

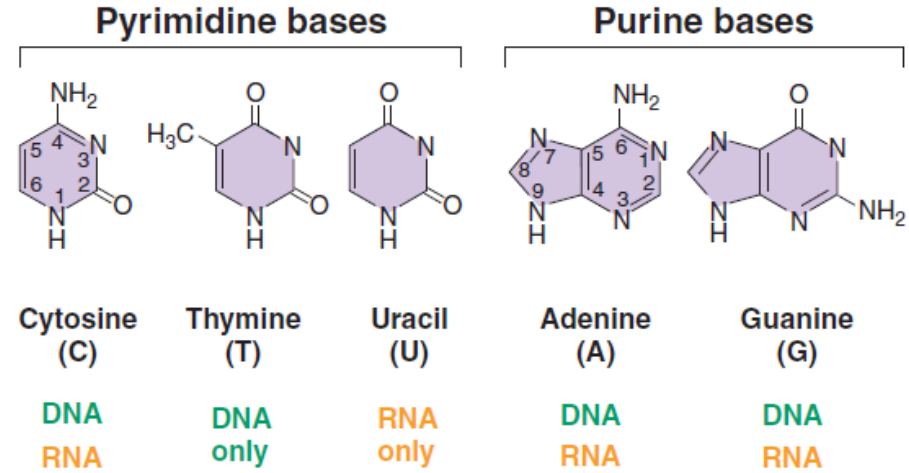
Moleküler Mikrobiyoloji

- Yaşamın şemesi : Bakteriyal Genomun Yapısı
- Makromoleküller ve Genler
- Genetik bilginin fonksiyonel birimi **gen** dir. Mikroorganizmalar da dahil bütün canlılar genlere sahiptirler. Fiziksel olarak, kromozomlar üzerinde bulunan genler veya büyük moleküler yapılar genellikle **genetik elemanlar** olarak kabul edilir. Bu elemanlar hücre veya virüsler içinde bulunur ve **genomun** tamamını oluştururlar.

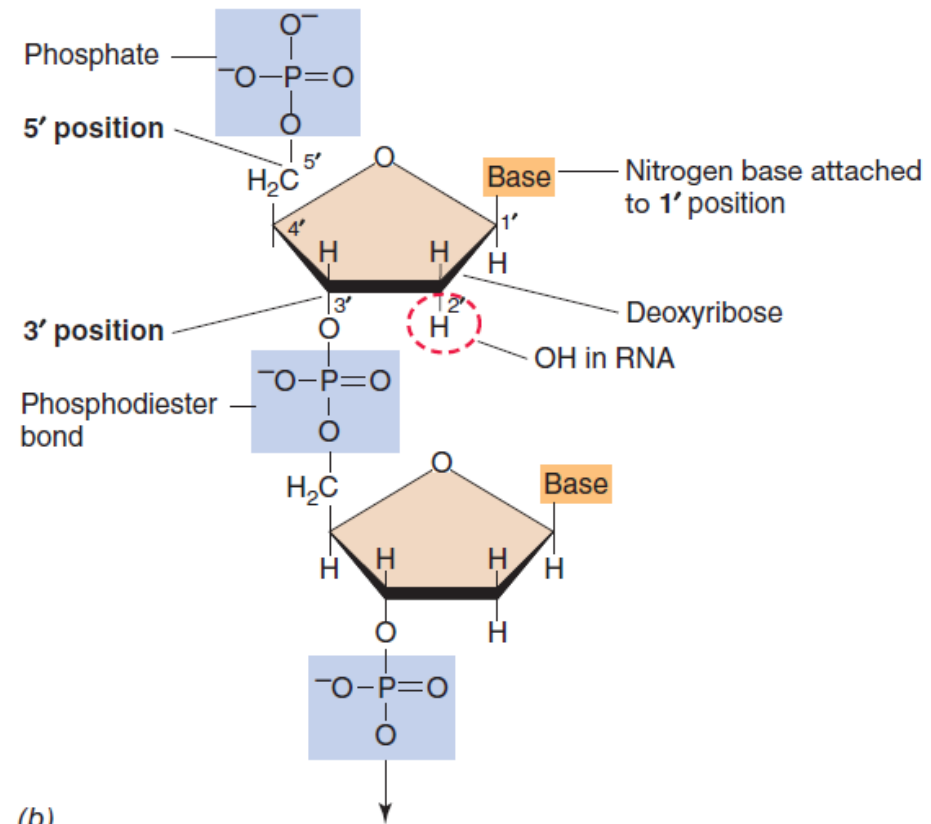
- Genetik bilgi hücre içerisinde DNA ve RNA *nükleik asitlerinde* saklıdır. Hücrede **deoksiribonükleik asit (DNA)** genetik bilgiyi taşırken **ribonükleik asit (RNA)** ise aracı bir molekül olarak bu genetik bilgiyi amino asit dizileri şeklinde proteinlere dönüştürür.
- Nükleik asit monomerlerine **nükleotit** bunların oluşturduğu DNA ve RNA'ya polinükleotit adı verilir.
- Bir nükleotit 3 bileşenden oluşur; Pentoz şeker(Riboz RNA'da, Deoksiriboz DNA'da), bir azot bazı ve bir molekül fosfattan(PO_4^{-3}) oluşur.

- Genel olarak DNA ve RNA yapıları birbirine benzer. Azot bazları olan **pürinler** iki bileşik heterosiklik halka, **pirimidinler** ise tek halkalı altı üyeli bir heterosiklik halka içerir. Guanin adenin ve sitozin hem DNA hem RNA da bulunur. DNA da timin yerine RNA da urasil bulunur.
- Azot bazı ile şekerlerin bağlanmasına **nükleozit** adı verilir, çünkü fosfatı eksiktir.
- Nükleotitler, nükleozite bir veya birden fazla fosfatın eklenmesi ile oluşur.

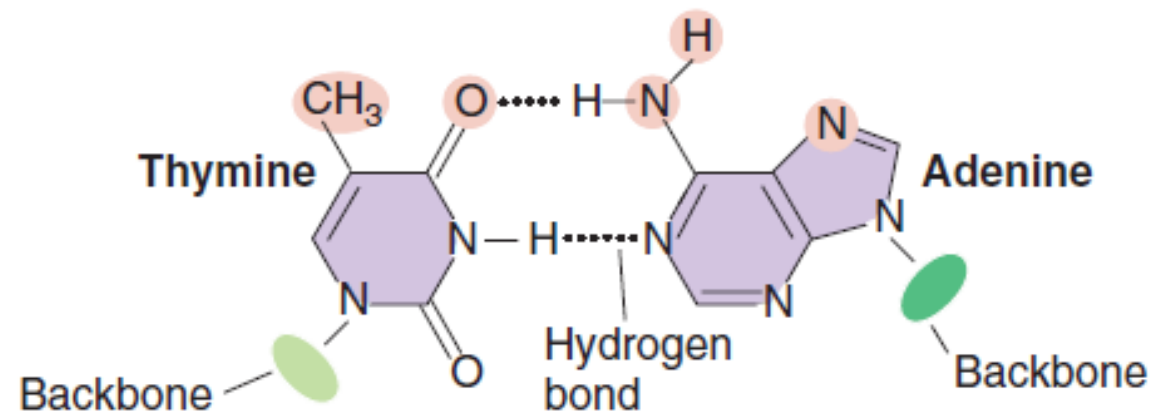
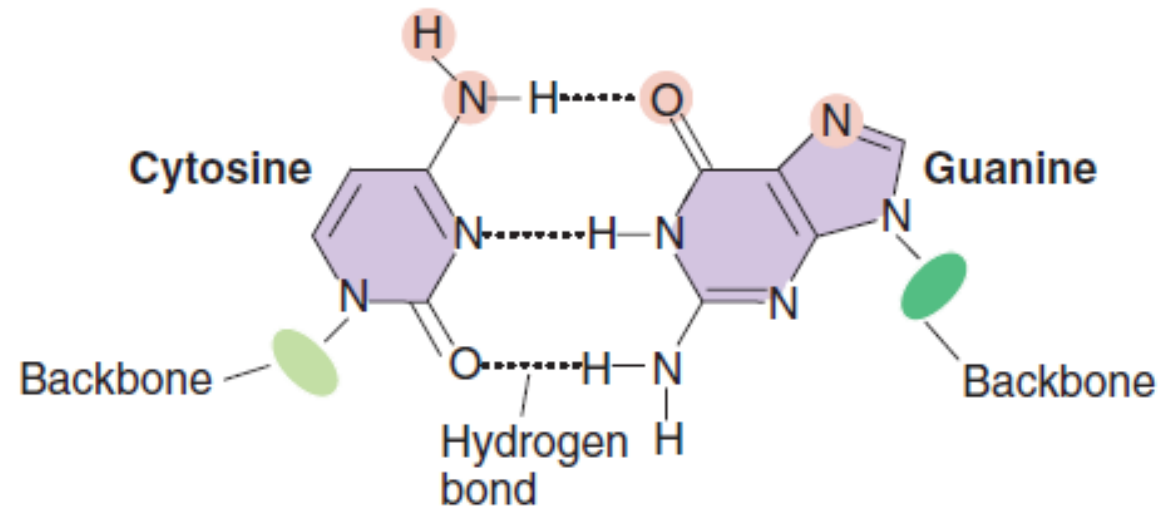
- **Nükleik asitler: DNA ve RNA**
- Nükleik asit omurgası, şeker ve fosfat moleküllerinin tekrarlayan bir polimeridir. Nükleotitler biribirine şekerin 3' karbonu ile bir sonraki şekerin 5' karbonu arasında fosfat bağlarıyla kovalent olarak bağlanır. Fosfat bağları iki şeker molekülünü ester bağları ile bağladığından **fosfodiester bağı** olarak adlandırılır.



(a)



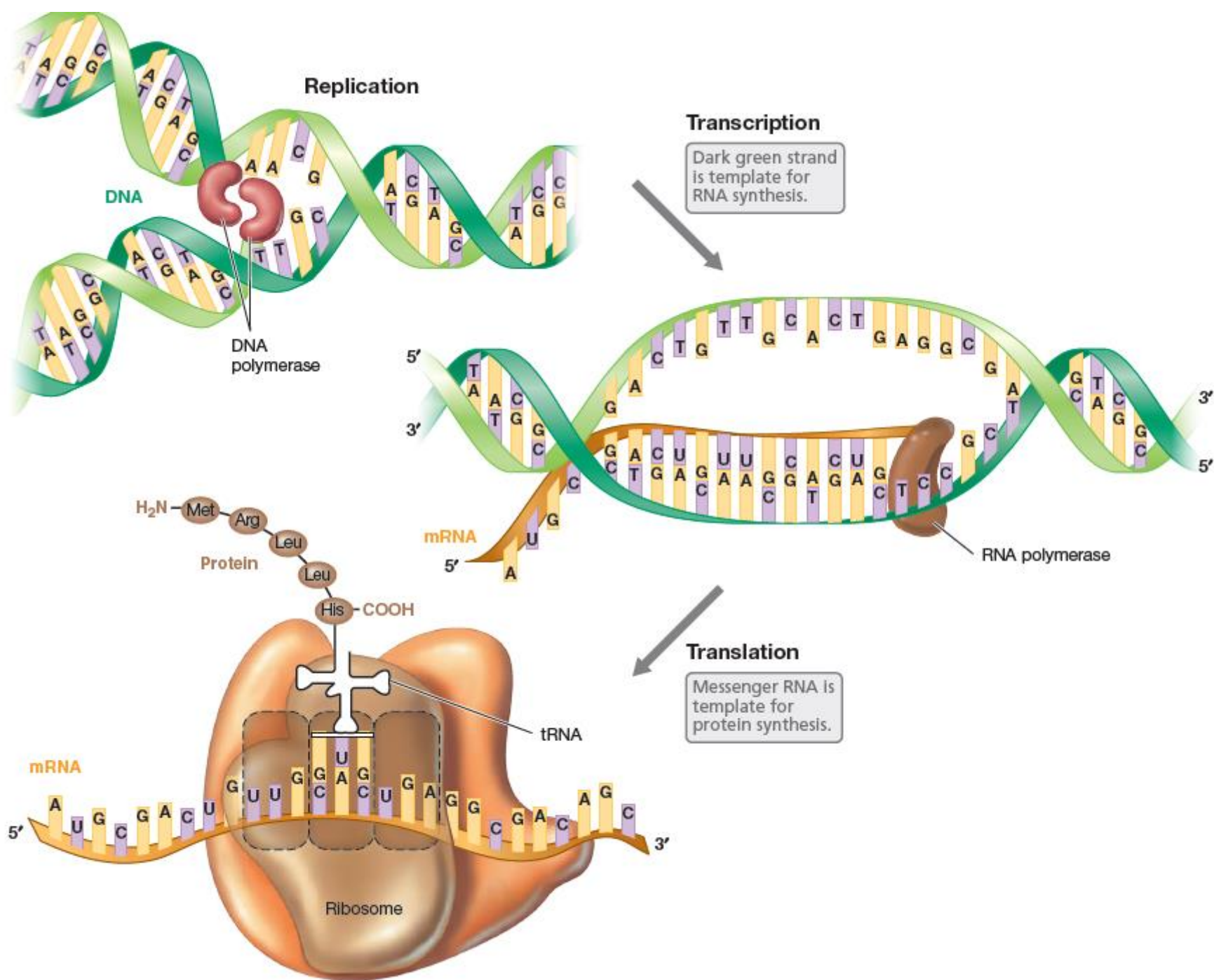
- Hücre genomunu oluşturan DNA *çift ipliklidir*. Bazlar Yanyana geldiklerinde pürin bazları pirimidin bazları ile hidrojen bağı yapar. hidrojen bağları oldukça kararlı olup guanin (G) sitozin(C) ve adenin (A) timin (T) ile birbirine kararlı bir şekilde birbirine bağlanır. Genler bu yönden komplementer olarak adlandırılır.



