
4700 nucleotides
5.8S rRNA
160 nucleotides
18S rRNA
1900 nucleotides
~49 proteins
~33 proteins
EUKARYOTIC RIBOSOME

rRNA'lar

rRNA'lar ribozomun hem yapısal hem de katalitik belirleyicisidir

- Temelde *ribozom yapısını oluştururlar ve* aralarında H bağları oluşturarak *ribozomun iki alt biriminin bir arada bulunmasına yardım ederler.*

- mRNA ile baz eşleşmesi özelliğinden dolayı *protein sentezine katılırlar.* Yüklü tRNA'ların antikodon ilmekleri ve mRNA'nın kodonları küçük alt birimdeki rRNA ile ilişki kurarlar.

r-proteinler

Çoğu bazik amino asitler bakımından zengindir; pro- ve ökaryotlarda genelde birbirinden farklıdırlar.

r-proteinlerin çoğu ribozomun dış tarafında bulunur.

Büyük alt birimdeki esas işlevsel domain tamamen (ya da büyük ölçüde) RNA'lardan oluşur.

⇒ Günümüz ribozomlar büyük olasılıkla sadece RNA'dan ibaret ilkel bir protein sentezi aygıtından gelişmişlerdir !!!

Ribozomun büyük ve küçük alt birimleri:

Büyük alt birimdeki *peptidil transferaz merkezi*ndepeptid bağları oluşur.

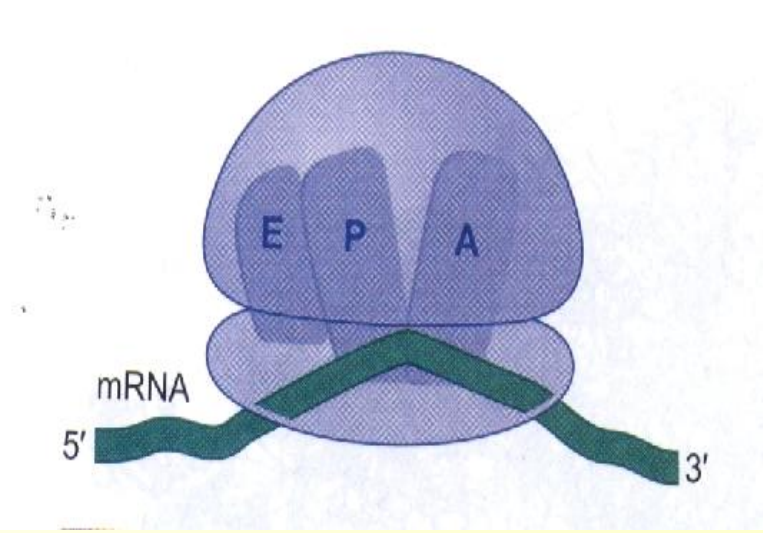
Küçük alt birimdeki *şifre çözücü merkezi*nde yüklü tRNA'lar mRNA'daki kodonları okurlar ("şifresini çözerler").

Ribozomda tRNA'lar için bağlanma yerleri (büyük ve küçük alt birimin ara yüzünde):

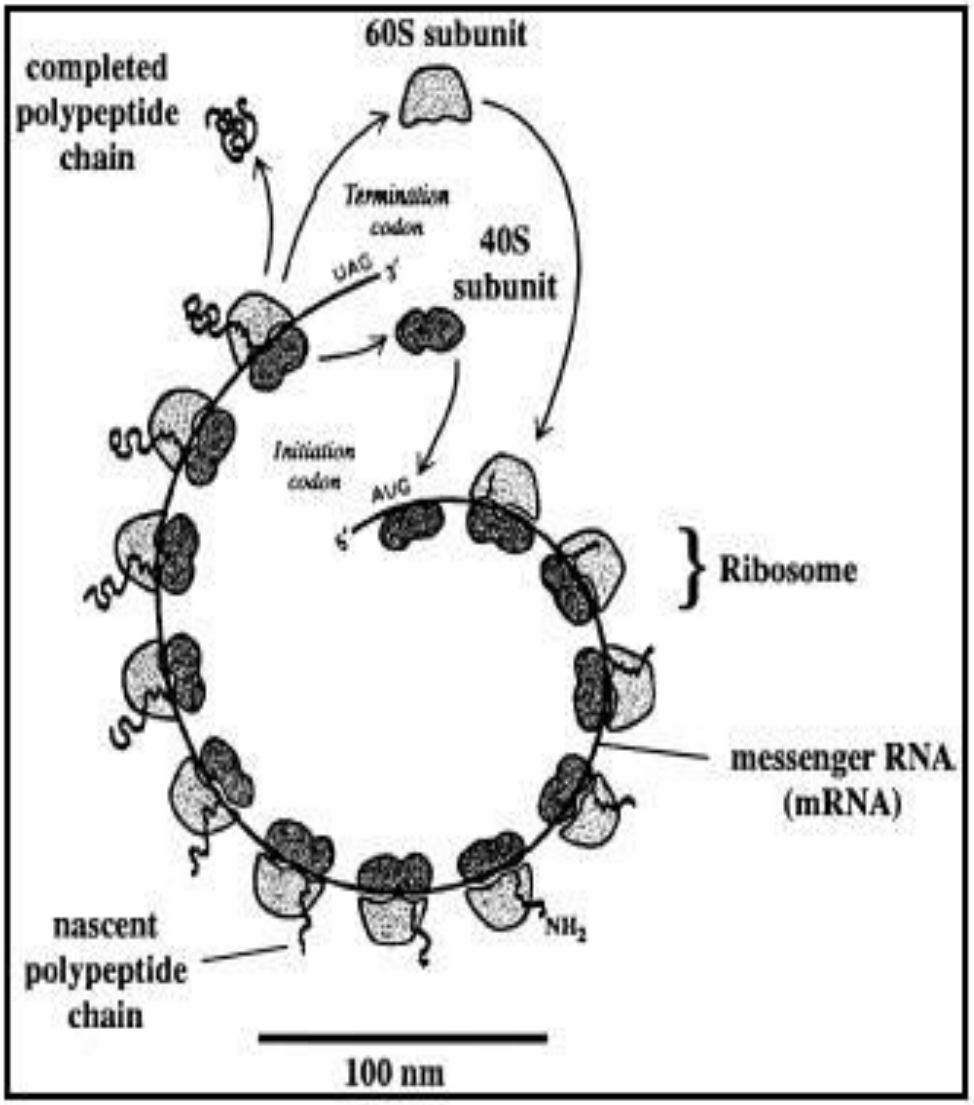
A yeri aminoaçillenmiş tRNA'nın,

P yeri peptidil tRNA'nın,

E yeri uzayan polipeptid zinciri aminoaçil-tRNA'ya aktarıldıktan sonra serbest kalan tRNA'nın bağlanma yeridir.



Protein sentezinde *ribozom-poliribozom (polizom) çevrimi*



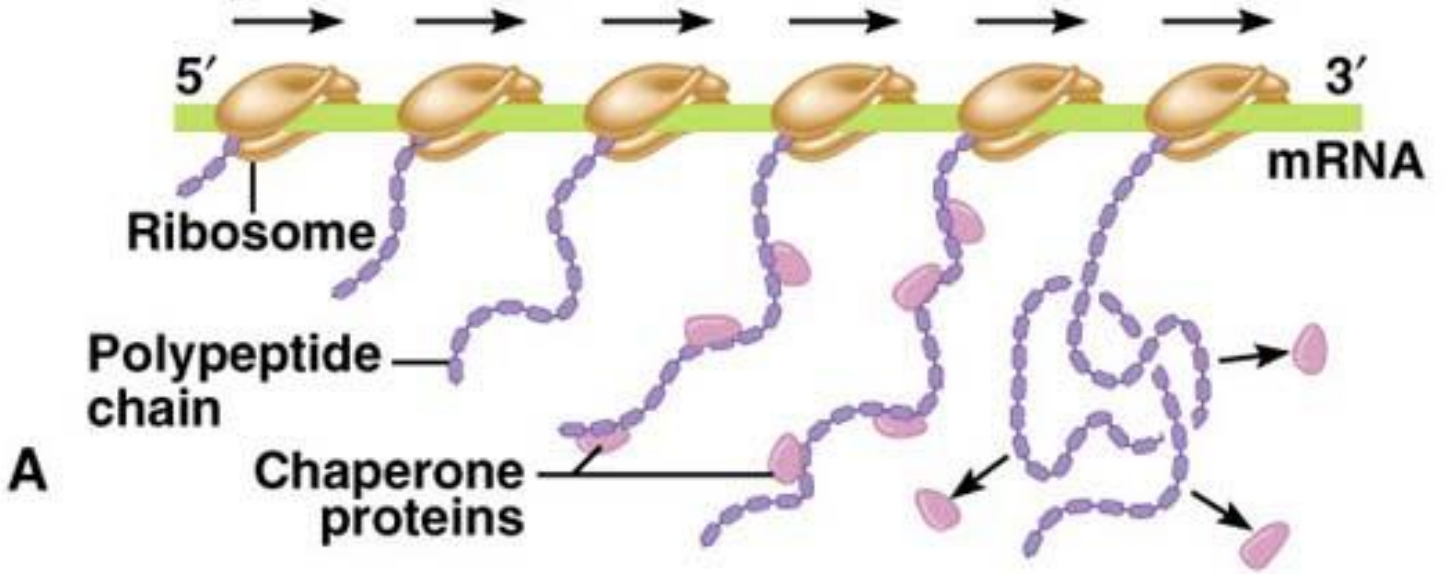
[***polizom***, aynı mRNA' ya tutunmuş çok sayıda ribozom]