- **Genler ve Bilgi Akışı Basamakları**

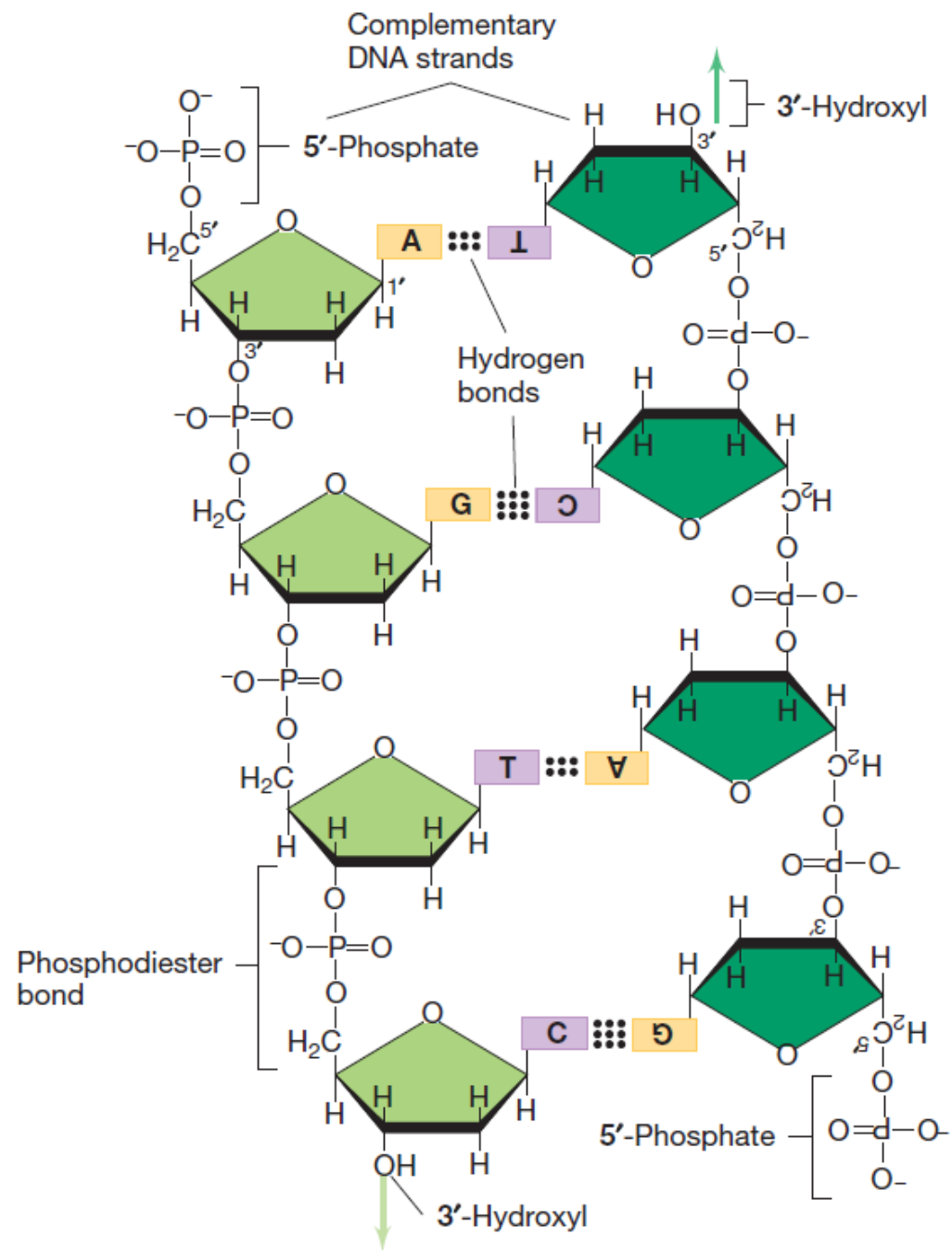
- Gen ekspresyonunda DNA'da saklanan bilgi ribonükleik aside aktarılır. Protein sentezinde 3 adet RNA görev yapar. **Mesajcı RNA (mRNA)** tek iplikçikli olup DNA'daki bilgiyi protein sentezi makinası olan ribozoma taşır. **Taşıyıcı RNA'lar (tRNA)** ise RNA nükleotit dizilerindeki genetik bilginin amino asit dizileri şeklinde dönüştürerek protein olarak tanımlanmasını sağlar. **Ribozomal RNAlar** ribozomun hem yapısal birimi hemde önemli katalitik birimidir.

- Genetik bilginin akışı 3 aşamada gerçekleşir:
- **1. Replikasyon:** Replikasyon sırasında DNA çift iplikçığı iki katına çıkar iki yeni kopyası yapılır. replikasyon DNA polimeraz adı verilen bir enzim tarafından gerçekleştirilir.
- **2. Transkripsiyon:** DNA daki genetik bilginin RNA'ya aktarılmasına transkripsiyon denir. Transkripsiyon RNA polimeraz adı verilen bir enzim yardımı ile yapılır.
- **3. Translasyon:** mRNA daki genetik bilginin kullanılarak protein sentezlenmesi translasyon olarak adlandırılır.



- Ökaryotlarda herbir genden tek bir mRNA transkribe edilirken prokaryotlarda ise tek bir mRNA molekülü birden fazla genin genetik bilgisini taşıyabilir. Bunun anlamı birden fazla gen kodlayan genetik bilgiye sahip olmasıdır.
- Genlerin baz dizileri le polipeptidlerin amino asitleri arasında doğrusal bir haberleşme mevcuttur.
- mRNA molekülü üzerinde üç baz grubu bir amino asidi kodlar ve her bir üçlü baza **kodon** adı verilir. Kodonlar ribozomlarda amino asit dizilerine çevrilir., tRNA ve yardımcı proteinler *translasyon faktörleri* olarak adlandırılır.

- **İkili Sarmal**
- Bütün hücrelerde DNA dizileri koplementer iki polinükleotit dizisinden oluşur. Her bir adenin timin arasında iki guanin sitozin arasında 3 adet hidoroheba bağı mevcuttur.
- Oluşan iki zincirli moleküldeki iki zincir **antiparalel** bir şekilde düzenlenmiştir. Böylece soldaki zincir 5'-3' yönünde ilerlerken sağdaki zincir 3'-5' yönünde ilerlemektedir.



- **DNA molekülünün büyüklüğü ve Şekli**
- Bir DNA molekülünün büyüklüğü her bir moleküldeki nükleotit baz veya baz çiftlerinin büyüklüğü olarak ifade edilir. Böylece 1000 bazlık bir DNA molekülü bir kilo baz (kb) DNA içerir.
- Eğer DNA sarmalı ikili ise *1 kilobaz çifti (kbp)*'den bahsedilir. Böylece 5bin baz büyüklüğündeki bir iki sarmal DNA 5 kbp olacaktır. Escheria coli bakterisi kromozomunda yaklaşık 4640 kbp DNA'ya sahiptir. Genom sayısı mega baz çifti (Mbp) terimi kullanılır ve milyon baz çiftini ifade eder. E.coli genom 4.64 mb'dir.

- **Genetik Elementler: Kromozomlar ve Plazmitler**

- Tipik bir prokaryot hücre tüm genleri yada birçok geni hücre içinde bulunduran bulunduran tek bir (veya çok) kromozoma sahiptir. Genel bir kural olarak prokaryotlarda tekbir kromozom bulunmasına rağmen son zamanlarda bir kaç prokaryotik canlıda iki veya daha fazla kromozom saptanmıştır. Genetik elementler olan **plazmitler** kromozomdan bağımsız olarak replike olurlar. Plazmitlerin büyük bir çoğunluğu çift zincirli halkasal bazıları ise doğrusaldır. Plazmitler kromozomlardan çok daha küçüktür.

- **Hareketli elementler (transpozonlar)** DNA parçaları olup DNA'da bir bölgeden başka bir bolgeye veya bir DNA'dan başka bir DNA molekülünün bir bölgesine hareket edebilir.
- Hareketli elementler sadece DNA yapısında bulunabilir. Taşınabilir elemanlar kromozomlar plazmitler virus genomları ve başka DNA molekülüne eklenebilirler.

- ***Escheria coli* kromozomundadaki Genlerin Düzenlenmesi**
- E.coli de dahil bir çok bakteri genomunun dizi analizleri tamamlanmış gen sayıları ve bölgeleri açığa kavuşturulmuştur. Gen yapısının DNA dizi analizleri yapılmıştır. 4639675 bp taşıyan E.coli kromozomu birkaç bin genden oluşmuştur.
- Gen harita mesafeleri 100 kbp DNA olarak gösterilmiştir. Genomik analizler muhtemelen 4288 proteini kodlayan genin olduğunu bunun toplam genom büyüklüğünün %88'ine karşılık geldiğini ortaya koymuştur. Genomun %1'i tRNA ve rRNA ları kodlamaktadır.

- Bu durum, ökaryotik genomlarınınin tam zıttıdır. Örneğin insan genomunda DNA nın sadece %3'ü aktif olarak proteinleri kodlamaktadır. Ökaryotlarda kodlama dizileri arasındaki araya giren «ekstra» DNA ile (bunlar transkripsiyon sonrası uzaklaştırılır.) ve yüzlerce kez tekrarlanan gen dizileri mevcuttur.

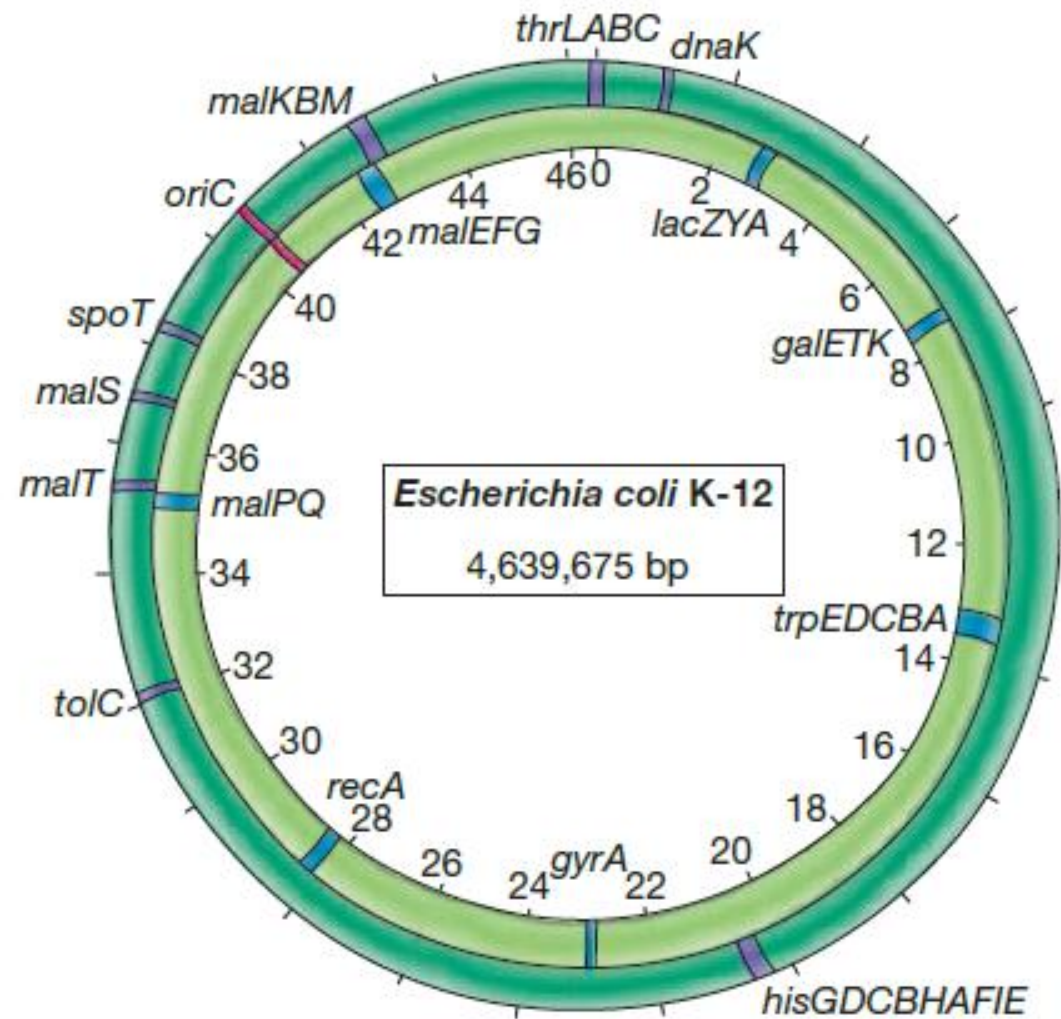


Figure 4.8 The chromosome of *Escherichia coli* strain K-12. Map distances are given in 100 kilobases of DNA. The chromosome contains 4,639,675 base pairs and 4288 open reading frames (genes). Depending on the DNA strand, the locations of a few genes and operons are indicated. Replication (Figure 4.3) proceeds in both directions from the origin of DNA replication, *oriC*, indicated in red.