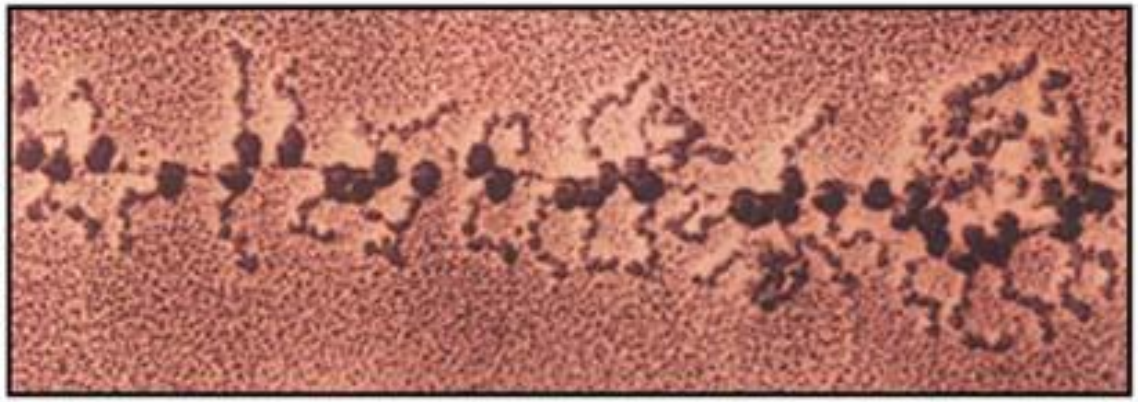
⇒ bir mRNA daki genetik bilginin aynı anda çok sayıda polipeptide çevrilmesi

Translasyonda birbirleriyle ve mRNA ile birleşen büyük ve küçük alt birimler her çevrim sonunda birbirinden ayrılır; yeni bir protein sentezi çevrimini başlatmak üzere aynı ya da farklı bir mRNA'ya bağlanırlar.

Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.

Many ribosomes translate mRNA





B

Prokaryotlarda, transkripsiyon ve translasyon aygıtı birlikte çalıştığı için, ribozom transkripsiyonun hızına ulaşır.
~ 20 amino asit/saniye ⇒ mRNA'da 20 kodon=60 nukleotidin çevirisi = RNA polimerazın 50-100 nukleotid/saniyelik hızı

Ökaryotlardaki translasyon çok daha yavaş (2-4 amino asit/saniye)
⇐ belki translasyonun transkripsiyondan tamamen ayrı olması nedeniyle

mRNA'ların Protein Sentezine Katılması

Translasyon, mRNA'da protein şifreleyen bölgenin (ORF'nin) 5' ucundan (başlama kodonundan), 3' ucuna (bitim kodonuna) doğru birer kodonluk hareketle ilerler.

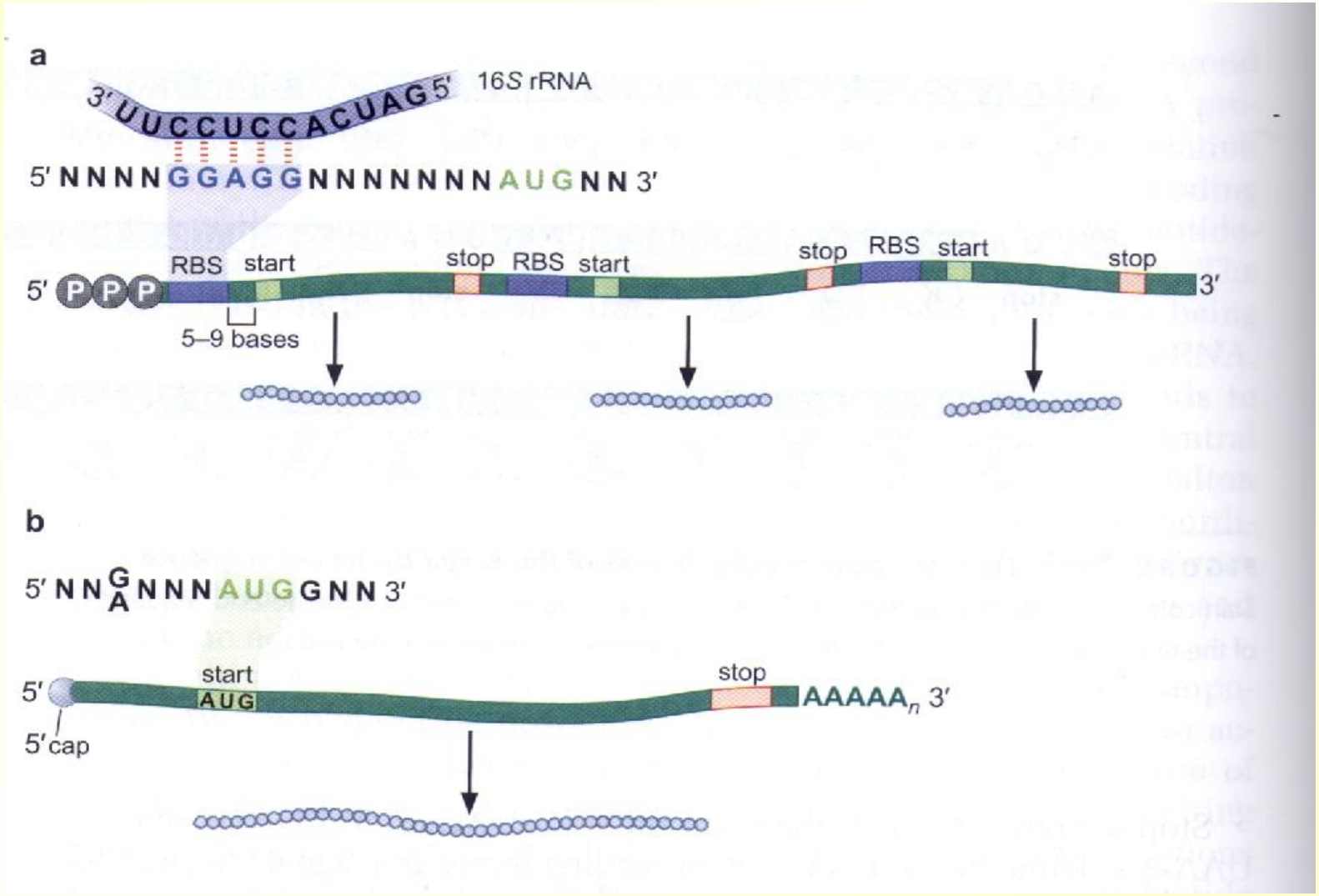
Bakterilerde *başlama kodonu* genellikle 5'-AUG-3' (bazen 5'-GUG-3' ya da 5'-UUG-3').
Ökaryotlarda her zaman 5'-AUG-3'.
Başlama kodonun işlevleri:

- Sentez edilecek polipeptide girecek ilk amino asidi belirleme.
- Ardışık tüm kodonlar için okunma çerçevesini belirleme.

(⇒ilk kodonun yerleşimine göre olası üç farklı okunma çerçevesinin birinin çevirisi yapılır)

Bitim kodonları (5'-UAG-3', 5'-UGA-3', 5'-UAA-3') ORF'nin sonunu belirlerler ve polipeptid sentezinin tamamlanmasını işaret ederler.