- E.colide enzimleri kodlayan genleri genetik haritaları aynı metabolik yollarda görevli olan genlerin çoğunlukla bir küme halinde olduğu görülmüştür. Örnek verilecek olursa gal, trp ve his gen kümeleri. Bu gen grupları herbiri farklı proteinleri kodlayan tek bir mRNA'nın transkribe edildiği **operonu** oluştururlar. E.coli kromozounda tespit edilen 2584 genin %70'nin bilinen tüm transkripsiyonel birimlerin tek bir gen ile kontrol edildiği sadece %6 sinin 4 veya daha fazla gen içeren operonlarla ilişkili olduğu gösterilmiştir. Prokaryolardakinin aksine ökaryotlarda operon yoktur.

- **Plazmitlerin genel prensipleri**

- Prokaryotik hücrelerin kromozomun dışındaki ekstra genetik elementler, özellikle plazmitler içermektedir. Plazmitler replikasyon orjinine sahip olmalarına rağmen kromozom üzerinde kodlanmış replikasyon enzimleri ile replike olur. Plazmitlerin çoğu büyüme için tüm şartlarda gerekli olan genleri nadiren içerdiklerinden kullanılmazlar. Fakat bunun için gerekli olan esas genler kromozom üzerinde bulunur. Virüslerden farklı olarak plazmitler hücre dışı forma ve hücre içerisinde serbest DNA'ya sahip değildir. Binlerce farklı plazmit bilinmektedir.

- Hemen hemen bilinen tüm plazmitler çift iplikçikli DNA dan oluşmaktadır. Çoğunluğu halkasal formda olmasına rağmen doğrusal plazmitlerde bilinmektedir. Hücrelerden izole edilen plazmitlerin büyük çoğunluğu süper sarmal özellikte olup hücreler içerisinde kompakt formdadır.
- Hücresel replikasyon enzimleri aynı zamanda plazmitlerinde replikasyonunu gerçekleştirirler. Plazmitler tarafından kodlanan genler replikasyonun başlamasını, plazmitin ikiye replike olarak iki yeni hücre dağıtımını yönetir.

- **Plazmit tipleri**

- Plazmitler konak hücrenin temel fonksiyonlarını kodlamakla birlikte taşıdığı bazı genler ile konak hücrenin hücre fizyolojisini etkileyebilir. Plazmitlerin en yaygını ve en iyi çalışanı antibiyotiklere karşı diren kazandıran R plazmitidir. Genel olarak direnc genleri tarafından kodlanan proteinleri antibiyotiklerin inaktivasyonunu sağlar ve hücreyi diğer bazı mekanizmalara karşı korur.

- Patajonik mikroorganizmalar değişik karakteristiklere sahiptir. Ve bu sayade konak üzerinde kolonize olup enfeksiyonu gerçekleştirirler. Patojelerin iki belirgin virulans (hastalık yapma yetisi) karakteri cogunlukla plazmidlerde kodlanır. 1. patojenin spesifik olarak dokuya tutunması ve kolonize olma yeteneği. 2. konak hücreye zarar veren toksin, enzim ve diğer moleküllerin üretilmesi.
- Çoğu bakteri ürettikleri proteinlerle kendine yakın türleri hatta aynı türün farklı sushlarını bile inhibe etmekte veya öldürmektedir. Bu ajanlar antibiyotiklerin analogları olup **bakteriyosinler** olarak adlandırılır.

- Bakteriyosinler ve proteinler için gerekli olan genler genellikle plazmit üzerinde bulunur. Örneğin E.coli ürettiği kolisin olarak adlandırılan bakteriosin duyarlı hücrelerin yüzeylerindeki reseptörlere bağlanarak zar fonksiyonlarını tahrip eder ve hücreyi öldürür.
- Bazı durumlarda plazmitlerin kodları bakterinin bulunduğu ekolojik özelliklere dayanır. Örneğin rhizobium kök nodullerinde azotu tutabilmesi için bitki ile Rhizobium arasındaki ilişkinin belirlenmesi için özel plazmit fonksiyonu gerekir.

Table 4.2 Examples of traits conferred by plasmids in prokaryotes

<i>Traits</i>	<i>Organisms</i>
Antibiotic production	<i>Streptomyces</i>
Conjugation	Wide range of bacteria
Metabolic functions	
Degradation of octane, camphor, naphthalene	<i>Pseudomonas</i>
Degradation of herbicides	<i>Alcaligenes</i>
Formation of acetone and butanol	<i>Clostridium</i>
Lactose, sucrose, citrate, or urea utilization	Enteric bacteria
Pigment production	<i>Erwinia</i> , <i>Staphylococcus</i>
Gas vesicle production	<i>Halobacterium</i>
Resistance	
Antibiotic resistance	Wide range of bacteria
Resistance to toxic metals	Wide range of bacteria
Virulence	
Tumor production in plants	<i>Agrobacterium</i>
Nodulation and symbiotic nitrogen fixation	<i>Rhizobium</i>
Bacteriocin production and resistance	Wide range of bacteria
Animal cell invasion	<i>Salmonella</i> , <i>Shigella</i> , <i>Yersinia</i>
Coagulase, hemolysin, enterotoxin	<i>Staphylococcus</i>
Toxins and capsule	<i>Bacillus anthracis</i>
Enterotoxin, K antigen	<i>Escherichia coli</i>

- **Genetik Bilginin Aktarılması: DNA replikasyonu**
- Ana hücreden yavru hücreye genetik bilginin aktarılması için DNA replikasyonunun hatasız bir şekilde gerçekleşmesi gerekmektedir.
- **Kalıplar ve Enzimler**
- DNA hücrelerde tamamlayıcı baz eşleşmesiyle ikili bir sarmal şeklinde bulunur. Eğer Dna iki sarmalı açılırsa her biri eski zincirin tamamlayıcısı olarak yeni bir zincir sentezlenir. Bu yüzden replikasyon **semi-konsarvatif** dir. Bunun manası oluşan ikili sarmalın zincirlerinden bir yeni sentezlenen zincirken diğeri var olan eski zincirdir.

- Kopyalanan DNA zinciri kalıp (template) adını alır ve DNA replikasyonunda eski zincir yeni sentezlenen (tamamlayıcı zincir) için bir kalıp olarak iş görür.

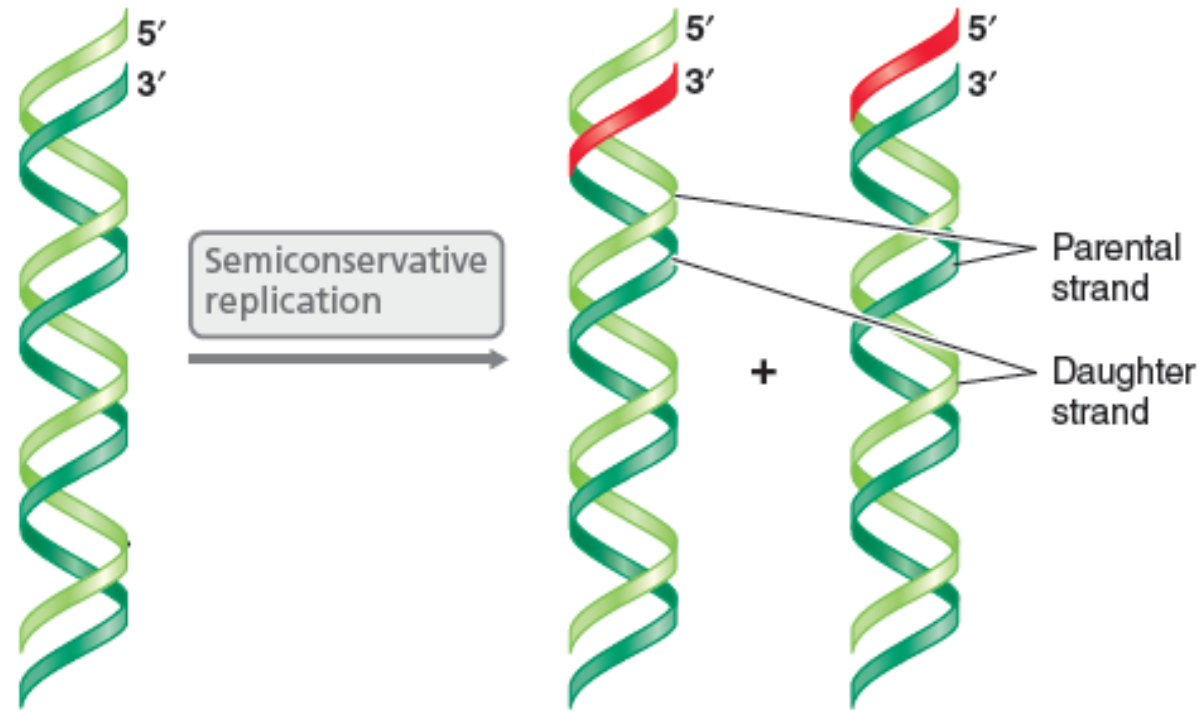


Figure 4.11 Overview of DNA replication. DNA replication is a semiconservative process in all cells. Note that the new double helices each contain one new daughter strand (shown topped in red) and one parental strand.

- DNA replikasyonu daima 3' ucundan 5' ucuna doğru ilerler yeni gelen nükleotitidin 5'fosfatı daha önce ilave edilmiş 3' hidroksil ine tutturulur.
- Nükleotitlerin eklenmesini katalizleyen enzimler, DNA polizmerazlar olarak adlandırılır. Her biri özel fonksiyona sahip bunun gibi çok sayıda enzim replikasyonda rol oynar. Eshericia coli bakterisinde kromozomal DNA'nın replikasyonunda görevli 5 farklı enzim vardır. Bunlar; DNA polimeraz I,II,III, IV ve V enzimleridir. DNA polimeraz III(DNA pol III) kromozomal DNA nın replikasyonunda görev alan ilk enzimdir.

- Tüm bilinen DNA polimerazlar DNA'yı 5'→3' yönünde sentezler. Bununla birlikte bilinen DNA polimerazlardan hiç biri yeni bir zincir sentezini başlatmaz. Bu enzimlerin hepsi sadece daha önce var olan 3'-OH grubuna nükleotid ekleyebilir. Bu yüzden yeni bir zincirin başlayabilmesi için bir **primer**in bulunması zorunludur. Primer, DNA polimeraz tarafından ilk nükleotidin eklenebileceği bir nükleik asit molekülüdür. Çoğu durumlarda bu primer DNA yerine kısa bir RNA zinciridir.

- İkili sarmal replikasyonun başlangıcında açıldığı zaman RNA polimerize edici bir enzim RNA primerinin oluşmasını katalizler. **Primaz** olarak adlandırılan bu enzim kalıp DNA'yı baz eşleşmesiyle tamamlayan kısa bir RNA zinciri sentezleyerek primer sentezini sağlar. Bu RNA polimerinin uzayan ucunda DNA polimerazın ilk nükleotidi ekleyebileceği bir 3-OH grubu vardır. Bu yüzden zincirin uzaması RNA yerine DNA şeklinde olur..

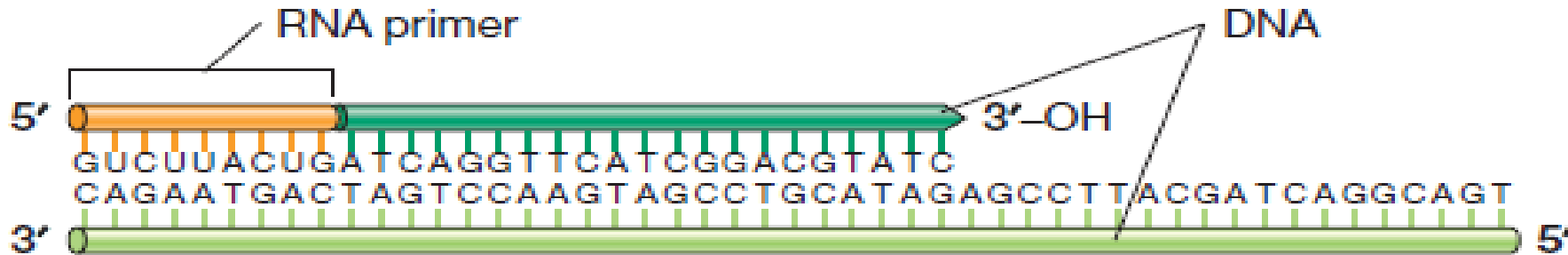


Figure 4.13 The RNA primer. Structure of the RNA–DNA hybrid formed during initiation of DNA synthesis. Orange depicts the RNA primer.