Ökaryotik mRNA'larda tek ORF (*monosistronik mRNA'lar*). Prokaryotik mRNA'larda genelde iki veya daha fazla sayıda ORF (*polisistronik mRNA'lar*) .



mRNA'ların Ribozoma Bağlanması

Prokaryotik **mRNA'**ların çoğunda başlama kodonunun yukarı kısmında kısa bir dizi (***ribozoma bağlanma yeri, RBS*** veya ***Shine-Dalgarno dizisi***)

RBS (çoğunlukla, 5'-AGGAGG-3') başlama kodonunun 3-10 nukleotid yukarısında bulunur ve 16S rRNA'nın 3' ucu yakınındaki bir dizinin (5'-CCUCCU-3') tamamlayıcısıdır.

RBS ve başlama kodonu arasındaki tamamlayıcılığın ve uzaklığın derecesi, bir ORF'nin aktif şekilde çevirisinde etkili:
Yüksek derecede tamamlayıcılık ve uygun uzaklık çeviriyi etkin biçimde ilerletir.

Ökaryotik mRNA'ların 5' ve 3' uçlarındaki değişiklikler translasyonu kolaylaştırır

Ökaryotik mRNA'lar ribozomlara, *5' şapka* yapısıyla bağlanırlar;
Ribozom şapka yapısını tanıyıp bağlandığında, 5'-AUG-3' başlama kodonuna doğru hareket eder.

Ökaryotik mRNA'ların translasyonu uyaran diğer iki özelliği :
(1) Bazı mRNA'larda başlama kodonunun üç baz yukarısındaki bir pürin ve aşağısında bir guanin bulunması (5'-G/ANNAUGG-3') (*Kozak dizisi*). Başlatıcı tRNA ile etkileşime girerek translasyon etkinliğini artırır.
(2) mRNA'nın *3' ucunda poli-A kuyruğu*. Ribozomların yeniden translasyon çevrimine girmelerini destekleyerek translasyon düzeyini yükseltir.

Translasyonun Mekanizması

Amino asitlerin birbirine tek tek eklenmesi ve aralarında peptid bağlarının oluşumuyla bir *polipeptid zincirinin sentezi*.

mRNA daki genetik bilginin polipeptid haline çevrilmesinin yönü: *5'→3'*
Sentez edilen *polipeptid* zincirlerinin bir ucunda serbest -COOH grubu taşıyan bir amino asit (*C- ucu*), diğer ucunda serbest $-NH_2$ grubu taşıyan bir amino asit (*N- ucu*).

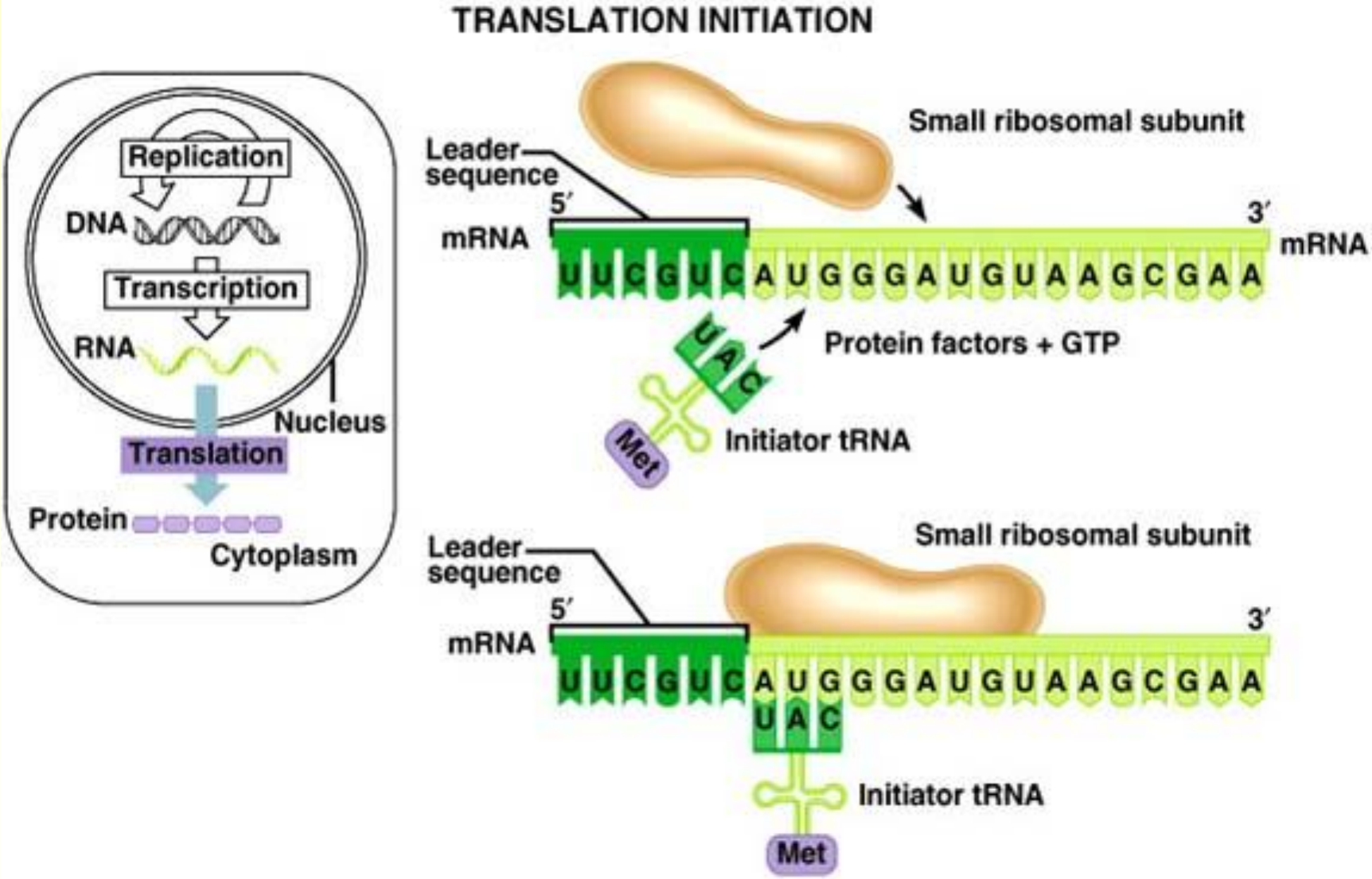
Başlama

İlk iki amino asit arasındaki peptid bağı oluşumundan önceki reaksiyonlar:
Başlangıç kompleksi (ribozomun küçük alt birimi + mRNA + başlangıç amino asidini taşıyan tRNA) oluşumu.

♦ Ribozomun küçük alt birimi ile mRNA'nın 5' ucuna yakın *ribozoma bağlanma bölgesi*nin bağlanması
(*ribozoma bağlanma bölgesinde başlangıç kodonu ile diğer özel diziler*)

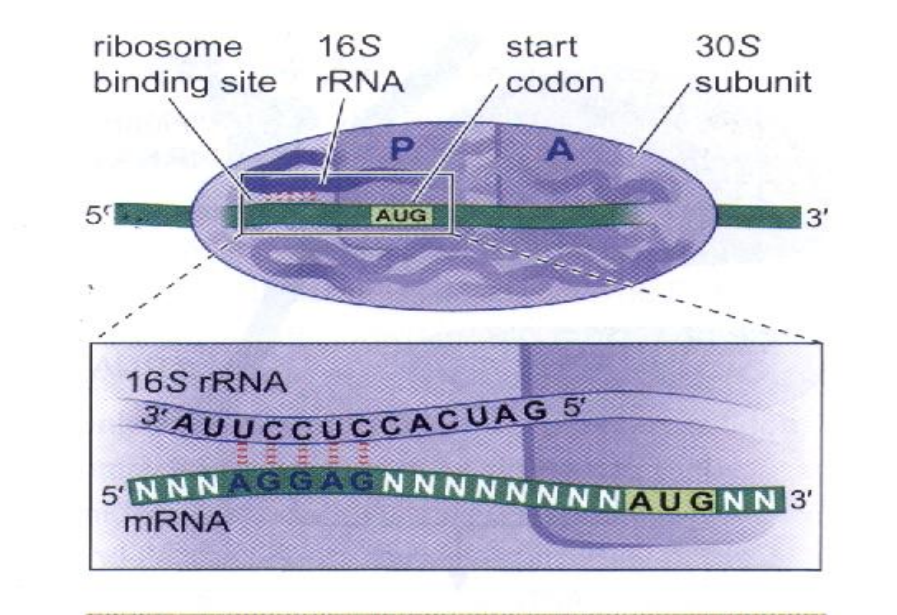
Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.