- **Replikasyon Çatalı**

- DNA replikasyonu ile ilgili detaylı bilgilerin büyük bir bölümü E.coli bakterisi ile ilgili yapılan çalışmalardan elde edilmiştir.

- **DNA sentezinin başlaması**

- DNA polimeraz yeni DNA sentezi yapmadan önce DNA'nın açıldığı ve replikasyon olduğu bu bölgeye **replikasyon çatalı** adı verilir. **DNA helikaz** enzimi iki sarmalın ATP harcayarak açılmasını sağlar ve kısa bir tek zincirli bölge oluşturur. Zincir haline gelen bölgelere tek zincire bağlanma proteinleri bağlanarak DNA zincirinin yeniden bağlanmasını engeller.

- Helikaz tarafından çift heliksin açılması ilerleyen replikasyon çatalının ön kısmında pozitif süper sarmal oluşur. Bunu engellemek için DNA giraz enzimi zincirin ileri kısımlarında oluşan pozitif süper sarmalın önüne geçebilmek için negatif süper sarmal oluşturarak rahatlatır.
- Bakteriler DNA sentezinin başlatıldığı (OriC) replikasyon orijini olarak adlandırılan kromozom üzerinde tek bir bölgeye sahiptir. Bu bölge spesifik 250 baz dizisinden oluşan replikasyon başlatma proteinlerinin özellikle DnaA proteinin bağlanabileceği bir bölgedir.

- Bu başlatma proteinleri bu bölgeye bağlanarak ikili sarmalın açılmasını sağlar. Sonra helikaz enzimi (Dna B olarak bilinir) helikaz yükleme (DnaC) yardımıyla orijinle birleşir. İki helikaz ters yöndeki zincirlere ters istikamette bağlanır. Daha sonra iki primeaz ve sonrasında iki DNA polimeraz enzimi helikazların arasında DNAYA yerleşir. Tek zincirli iki DNA da DNA replikasyonu başlatılır. Replikasyon ilerledikçe replikasyon çatalıda DNA üzerinde ilerler.

Table 4.3 Major enzymes involved in DNA replication in *Bacteria*

<i>Enzyme</i>	<i>Encoding genes</i>	<i>Function</i>
DNA gyrase	<i>gyrAB</i>	Replaces supercoils ahead of replisome
Origin-binding protein	<i>dnaA</i>	Binds origin of replication to open double helix
Helicase loader	<i>dnaC</i>	Loads helicase at origin
Helicase	<i>dnaB</i>	Unwinds double helix at replication fork
Single-strand binding protein	<i>ssb</i>	Prevents single strands from annealing
Primase	<i>dnaG</i>	Primes new strands of DNA
DNA polymerase III		Main polymerizing enzyme
Sliding clamp	<i>dnaN</i>	Holds Pol III on DNA
Clamp loader	<i>holA–E</i>	Loads Pol III onto sliding clamp
Dimerization subunit (Tau)	<i>dnaX</i>	Holds together the two core enzymes for the leading and lagging strands
Polymerase subunit	<i>dnaE</i>	Strand elongation
Proofreading subunit	<i>dnaQ</i>	Proofreading
DNA polymerase I	<i>polA</i>	Excises RNA primer and fills in gaps
DNA ligase	<i>ligA, ligB</i>	Seals nicks in DNA
Tus protein	<i>tus</i>	Binds terminus and blocks progress of the replication fork
Topoisomerase IV	<i>parCE</i>	Unlinking of interlocked circles

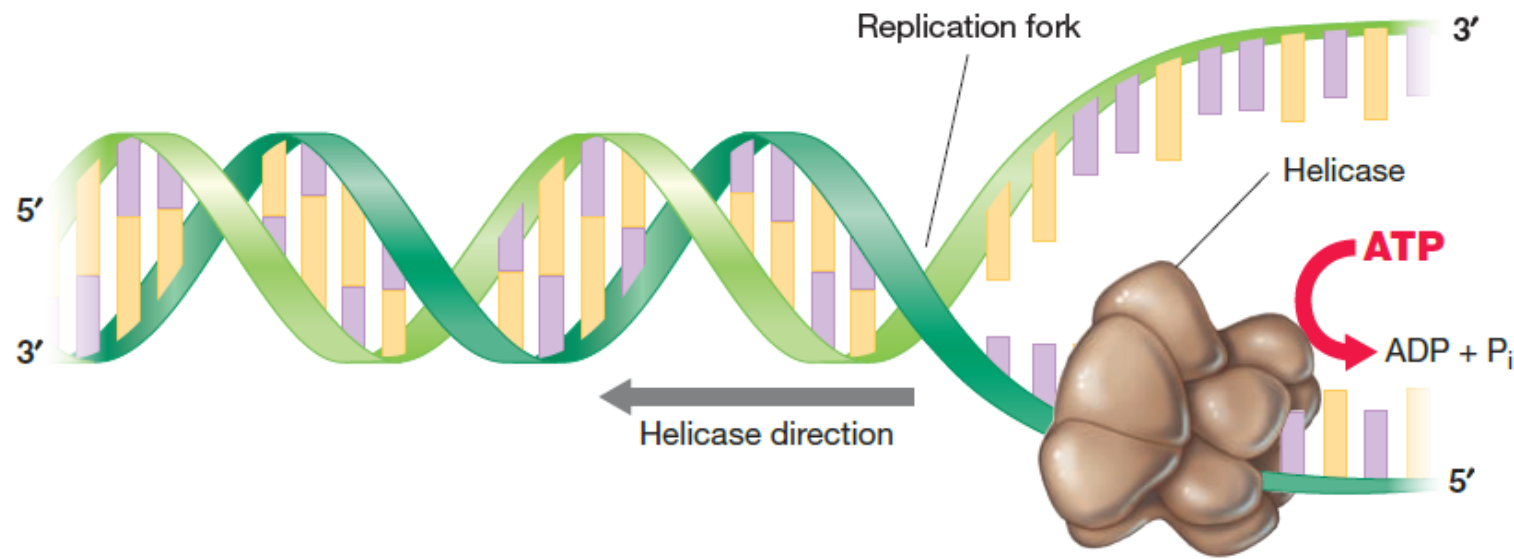


Figure 4.14 DNA helicase unwinding a double helix. In this figure, the helicase is denaturing or pulling the two antiparallel strands of DNA apart beginning from the right and moving to the left.

- **Sürekli ve Kesikli Zincirler**

- İki DNA zinciri arasında replikasyon yönünden önemli bir ayrım, replikasyonun devamlı olarak 5' den 3' ne yapılması gerçeğidir. Uzamanın 5'-PO₄⁻² den 3' -OH'e olduğu zincir **sürekli zincir** olarak adlandırılır. Bu DNA sentezi her zaman yeni bir nükleotitin eklenebileceği serbest bir 3'-OH ucu olduğundan sürekli olarak gerçekleşir. Fakat kesintili zincir olarak adlandırılan karşıt zincirde, DNA sentezi *kesintili* olur. Çünkü replikasyon çatalında yeni bir nükleotidin ekleneceği 3'-OH grubu yoktur. 3'ucu replikasyon çatalında uzak uçta ve zıt yöndedir.

- Bu yüzden kesintili zincirde DNA pol III ün çalışabilmesi için primaz tarafından defalarca sentezlenen serbest 3'-OH grubu oluşturulur. Sonuç olarak kesintili zincir *okazaki fragmentleri* olarak adlandırılan kısa segmentler oluşur. Daha sonra bu kesintili zincir segmentleri birleştirilerek sürekli DNA zincirini oluşturur.

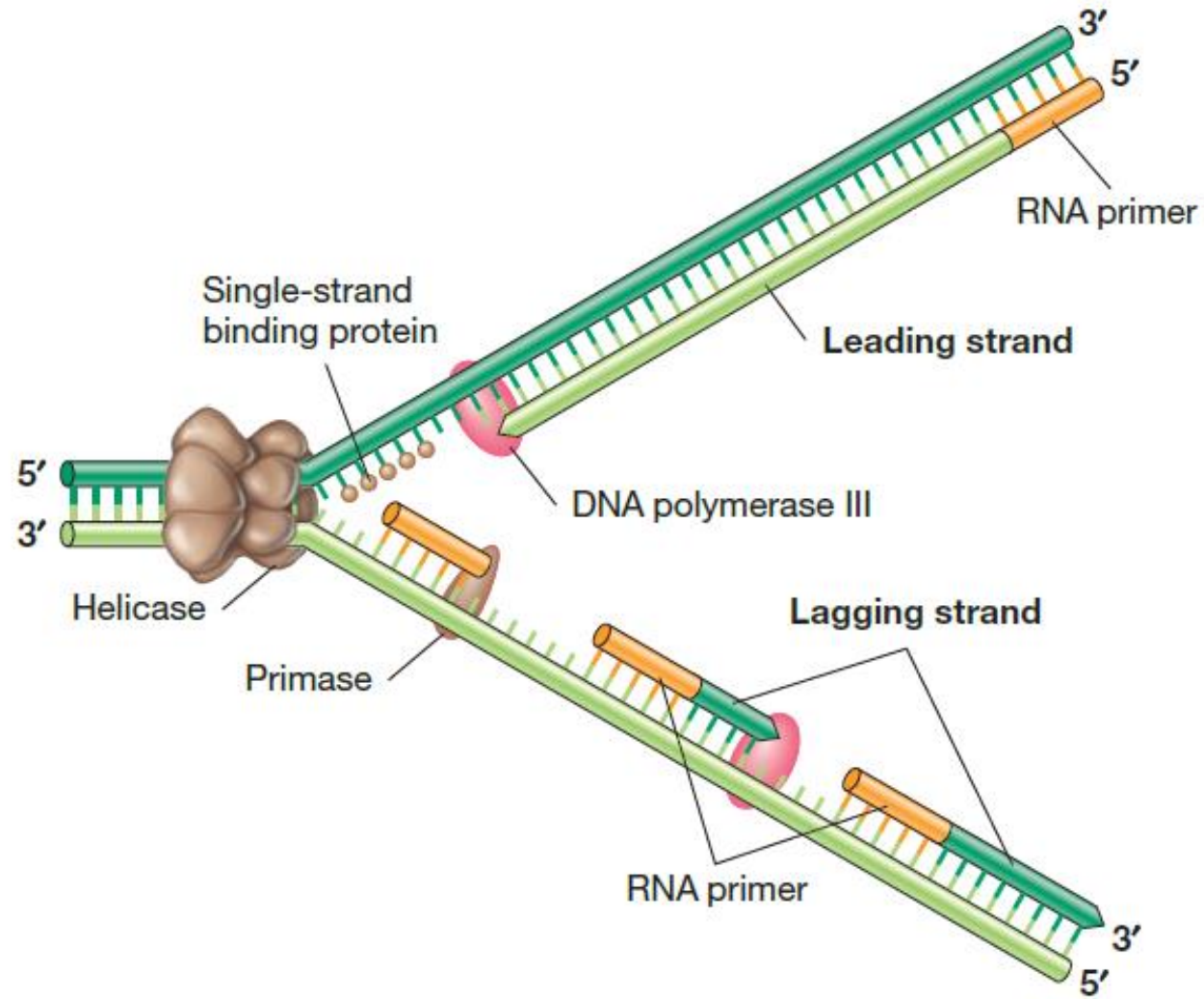


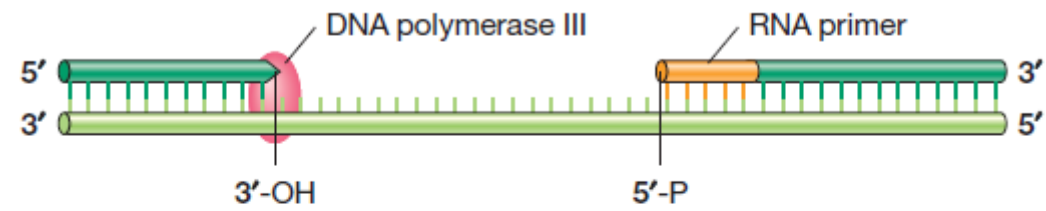
Figure 4.15 Events at the DNA replication fork. Note the polarity and antiparallel nature of the DNA strands.

<https://www.youtube.com/watch?v=4bjerYxOTbU>

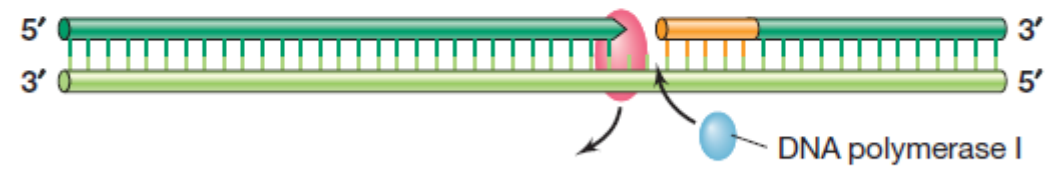
- **Yeni DNA zincirlerinin sentezlenmesi**

- Primaz primeri sentezledikten sonra, DNA pol III ile yer değiştirir. Bu enzim sentezi yapan polimeraz öz bileşeni ile birlikte bir kaç proteinden oluşan bir kompleksdir. Polimeraz moleküllerinin her biri DNA kalıp zinciri üzerinde polimerazı tutmak için kaygan bir tutucu olarak iş gören proteinlerdir. Sonuçta replikasyon çatalı her bir zincir üzerinde kayan iki polimeraz bileşenine sahiptir. Bununla birlikte, kayan tutucu kompleksinin bir tanesi iki kayan tutucunun DNA üzerinde tutunmasını sağlar. Kesik zincir üzerine bağlandıktan sonra DNA pol III aktivitesi bir sonraki kesikli zincire kadar nükleotitleri dizmeye devam eder bu noktada DNA pol III durur.