Translation initiation



Prokaryotik mRNA'lar ribozomun küçük alt birimine rRNA'daki baz eşleşmeleriyle bağlanır

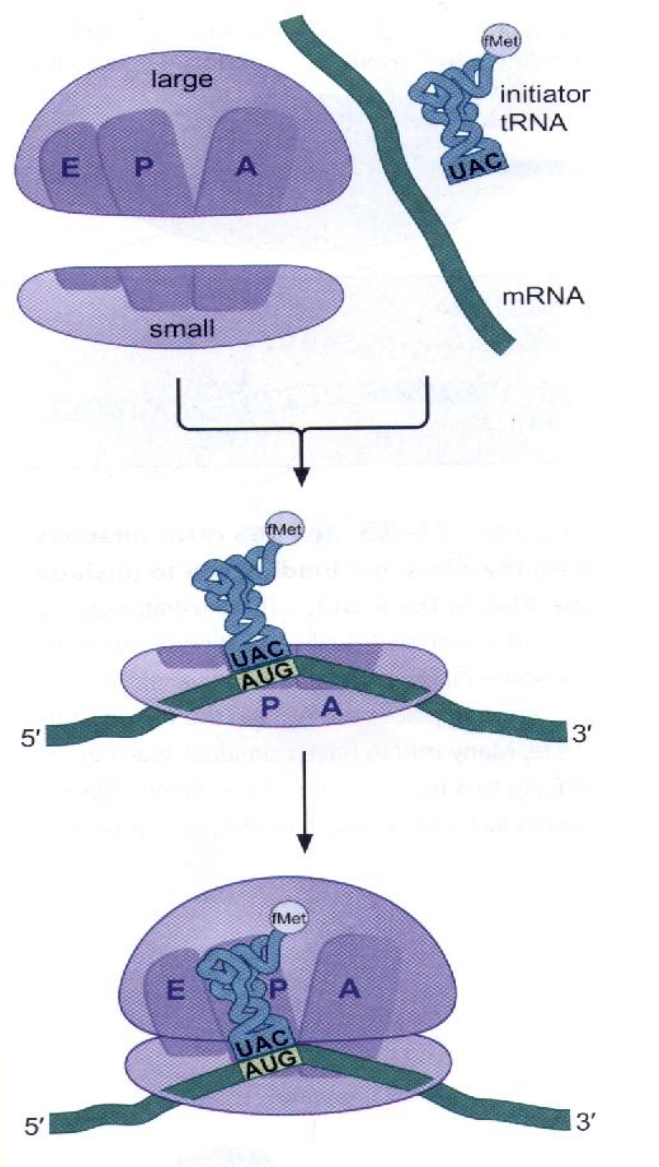
Önce mRNA ile küçük alt birim bağlanır. Prokaryotlarda, bağlanmada mRNA'nın ribozoma bağlanma bölgesi ile 16S rRNA arasındaki baz eşleşmeleri rol oynar. mRNA, küçük alt birime başlangıç kodonu P bölgesine gelecek şekilde bağlanır.
Büyük alt birim başlangıç aşamasının sonlarında, ilk peptid bağının oluşumundan hemen önce komplekse katılır.



Translasyonun başarılı bir şekilde başlayabilmesi için

* ribozomun alt birimlerinin mRNA üzerinde birleşmeleri;
* yüklü bir tRNA'nın ribozomun P bölgesine yerleşmesi;
* ribozomun, başlangıç kodonu üzerinde doğru konumlanması (translasyonun okunma çerçevesinin belirlenmesi için önemli)

gerekir.



Prokaryotlarda, mRNA'lardaki başlangıç kodonu çoğunlukla *AUG* ⇒ polipeptid zinciri yapısına giren ilk amino asit ***metionin***

Prokaryotik proteinlerin ilk amino asidi, *formil metionin* (f^{Met}); metionin tRNA'ya bağlandıktan sonra NH_2 grubu formillenir*.
*[*Deformilaz* enzimi, formil grubunu polipeptid zincirinin sentezi sırasında veya sonrasında çıkartır. Ayrıca, *aminopeptidazlar* da N uçtaki metionini ve yanı sıra 1-2 amino asidi daha çıkarırlar]

Bakterilerde iki tip metionil tRNA aynı antikodonu taşır fakat yapıları farklı ve mRNA'daki farklı (başlangıç ve içteki) AUG'ler tarafından tanınırlar.

Ökaryotlarda başlangıç kodonu sadece *AUG*; ilk amino asit *formillenmemiş özel bir metionil tRNA* ($tRNA_i^{Met}$) ile taşınır; başlatıcı tRNA ile polipeptidin iç kısımlarındaki metionil tRNA'ların ($tRNA_m^{Met}$) dizileri farklı.

Başlangıç kompleksinin oluşumunu yöneten proteinler (başlangıç faktörleri)

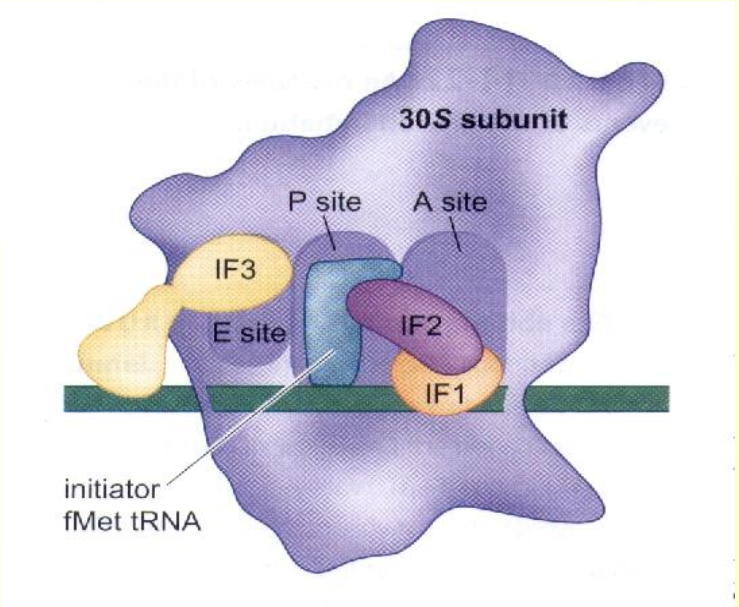
Prokaryotlardaki başlangıç faktörleri:

IF1 , başlatıcı tRNA'nın küçük alt birimde A yerine bağlanmasını engeller

IF2, küçük alt birim, IF1 ve başlatıcı tRNA ile etkileşime girerek, tRNA'nın küçük alt birimdeki P yerine bağlanmasını sağlar; diğer tRNA'ların küçük alt birimle birleşmesini engeller.

IF3,

- Küçük alt birime bağlanarak büyük alt birimle birleşmesini veya tRNA'ların bağlanmasını engeller.
- mRNA'nın ribozomun küçük alt birimine bağlanmasını sağlar.



Prokaryotlarda, başlangıcın son aşaması, büyük alt birimin birleşmesiyle *70S'lik başlangıç kompleksi*nin oluşması.

Başlangıç kodonu ve başlatıcı tRNA ile baz eşleşmesi yaptığında, IF3 küçük alt birimden ayrılır.

Büyük alt birimin küçük alt birime bağlanmasıyla IF1 ve IF2 ribozomdan ayrılır.

Başlangıç aşamasının sonucu:

A yeri boş olan, P yerinde başlatıcı tRNA'yı taşıyan ve mRNA ile birleşmiş 70S'lik bir ribozomun oluşması.