- Sentezde rol alan sonraki enzim olan DNA pol I birden fazla aktiviteye sahiptir. DNA pol I, DNA sentezlemenin yanı sıra var olan RNA primerlerini uzaklaştırıcı 5'→3' ekzonükleaz aktivitesine sahiptir. Primer uzaklaştırıldığı ve yeri DNA ile doldurulduğu zaman DNA pol I salınır. Son fosfodiester bağı DNA ligaz adı verilen bir enzim tarafından yapılır. Bu enzim 5'PO₄-2 ve 3' OH (DNA pol III'un yapamadığı)'a sahip olan DNA'lardaki kırıkları birleştirir ve DNA pol I ile birlikte DNA'nın tamirinde rol oynar.



(a)



(b)



(c)



(d)



(e)

- **İki Yönlü Replikasyon ve Replizom**

- Prokaryotik kromozomun halkasal olması replikasyon olayının hızı açısından fırsat yaratır. Escherichia coli de ve muhtemelen halkasal kromozom içeren prokaryotlarda DNA replikasyonu orjin noktasından iki yöne doğru olur. Böylece her kromozomda birbirine zıt yönde replike olan iki replikasyon çatalı mevcuttur. Bunlar birbirine iki TAU protein alt ünitesi ile tutunurlar. Halkasal DNA'da iki yönlü replikasyon teta yapıları olarak isimlendirilen özel yapının oluşmasını sağlar.

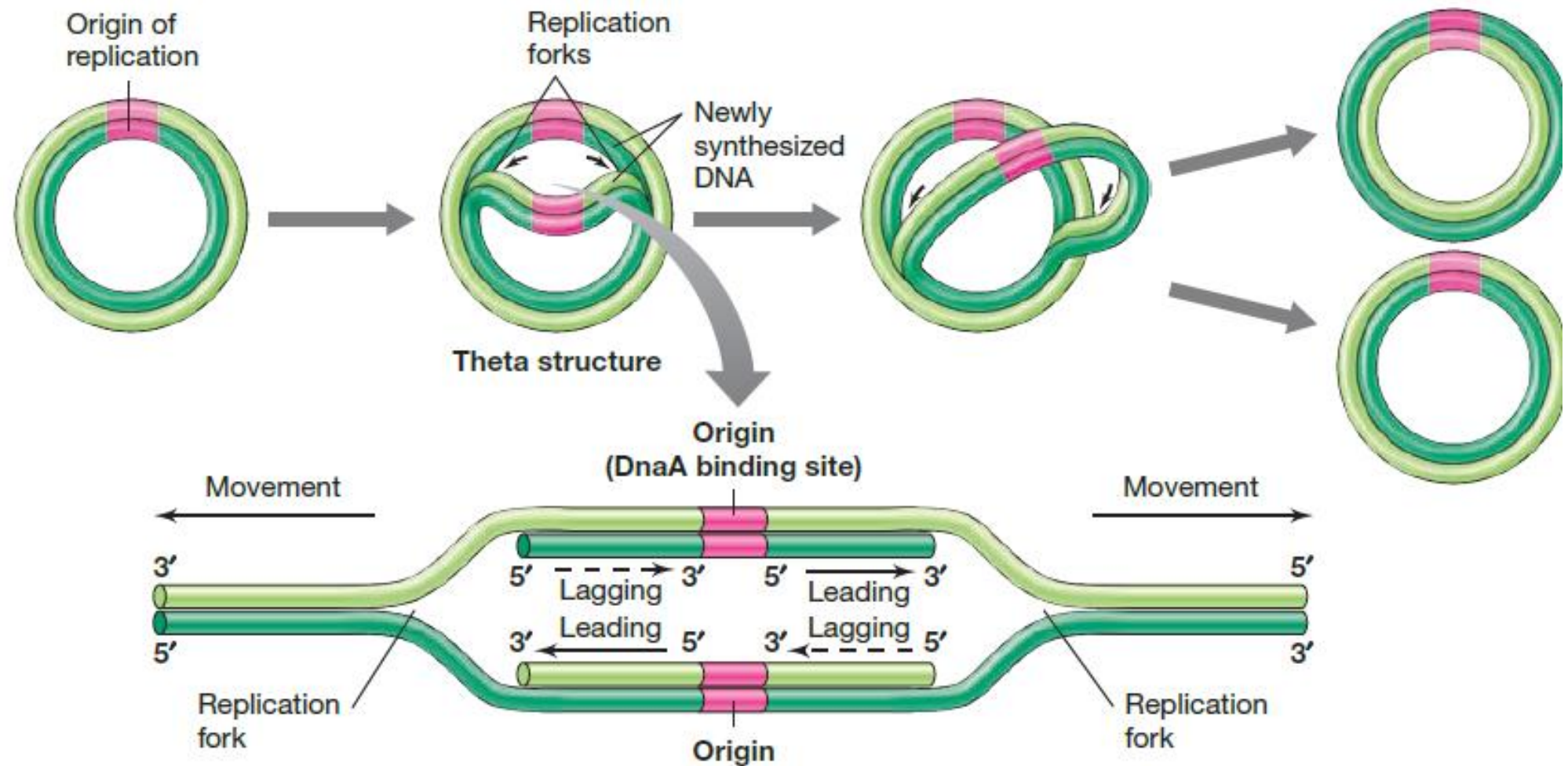


Figure 4.17 Replication of circular DNA: the theta structure. In circular DNA, bidirectional replication from an origin forms an intermediate structure resembling the Greek letter theta (θ). Inset shows dual replication forks in the circular chromosome. In *Escherichia coli*, the origin of replication is recognized by a specific protein, DnaA. Note that DNA synthesis is occurring in both a leading and a lagging manner on each of the new daughter strands. Compare this figure with the description of the replisome shown in Figure 4.18.

- **Replizom**

- Dna replikasyonu işleminde rol alan proteinler aşırı derecede dinamik olup bir araya geldiklerinde **replizom** adında büyük bir kompleks oluştururlar. DNA'nın kesintili zinciri dışarı doğru bir halka oluşturarak replizomun her iki zincirde rahatça ilerlemesine olanak verir. Bu yüzden replikasyon sırasında DNA polimeraz değil DNA hareket eder.
- Özet olarak replizom DNA pol III un yanı sıra çok sayıda anahtar protein içerir.
1.Süpersarmaları kaldıran DNA giraz;2.DNA'yı açan ve primer ekleyen DNA helikaz ve primaz 3. birbirinden ayrılan kalıp zincirlerin tekrar çift sarmal oluşturmasını engelleyen tek zincire bağlanma proteinleri.

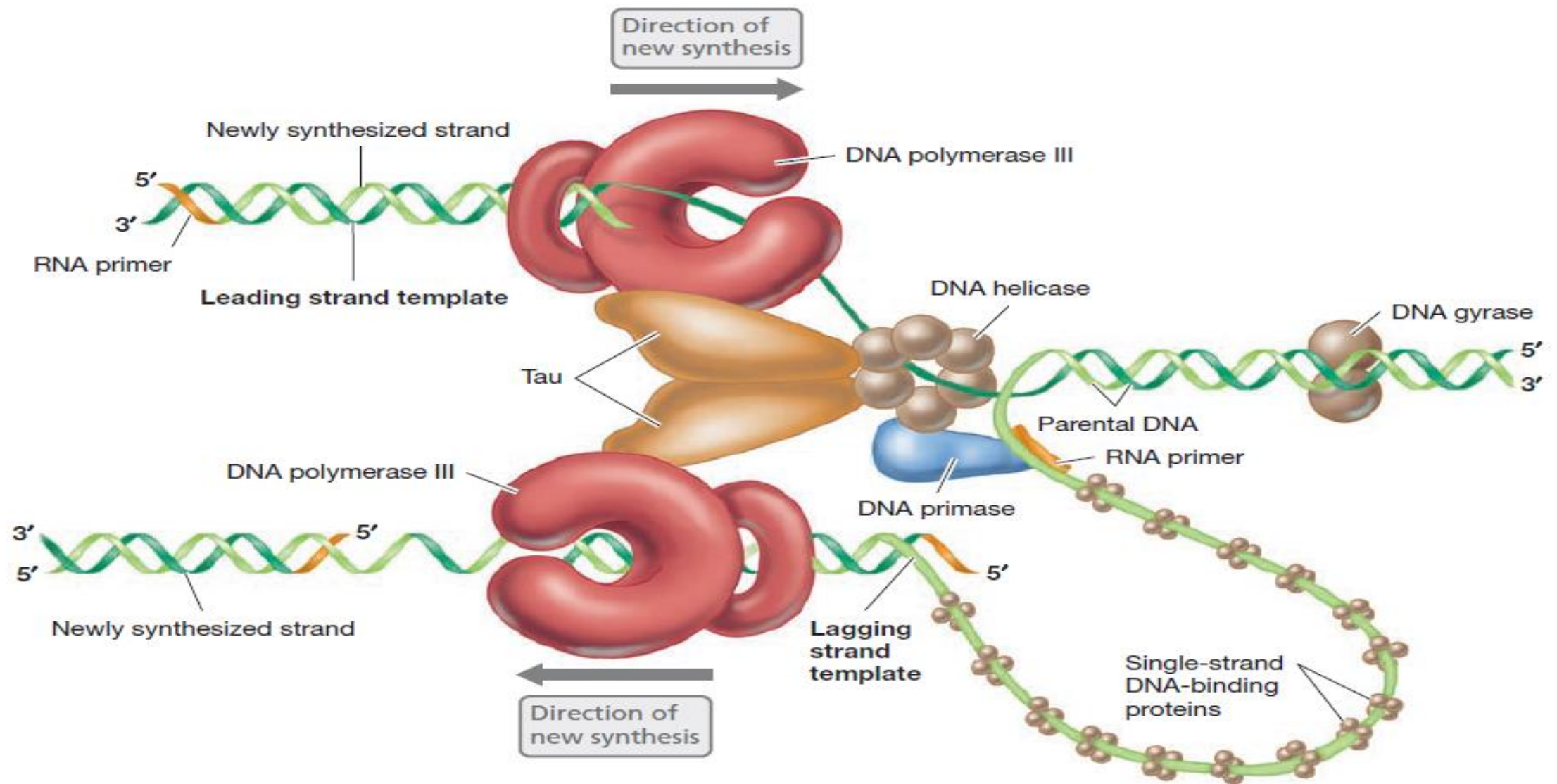
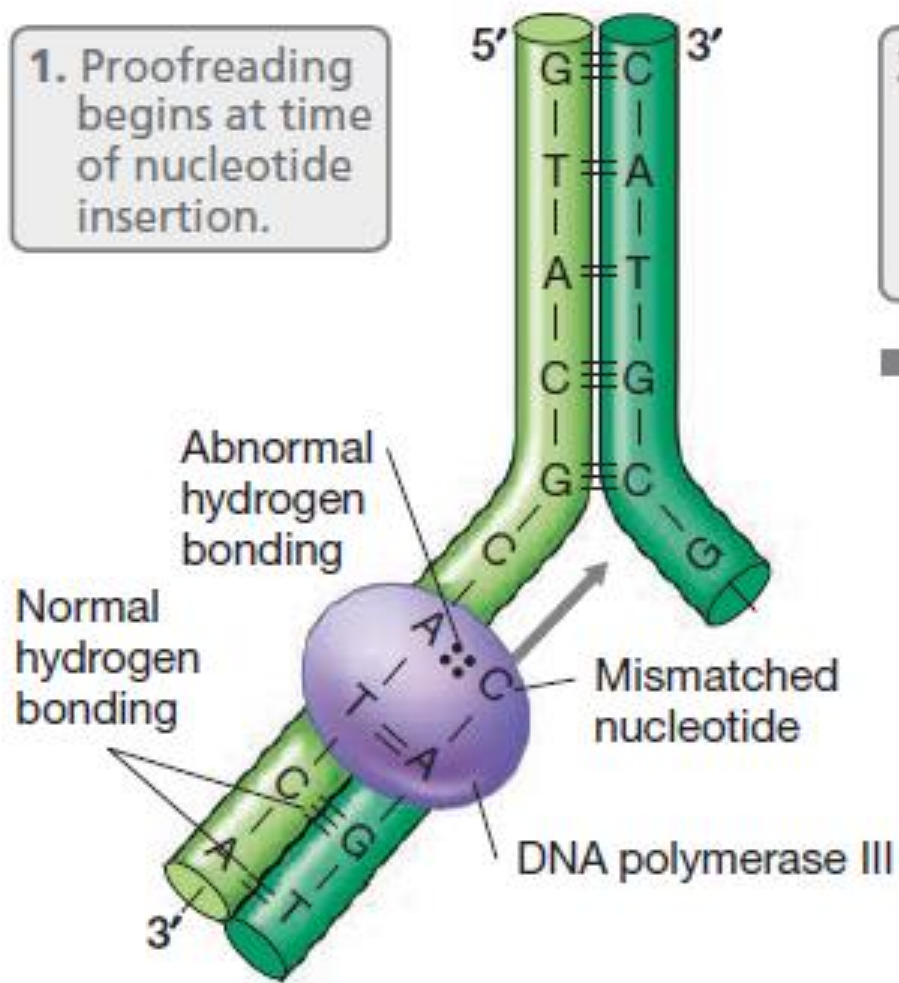


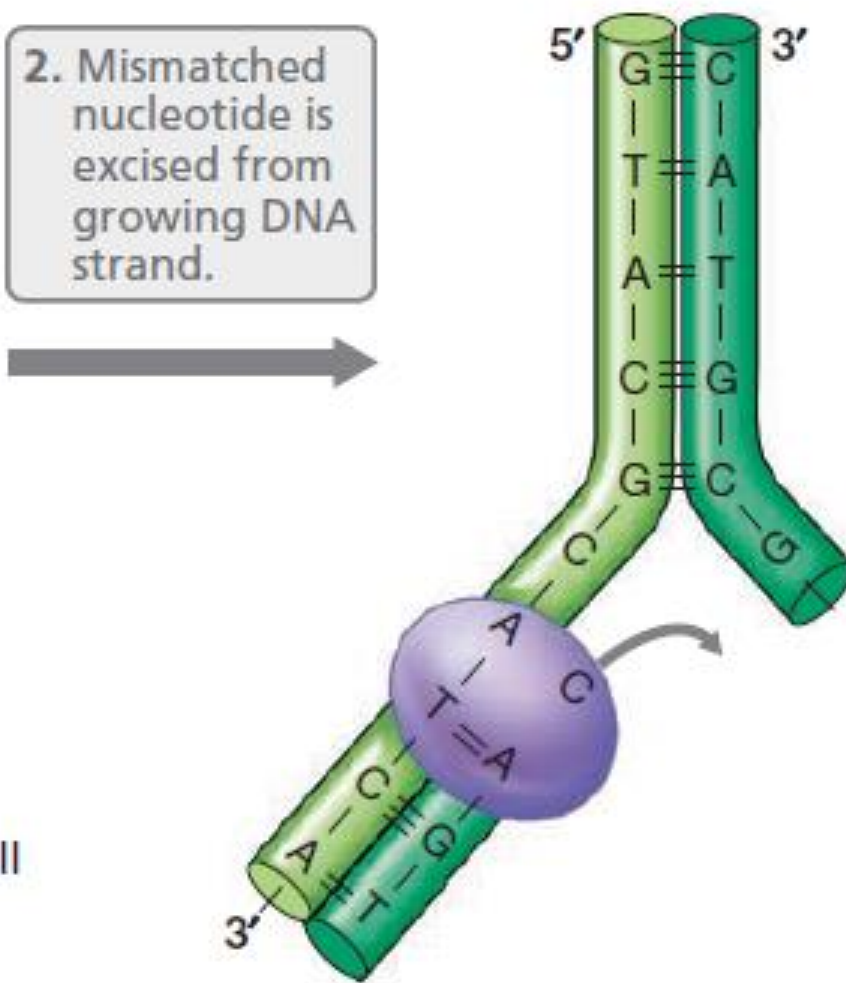
Figure 4.18 The replisome. The replisome consists of two copies of DNA polymerase III and DNA gyrase, plus helicase and primase (together forming the primosome), and many copies of single-strand DNA-binding protein. The Tau subunits hold the two DNA polymerase assemblies and helicase together. Just upstream of the rest of the replisome, DNA gyrase removes supercoils in the DNA to be replicated. Note that the two polymerases are replicating the two individual strands of DNA in opposite directions. Consequently, the lagging-strand template loops around so that the whole replisome moves in the same direction along the chromosome.

- **DNA replikasyonunun uygunluğu: düzeltme**
- DNA replikasyonunda hata oranı önemli derecede düşüktür. Buna rağmen eğer hata olursa hataların tespit ve tamir mekanizması vardır. DNA replikasyonundaki hatalar, Dna dizilerindeki değişimler yüzünden mutasyonlara sebep olur.
- Düzeltme aktivitesi baz eşleşmesinde yanlış eşleşme olması durumunda ve yanlış bazın eklenmesi durumunda ortaya çıkar. DNA pol I ve pol II enzimlerinin her ikisinde 3'=>5' ekzonükleaz aktivitesi göstererek yanlış eklenmiş nükleotitleri uzaklaştırır.

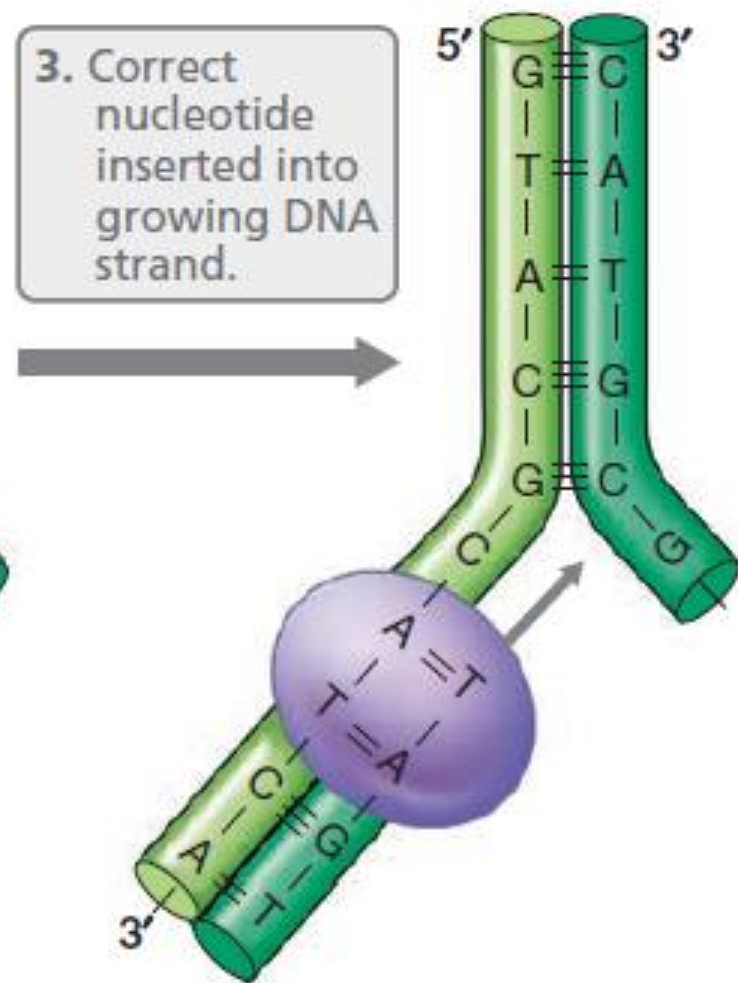
1. Proofreading begins at time of nucleotide insertion.



2. Mismatched nucleotide is excised from growing DNA strand.



3. Correct nucleotide inserted into growing DNA strand.



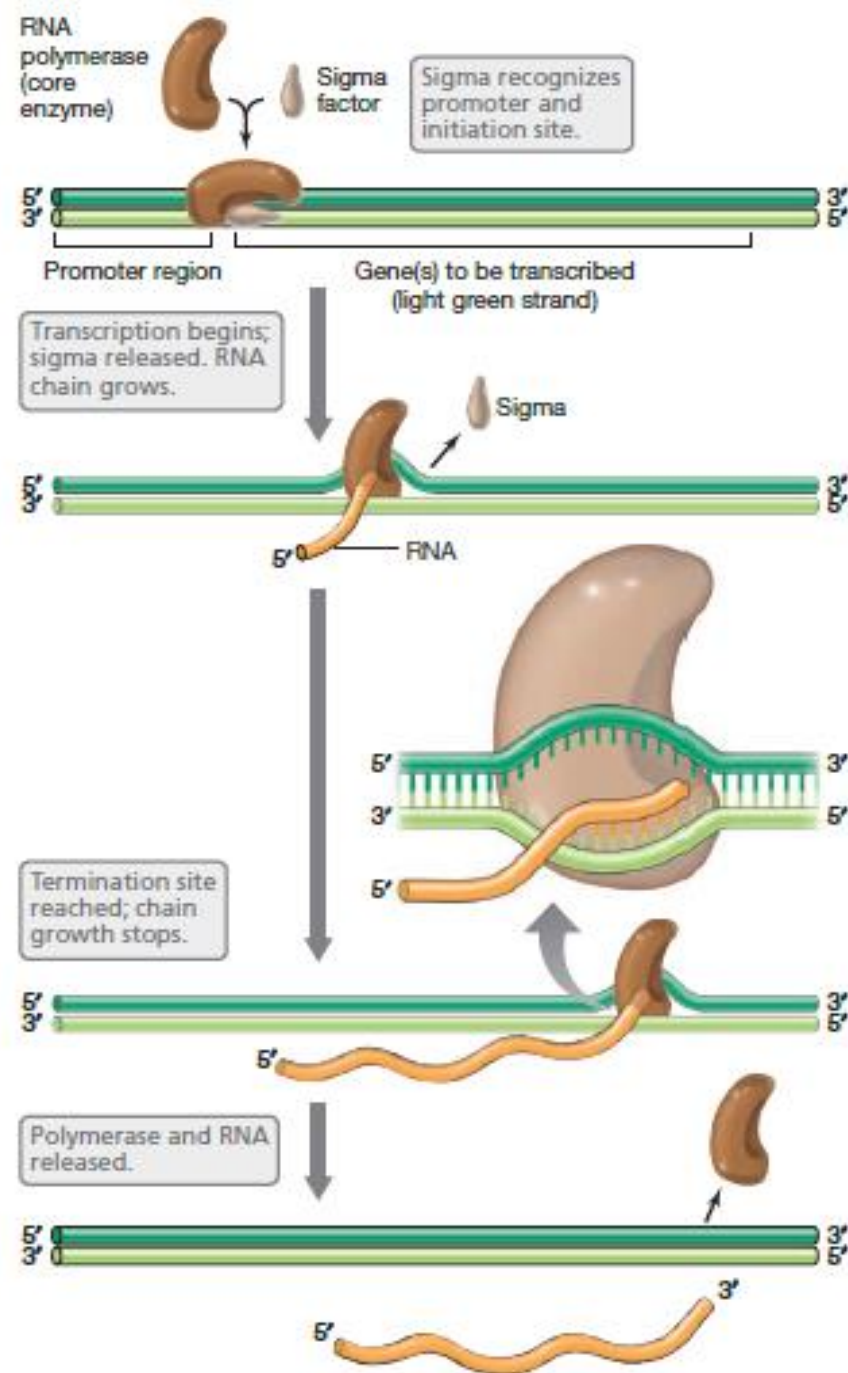
- **Replikasyonun sonlanması**
- Halkasal kromozomun üzerinde orjin noktasının karşı tarafındaki bölge *replikasyon sonlanma bölgesi* olarak adlandırılır. Sonlanma bölgesinde Tus adı verilen ve TER bölgeleri olarak adlandırılan çeşitli DNA dizileri mevcuttur. Dairesel kromozomun replikasyonu tamamlandıktan sonra iki dairesel kromozom bir zincir bağlanması gibi birbirine bağlıdır. Bu kromozomlar topoizomeraaz IV tarafından ayrılır.

- **RNA sentezi: Transkripsiyon**

- Transkripsiyon :DNA'yı kalıp olarak kullanılarak ribonükleik asit (RNA) sentezlenmesidir. RNA ve DNA kimyasında 3 anahtar farklılık vardır.
- 1. RNA deoksiriboz yerine Riboz şeker içerir
- 2. RNA timin yerine urasil içerir.
- 3. bazı viruslar haric RNA tek zincirlidir.

- **TRANSKRİPSİYON**

- Transkripsiyon RNA polimeraz enzimi tarafından gerçekleştirilir. DNA polimerazda olduğu gibi RNA polimerazda fosfodiester bağlarının oluşumunu katalizler. RNA sentezinin mekanizması DNA sentezinkine benzer. Bir RNA zincirinin uzaması sırasında daha önce yerleşmiş olan nükleotitdeki ribozun 3'-OH ucuna ribonukleotittrifosfat ilave edilir. Bu şekilde 5'=>3' yönünde uzama gerçekleşir. Yeni sentezlenen RNA zinciri transkribe edildiği DNA kalıp zincirine antiparaleldir.