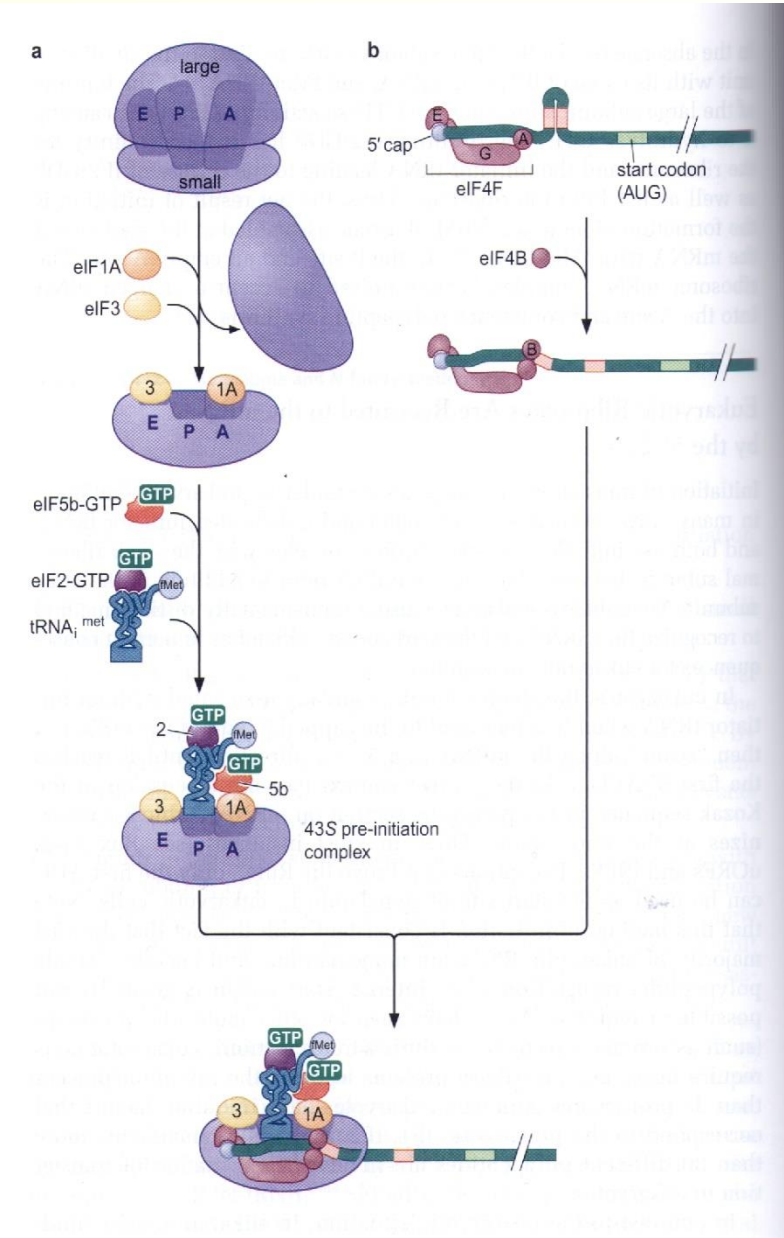
Ökaryotlardaki başlangıç faktörleri

Prokaryotlardaki IF1, IF2, IF3 karşılığı faktörler ile ek başka proteinler bulunur.

eIF3 prokaryotlardaki IF3'ün karşılığı

GTP bağlayan iki protein (eIF2 ve eIF5B) başlatıcı tRNA'nın bağlanmasına yardımcı olur.

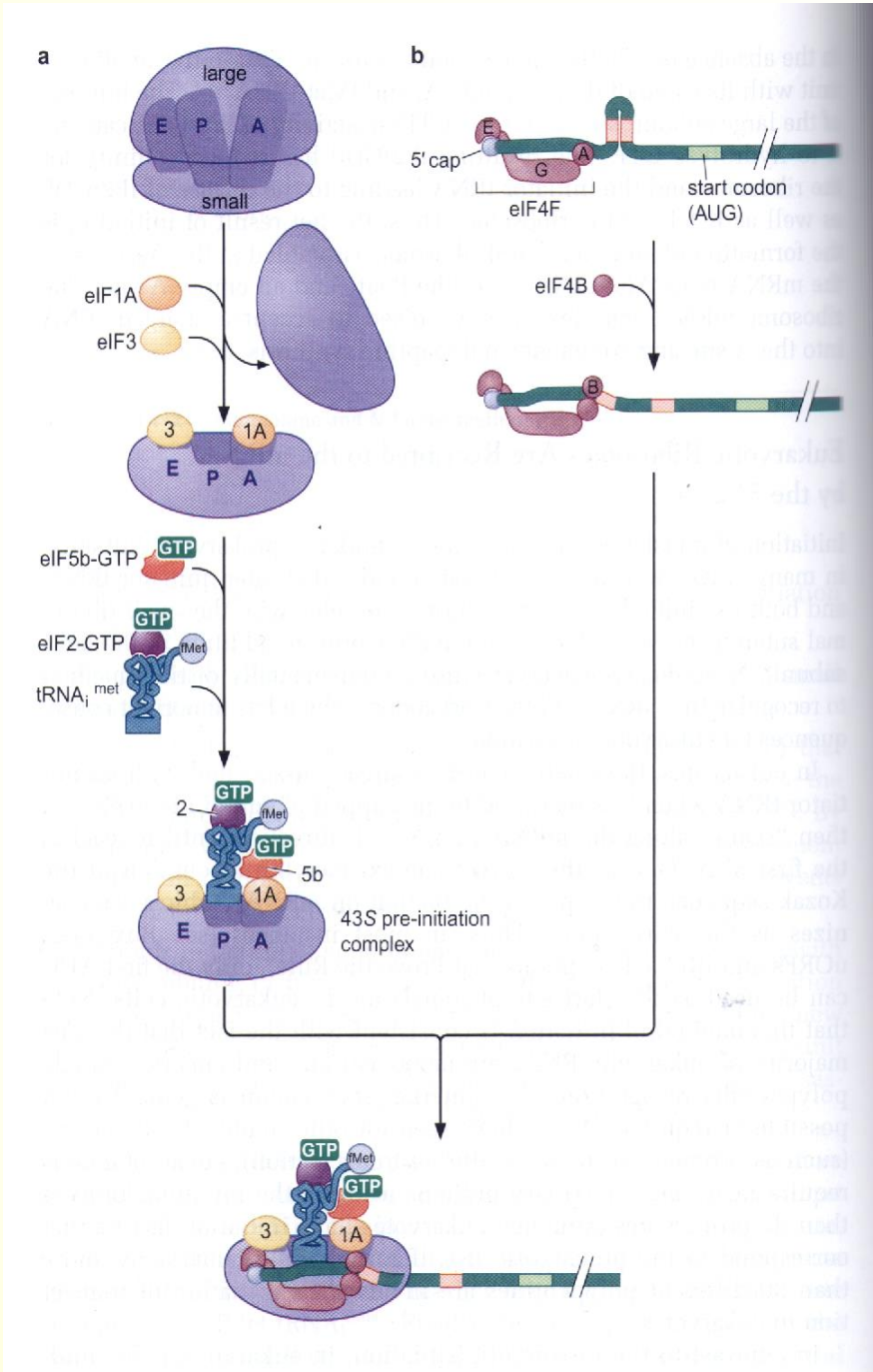
eIF5B (IF2'nin karşılığı), eIF1A'ya (IF1'in karşılığı) bağımlı şekilde küçük alt birime bağlanır; eIF2 ile başlatıcı tRNA'nın küçük alt birime bağlanmasını sağlar.



⇒ *43S öncül-başlangıç kompleksi* oluşumu.

eIF4F, mRNA'ların 43S öncül-başlangıç kompleksini tanımasını sağlar.
Bu komplekse sonra eIF4B bağlanır.

eIF4B, eIF4F'deki *RNA helikazı* aktifleştirir. Helikaz, mRNA'daki ikincil yapıları çözüp küçük alt birime bağlanmasına yardım eder.