- DNA, RNA yı kalıp olarak kullanır. Fakat herhangi bir gen için iki zincirden sadece bir tanesi transkribe edilir. DNA polimerazdan farklı olarak RNA polimeraz RNA iplikçığının sentezini kendi başlatır. Bunun için primer dizisine ihtiyacı yoktur. Yeni sentezlenmiş RNA zinciri DNA dan ayrıldıktan sonra DNA çift iplikçığı orijinal çift olarak yeniden kapanır. Transkripsiyon, *transkripsiyon terminatörleri* adı verilen spesifik bölgelerde durur.

- **RNA polimeraz**

- En basit yapılı olaran Bacteria RNA polimerazı, β , β' , α , ω (omega) ve σ (sigma) olarak tanımlanan 5 farklı birime sahiptir. Alt birimler biribiri ile etkilşerek RNA polimeraz holoenzimi olustururlar. Fakat sigma faktörü,diğerleri gibi kuvverli bağlanamaz ve kolaylıklar ayrılarak Rna polimeraz kor enzimi olarak isimlendirilen enzimin oluşmasına yol açar. Kor enzimi kendi basına RNA yı sentezleyebilir. Sigmanın rolü RNA sentezinin baslayabilmesi için DNA üzerindeki uygun bölgesinin tanınmasını sağlamaktır.

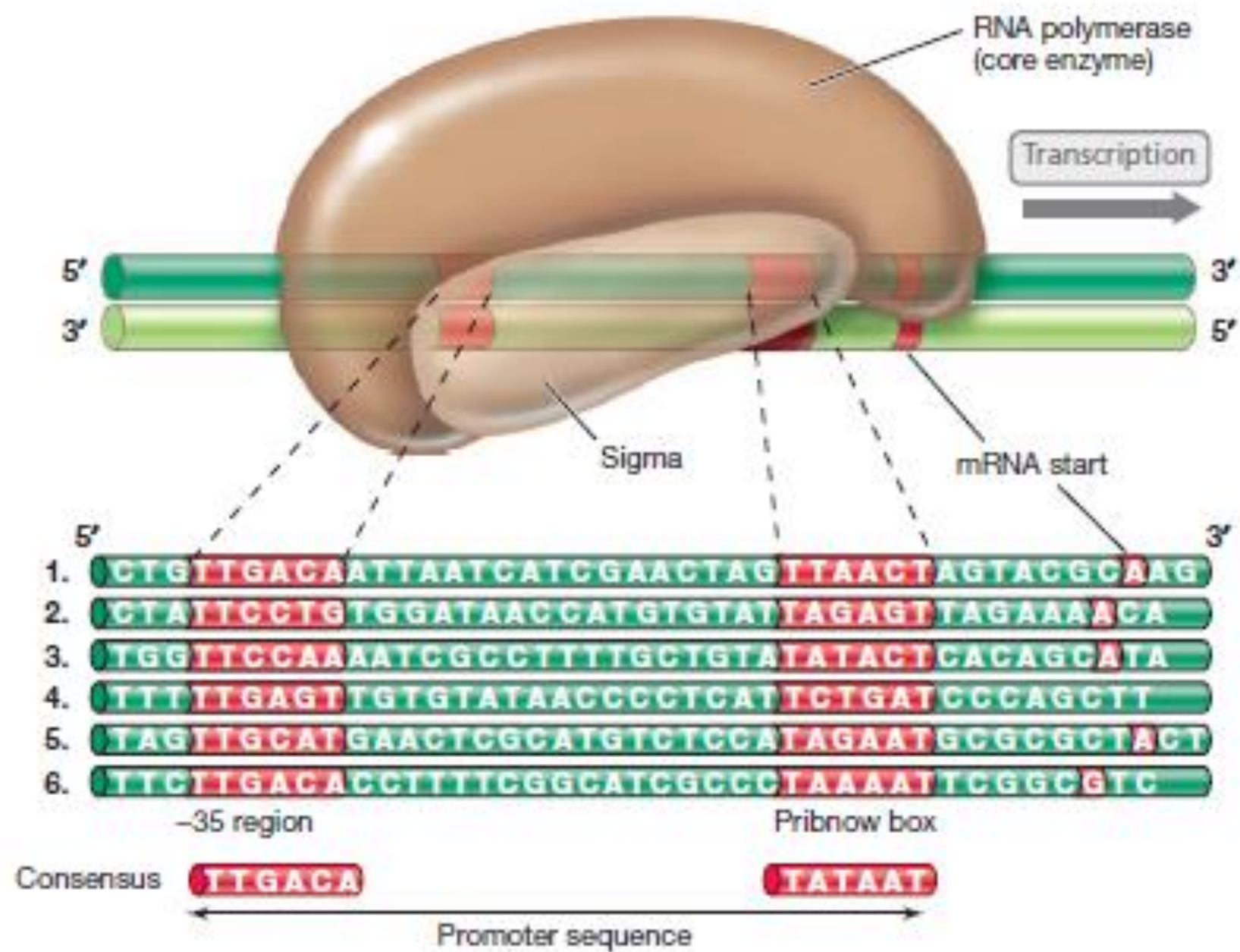
- Omega alt birimi RNA sentezi için gerekli olmayı kor enzimin oluşması için gereklidir. Bacteria da sigma faktörü kısa RNA parçası oluştuktan sonra RNA polimeraz holo enziminden ayrılır. Daha sonra sadece kor enzimi tarafından RNA molekülünün uzaması katalize edilir. Sigma faktörüne sadece başlangıçta promotorda RNA polimeraz-DNA kompleksinin oluşması için ihtiyaç duyulur.

- **Promotorlar**

- Rna sentezinin dogru olarak baslatilabilmesi için RNA polimerazın DNA üzerindeki baslama noktasını taniması gerekir ki bu bölgeler promotor olarak adlandırılmaktadır.
- Bakteria da promotorlar Rna polimerazın sigma alt birimi tarafından taninir. RNA polimeraz bir kez promotora baglandığında transkripsiyon ilerler. Bu işlemde DNA çift zinciri RNA polimeraz tarafından promotor bölgeden acılır, trasnkripsiyon kabarcığı olusturur. Polimeraz hareket ettikce DNA kısa segmentler halinde çözölmeye baslar.

- Bu gecici çözülme kalıp iplikçiğın acılmasını ve buradan RNA bileşenlerinin kopyalanmasını sağlar. Böylece promotorun RNA polimeraz enzimini, DNA üzerinde bir yöne etkin bir şekilde «yönlendirdiğı» düşünülür.

- **Sigma faktörleri ve Korunmuş diziler**
- Promotorlar RNA dizisinin bağlandığı özel DNA dizileridir. Bunlar sigma faktörü tarafından tanınmasına rağmen diziler birbirinin aynısı değildir. Sigma promotor içindeki oldukça korunmuş kısa iki diziye tanır. Bu korunmuş diziler transkripsiyon başlama bölgesinin yukarısındadır. Dizilerden biri transkripsiyon bölgesi başlangıcından önceki 10 bazlık bir bölge olup -10 bölgesi, *princebow kutusu* veya *TATA kutusu* olarak adlandırılır. İkinci bölge transkripsiyon bölgesinin yaklaşık 35 baz yukarısındadır. Bu dizideki konsensus TTGACA'dır.



- E.colide cogu gen için standart sima 70 ihtiyac duyarken transkiripsiyon için birbiirne yakın ama farklı konsensus dizilerine tanımak için çeşitli sigma faktörleri mevcuttur.
- Her bir alternatif sigma faktörü cesitli kosullarda spesifik bir gen gurubu için gerekli olup aynı zamanda ilgili genlerin düzenlenmesi için de esastır.

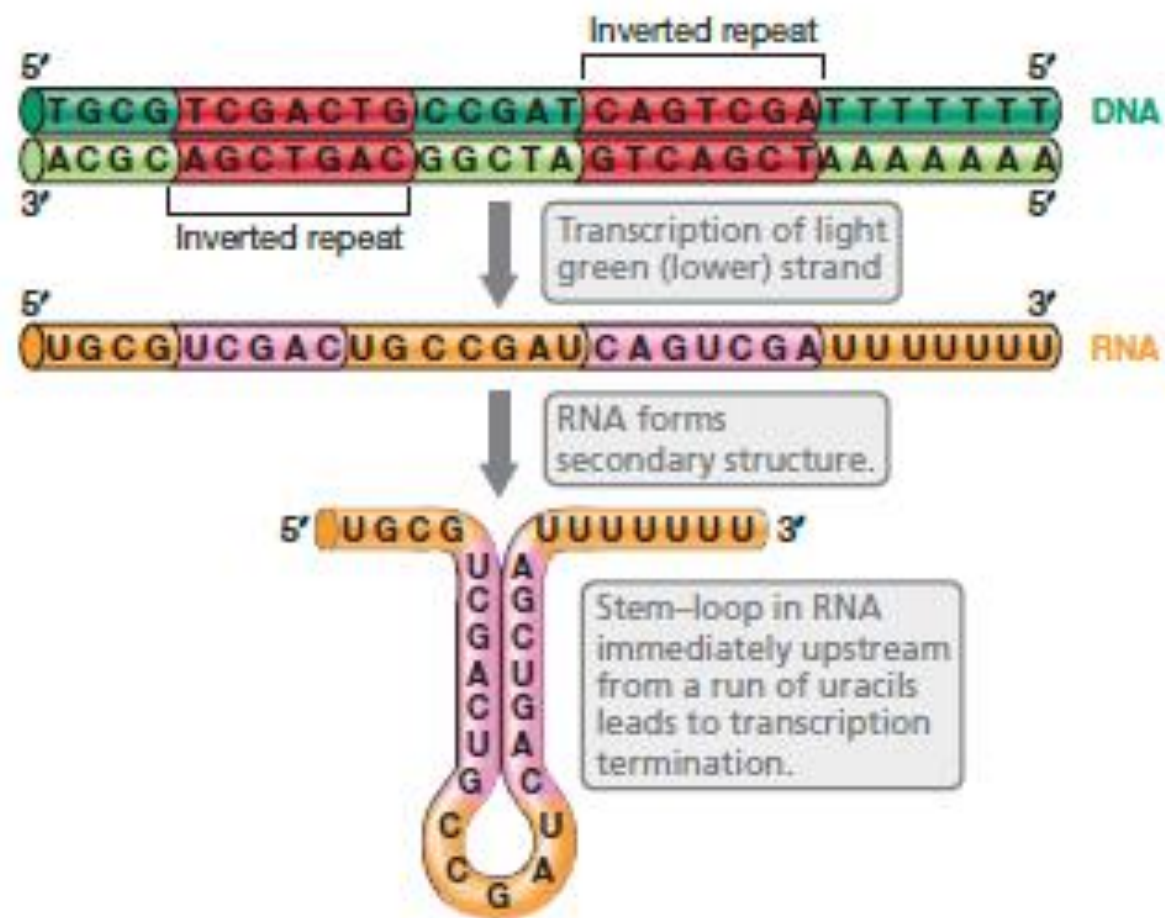
Table 4.4 Sigma factors in *Escherichia coli*

<i>Name^a</i>	<i>Upstream recognition sequence^b</i>	<i>Function</i>
σ^{70} RpoD	TTGACA	For most genes, major sigma factor for normal growth
σ^{54} RpoN	TTGGCACA	Nitrogen assimilation
σ^{38} RpoS	COGGOG	Stationary phase, plus oxidative and osmotic stress
σ^{32} RpoH	TNTCNOCTTGAA	Heat shock response
σ^{28} FlhA	TAAA	For genes involved in flagella synthesis
σ^{24} RpoE	GAACTT	Response to misfolded proteins in periplasm
σ^{19} FecI	AAGGAAAAT	For certain genes in iron transport