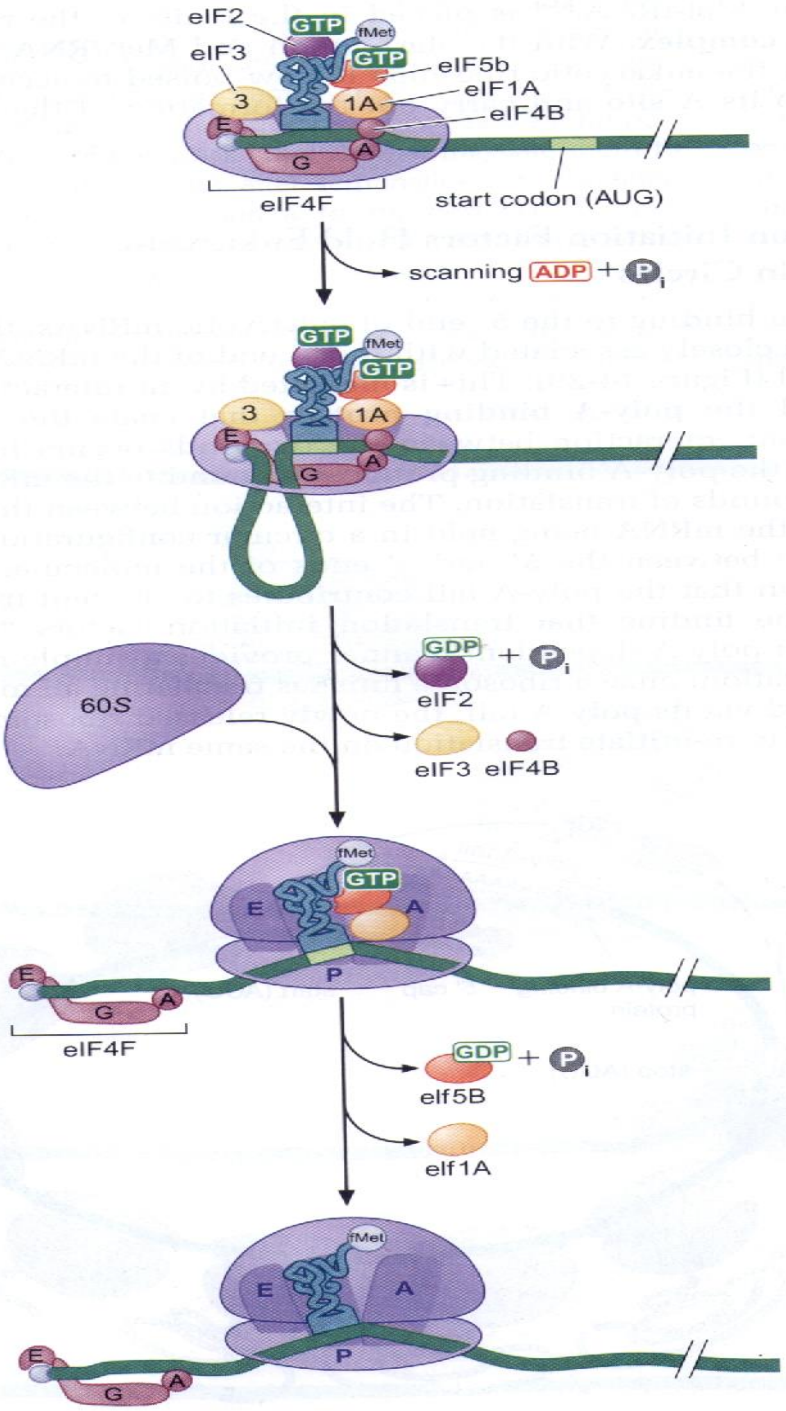
Küçük alt birim ve başlangıç faktörleri mRNA boyunca 5'-3' yönünde hareket ederler.

Hareket sırasında, *küçük alt birim mRNA'daki başlangıç kodonunu başlatıcı tRNA'daki antikodonla arasındaki baz eşleşmesiyle bulur.*

Doğru baz eşleşmesi eIF2 ve eIF3'ün ayrılmasını tetikleyip büyük alt birimin küçük alt birime bağlanmasına yol açar.

Büyük alt birimin bağlanması, diğer başlangıç faktörlerinin de ayrılmasına yol açar.

⇒ *80S başlangıç kompleksi* oluşumu.

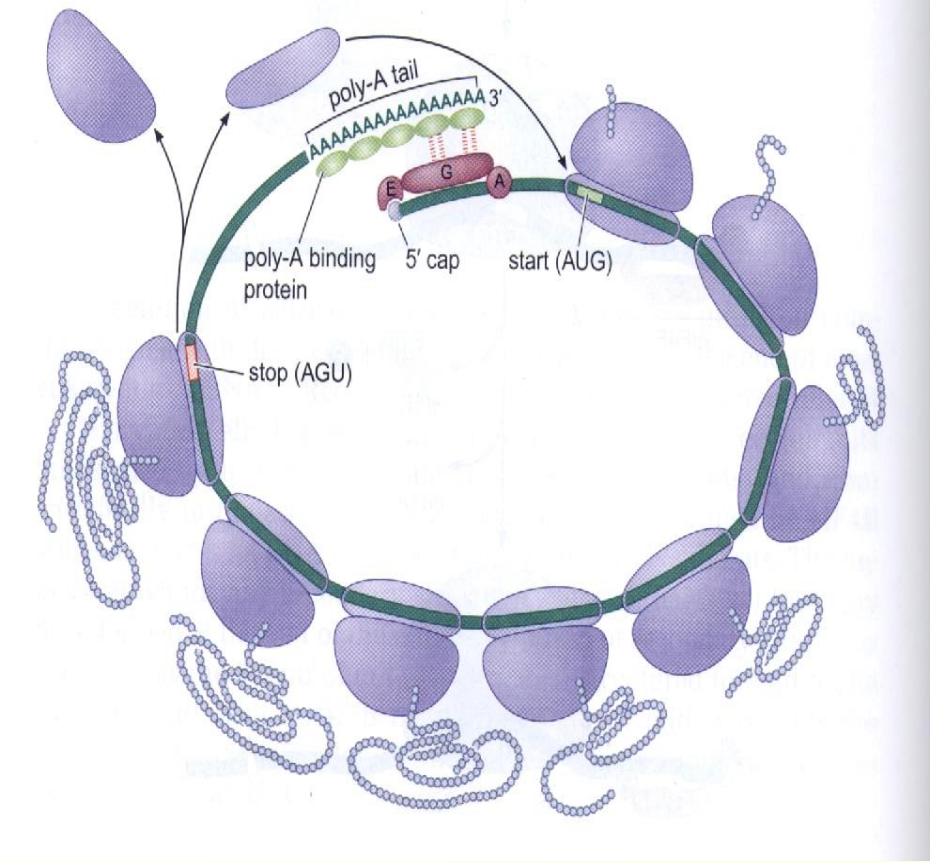


Başlangıç faktörleri ökaryotik mRNA'ların 5' ucuna bağlanmalarının yanı sıra, poli-A kuyruğu aracılığıyla, mRNA'nın 3' ucuyla da sıkıca ilişki kurarlar.

Bu ilişki, eIF4F ile poli-A kuyruğundaki *poli-A'ya bağlanan protein* arasındaki etkileşimle sağlanır.

⇒ *mRNA'nın halkasal biçimde tutulması*

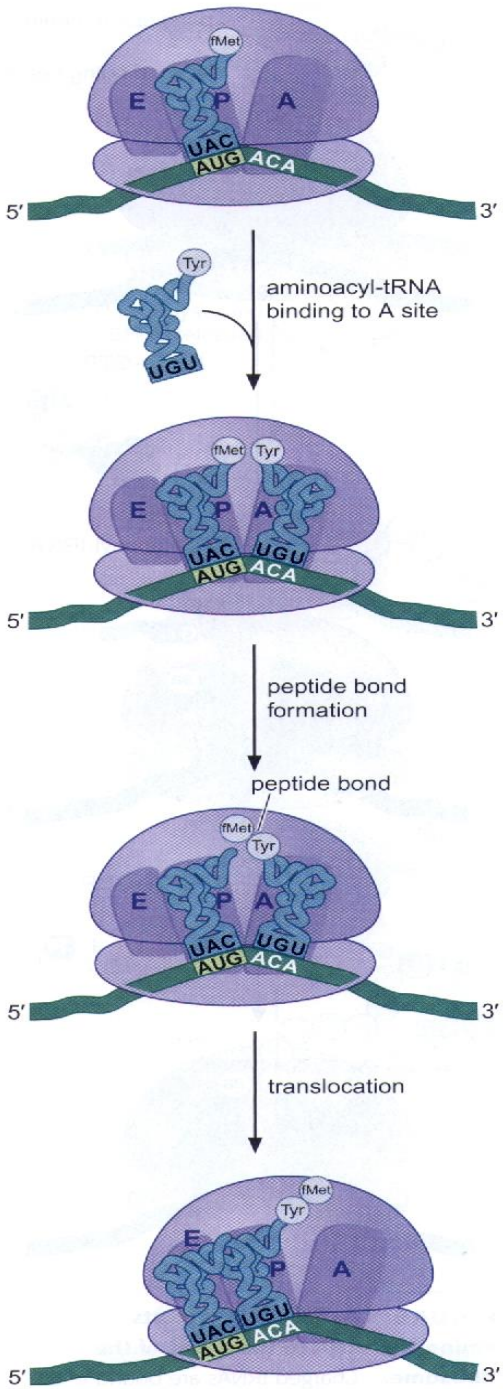
⇒ *bir mRNA translasyonu tamamlandığında translasyonu tekrar başlatmaya uygun şekilde konumlanması*



Uzama

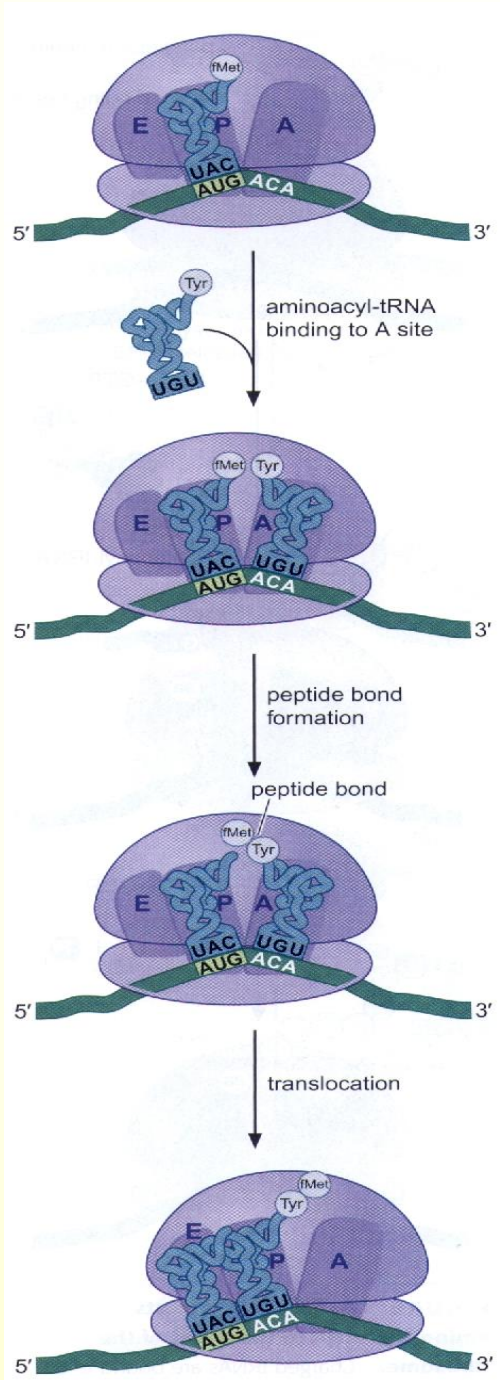
Protein sentezinde ilk peptid bağı oluşumundan son peptid bağı oluşumuna kadar meydana gelen reaksiyonlar. (Başlamadaki olayların tersine, *uzama* mekanizması prokaryot ve ökaryotlarda *iyi korunmuş*tur)

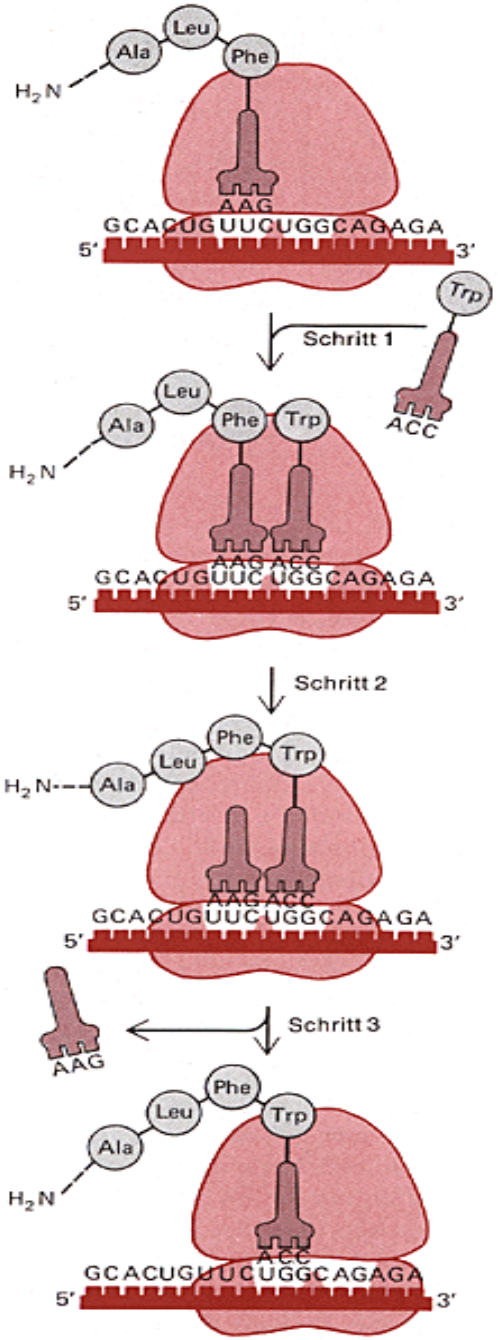
- Ribozomun A yerine, karşılık gelen mRNA'daki kodona uygun aminoaçil-tRNA'nın bağlanması.



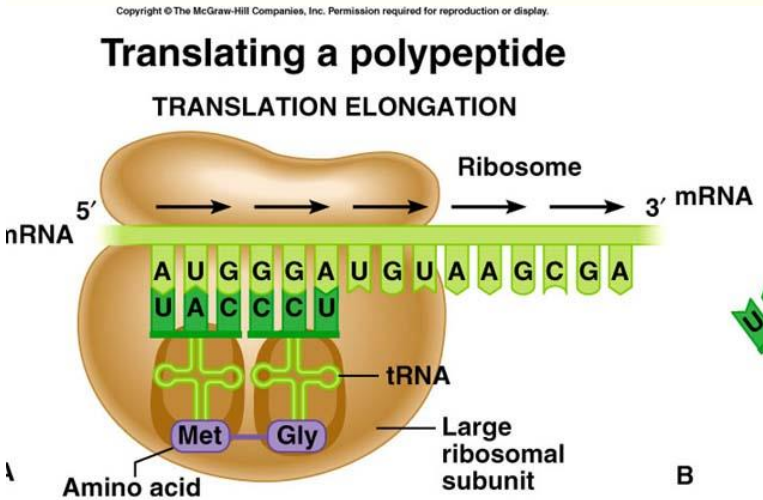
♦ P yerinde bulunan tRNA'ya bağlı amino asitteki COOH grubunun tRNA ile olan ester bağının çözülmesi ve A yerindeki tRNA'ya bağlı amino asidin $-NH_2$ grubu ile arasında bir peptid bağı oluşumu. (Uzayan polipeptidin P yerindeki tRNA'dan A yerindeki tRNA'nın amino asidine transferi)
(***peptidil transferaz reaksiyonu***).
Enzim: peptidiltransferaz.

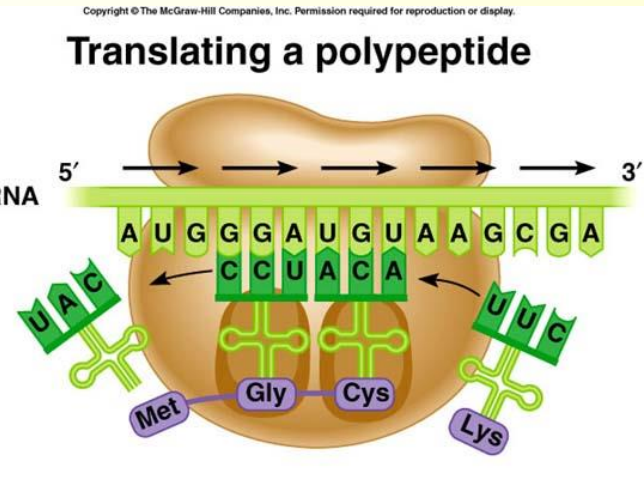
♦ Ribozomun yapısındaki değişimle mRNA boyunca 5'→3' yönünde bir kodonluk hareketin meydana gelmesi A yerindeki peptidil-tRNA'nın ve karşılığı olan kodonun P yerine geçmesi (***translokasyon, yer değiştirme***).
Amino asidini kaybetmiş tRNA'nın ribozomdan ayrılması.





⇒ *Peptidil transferaz ve translokasyon reaksiyonlarının ardışık olarak sürmesiyle polipeptid zincirinin uzaması.*





Uzama aşamasında bir peptid bağı oluşum çevrimi için kaç nükleozid trifosfat gereklidir ?

(1) Amino asidin tRNA'ya bağlanması sırasında yüksek enerjili açil bağı yaratılırken *1 ATP* .
(2) Yüklü tRNA'nın A yerine yerleştirilmesi sırasında *1 GTP*.
(3) EF-G aracılığıyla meydana getirilen translokasyon sırasında *1 GTP*.

Net sonuç olarak peptid bağı oluşumu maliyeti:

1 ATP + 2 GTP

Bakterilerde

protein sentezinde 37°C'da polipeptid zincirine saniyede ~ 15 amino asit eklenir

⇒ 300-400 amino asitlik bir polipeptidin sentezi 10-20 saniye.

Ökaryotlarda

protein sentezinin hızı daha düşük. Örneğin, alyuvarlarda 37°C da yaklaşık 2 amino asit /saniye

⇒ 150 amino asitlik bir polipeptidin sentezi ~ 1 dakika.

Tamamlanma

Sentezi tamamlanan polipeptidin serbest kalması için gerekli reaksiyonlar.

Ribozomdaki *aminoaçil tRNA bağlanması, peptid bağı oluşumu* ve *translokasyon* çevrimleri üç *bitim kodonu*ndan birinin A yerine gelmesine kadar devam eder.

Serbest bırakma (salıverme) faktörleri ***(RF)****, bitim kodonlarına yanıt olarak translasyonu sonlandırır*

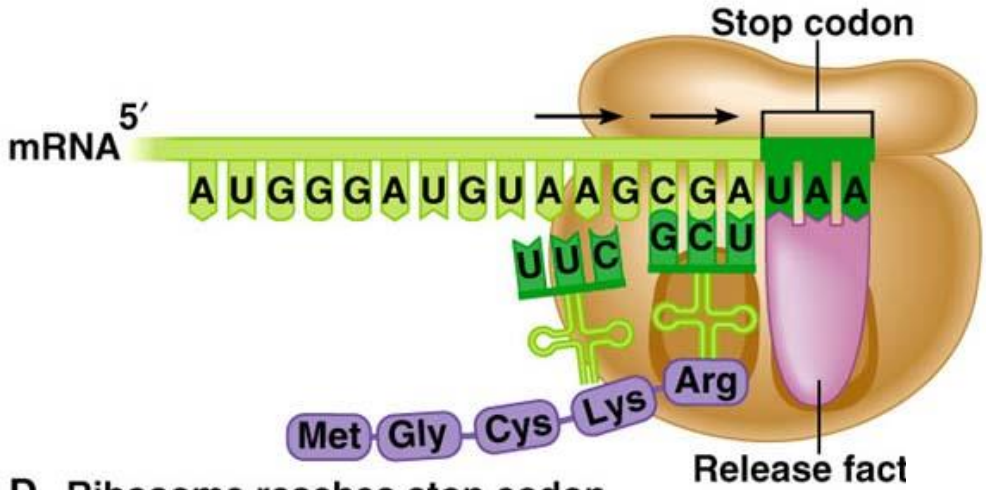
Bir bitim kodonu ribozomun A yerine geldiği zaman bir ***RF*** bu işareti tanıyarak bağlanır. Polipeptid zincirindeki son amino asit ile bağlı olduğu tRNA arasındaki bağlantısını koparır. Bu işlevini, polipeptidin peptidil tRNA'dan hidrolizini aktifleştirerek yapar.

Serbest kalan son tRNA molekülü ve polipeptid zinciri ribozomdan ayrılır; ribozomun büyük alt birimi de mRNA'dan ve küçük alt birimden ayrılır.

Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.

Translating a polypeptide

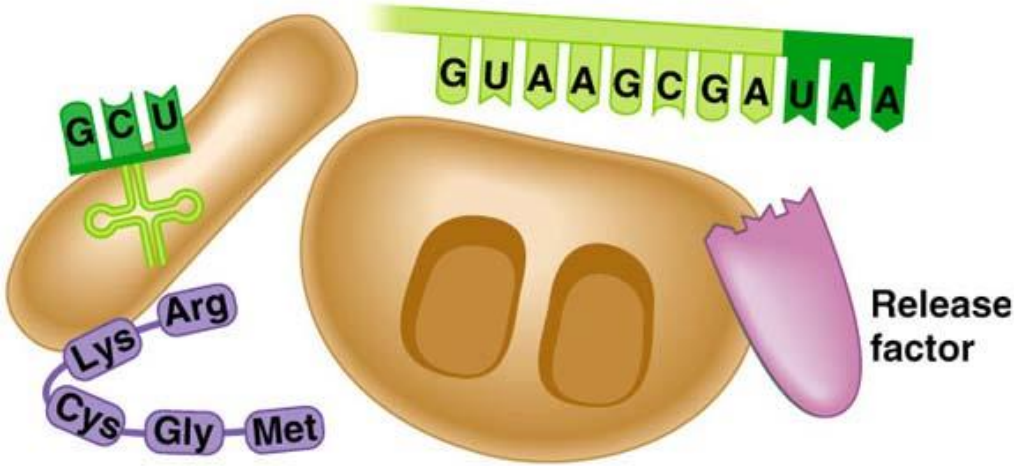
TRANSLATION TERMINATION



D Ribosome reaches stop codon

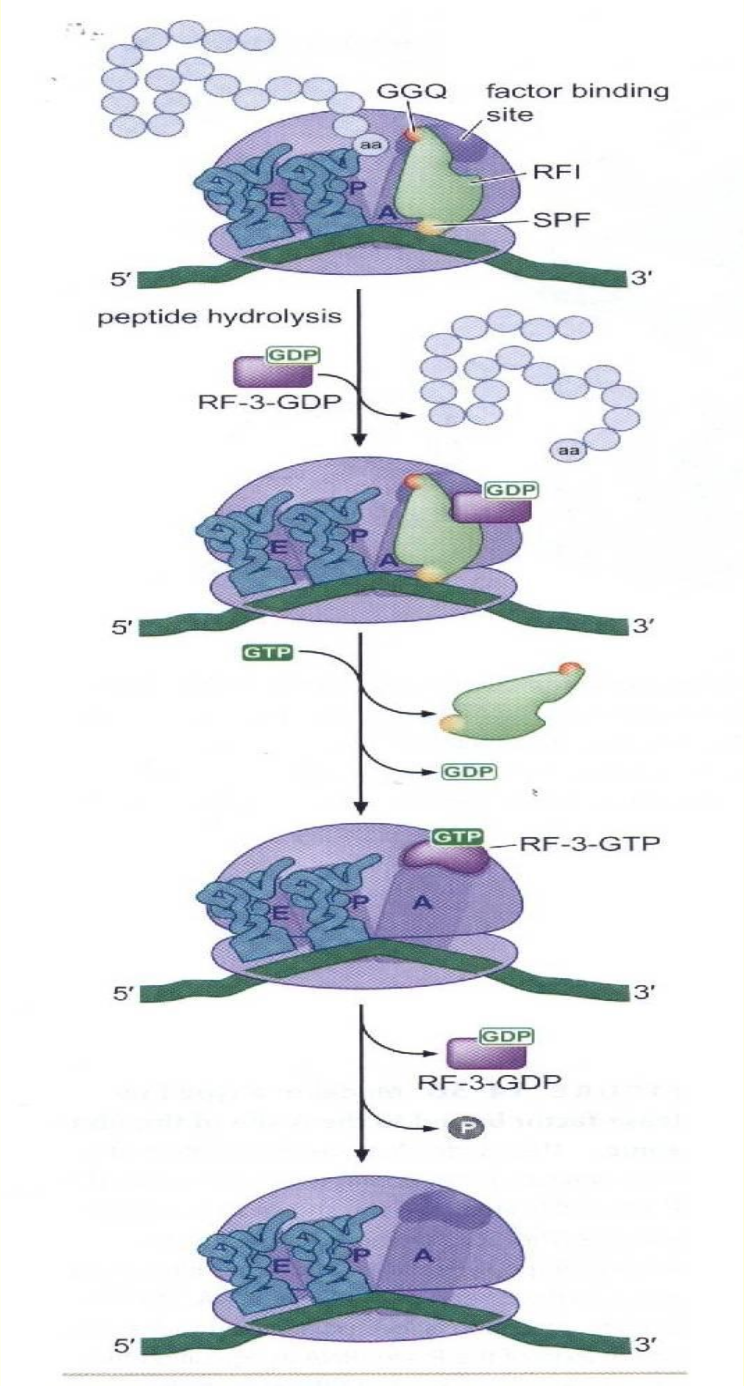
Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.

Translating a polypeptide



E Once stop codon is reached, elements disassemble

Translasyonun sonlanması



Ribozomu Yeniden Kullanıma Sokma Faktörü Bir tRNA'yı Taklit Eder

Polipeptid zinciri ve RF'ler serbest kaldıktan sonra ribozom hala (P ve E yerlerinde) mRNA'ya ve yüksüz tRNA'ya bağlı durumdadır.
Ribozomun yeni bir polipeptid sentezi çevrimine girmesi için, mRNA ve tRNA'nın serbest kalması, ribozomun büyük ve küçük alt birimlerinin ayrılması gerekir. Bu olayların tümüne ***ribozomun yeniden kullanımı*** denir.

Prokaryotlarda, *ribozomu yeniden kullanıma sokma faktörü (RRF)* polipeptidin serbest kalmasından sonra ribozomu yeniden kullanıma sokmak üzere *EF-G* ve *IF3* ile birlikte iş görür.