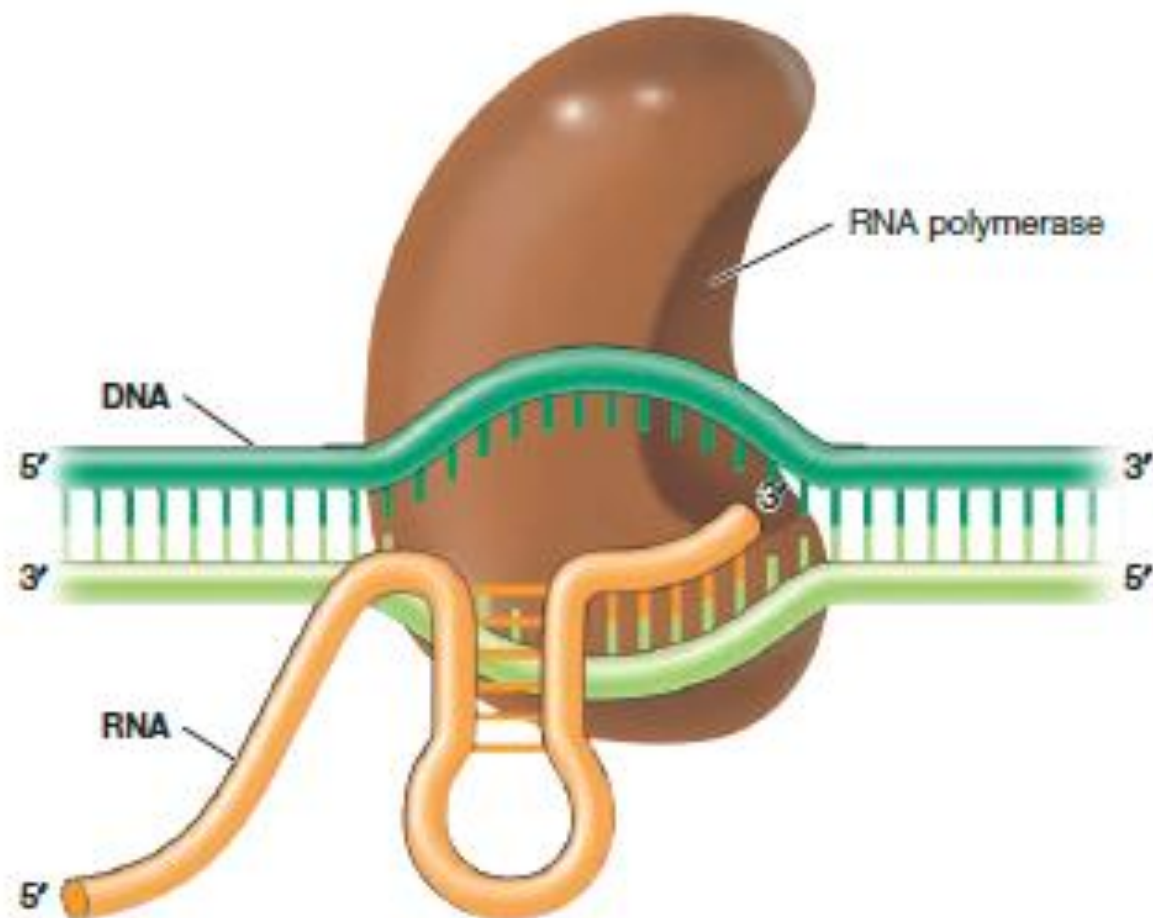
- **Transkripsiyonun Sonlanması**

- çoğalan bir bakteri hücresinde genellikle sadece transkripsiyona ihtiyaç duyan genler ifade edilir. Bu yüzden transkripsiyonun doğru noktada sonlanması önemlidir. RNA sentezinin sonlanması DNA üzerindeki spesifik baz dizileri tarafından sağlanır.
- Bacteria da cogenlukla merkez kısmı tekrar etmeyen ters yönlü GC-zengin bir tekrar dizisinden oluşan terminasyon zinciri mevcuttur. Böyle bir DNA dizi transkribe edildiği zaman RNA iç baz eşleşmesiyle bir gövde-halka yapı oluşturabilir.

- DNA kalıbındaki adenin lerin takibi ile izlenen göve-halka oluşumu etkili bir transkripsiyon sonlandırıcısıdır. Bu yapı RNA ve DNA kalıbını bir arada tutan ve uzayan U:A baz çiftlerinin oluşumu ile meydana gelir.



(a)



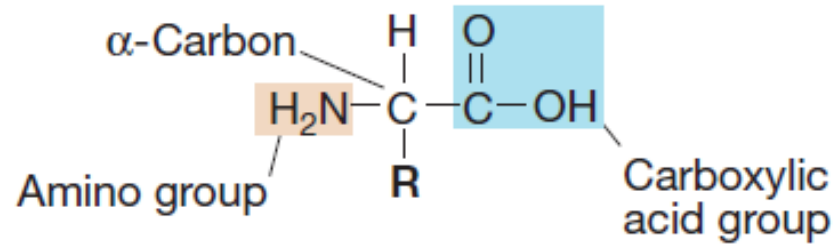
(b)

- Bacteria da bir diğer mekanizma Rho bağımlı sonlanmadır. Rho faktörü DNA ya bağlanmaz RNA ya sıkıca bağlanıp RNA polimeraz-DNA boyunca hareket eder. RNA polimeraz duraksadığı zaman Rho hem RNA'nın hemde RNA polimerazın DNA'dan ayrılmasına sebep olur. Bu şekilde transkripsiyon sonlanır.

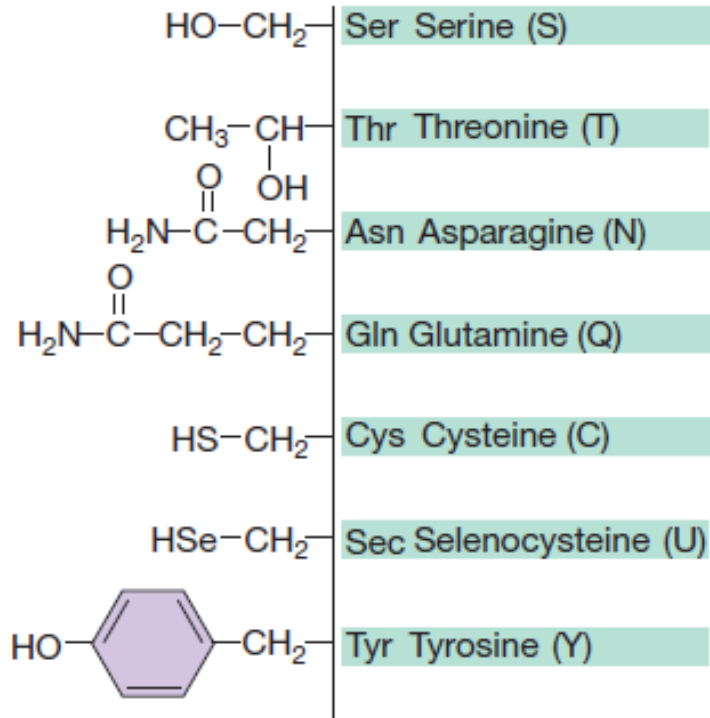
- <https://www.youtube.com/watch?v=1b-bRVgqof0&t=5s>

- **Protein Sentezi**
- **Polipeptidler, Amino Asitler ve Peptid Bağı**
- Proteinler hücrenin işlevselliği açısından önemli rollere sahiptir. *Katalitik proteinler (enzimler) ve yapısal proteinler olmak üzere* iki büyük protein grubu vardır. Enzimler hücre içinde meydana gelen kimyasal reaksiyonlarda katalizördürler. Yapısal proteinler ise hücrenin temel yapısına entegre olmuş integral yapılardır: zarlar, hücre duvarları, ribozomlar vb.
- Regülatör proteinler DNA'ya bağlanma ve transkripsiyonu etkilemede dahil birçok hücre içi olayı farklı mekanizmalarla kontrol ederler.

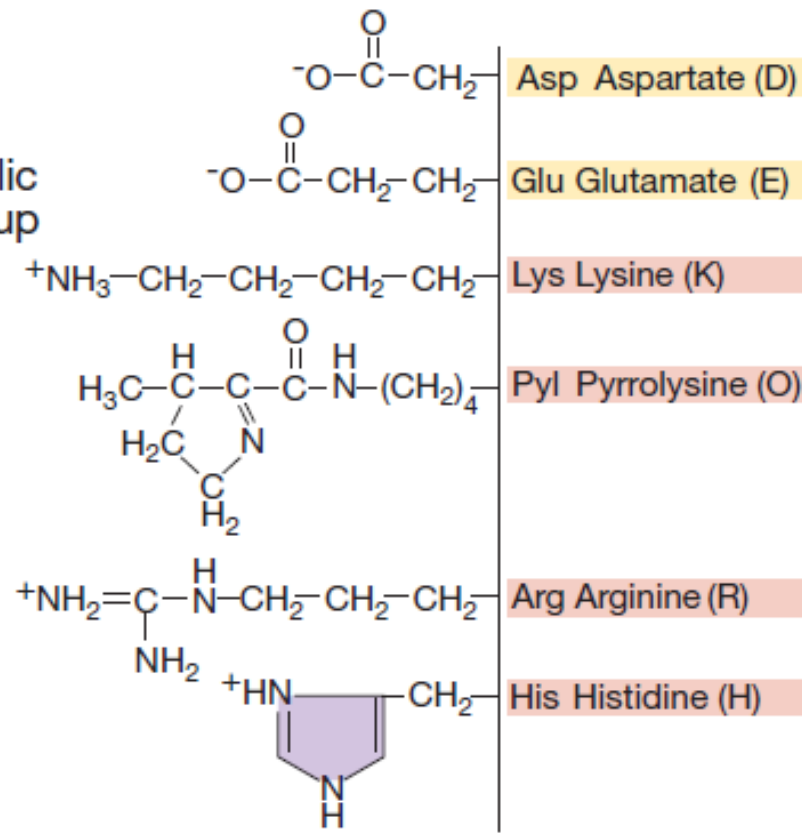
- Bütün amino asitler α -karbona bağlı bir amino grubu ($-\text{NH}_2$) ve bir karboksilik asit grubuna sahiptirler ($-\text{COOH}$). Bir amino asidin karboksil karbonu ile ikinci bir amino asidin azotu arasında oluşan bağ peptid bağı olarak bilinir. İki amino asidin bağlanması ile oluşan yapıya dipeptid üçlü yapıya tripeptid çok yapıya polipeptid adı verilir.
- Her bir amino asidin kendi özgü bir yan zinciri vardır ve bunlar 'R' harfi ile ifade edilir. Bu yan zincirler amino asidin kimyasal özelliklerini belirlemede oldukça önemlidir. Benzer kimyasal özelliklere sahip amino asitler birbiriyle ilişkili aileler olarak gruplandırılır.



(a) General structure of an amino acid

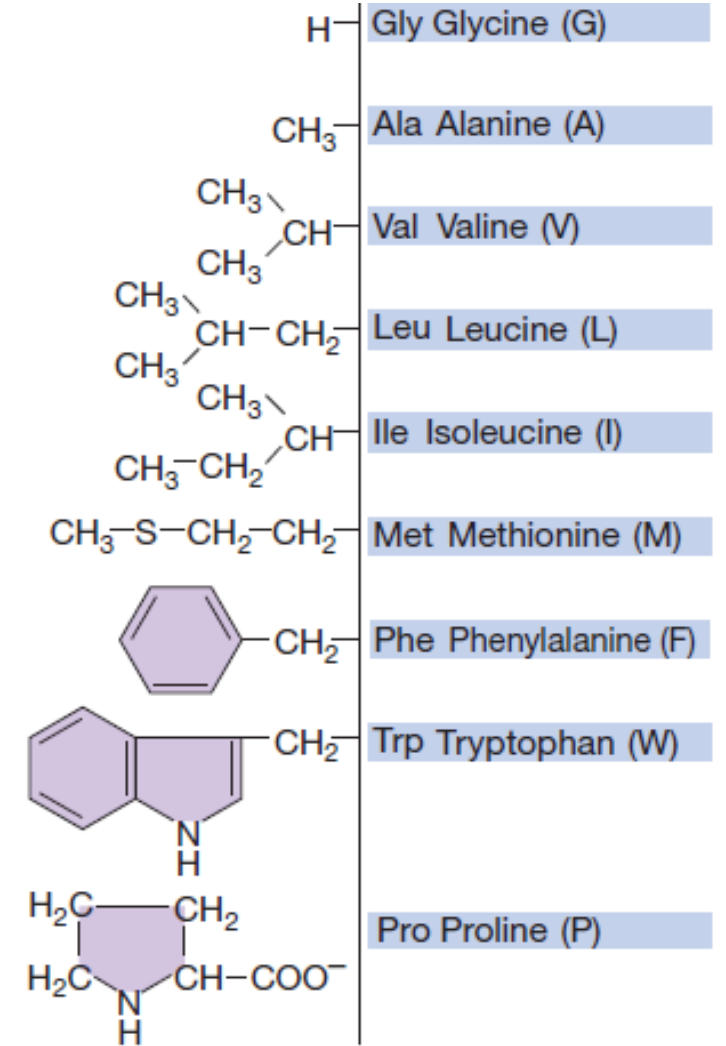


(b) Structure of the amino acid "R" groups



Legend:

- Yellow: Ionizable: acidic
- Orange: Ionizable: basic
- Green: Nonionizable polar
- Blue: Nonpolar (hydrophobic)



(Note: Because proline lacks a free amino group, the entire structure of this amino acid is shown, not just the R group.)

- **Translasyon ve Genetik Kod**

- Daha once gördüğümüz gibi biyolojik bilginin aktarımının ilk iki aşamasında – replikasyon ve transkripsiyon- nükleik asitler nükleik asit kalıpları üzerinden sentezlenir. Son aşama olan *translasyon*'da nükleik asit kalıplarını kullanır, fakat bu durumda oluşan ürün bir nükleik asit yerine bir polipeptittir. Biyolojik bilgi akışının temeli nükleik asit kalıbı ile oluşturulacak polipeptid zincirindeki amino asit dizisinin ilişkilendirilmesidir. Bu ilişki **genetik koda** dayanmaktadır. *Kodon* olarak adlandırılan ve üç bazdan oluşan RNA üçlüsü özgül herbir amino asidi kodlar.

Table 4.5 The genetic code as expressed by triplet base sequences of mRNA

<i>Codon</i>	<i>Amino acid</i>	<i>Codon</i>	<i>Amino acid</i>	<i>Codon</i>	<i>Amino acid</i>	<i>Codon</i>	<i>Amino acid</i>
UUU	Phenylalanine	UCU	Serine	UAU	Tyrosine	UGU	Cysteine
UUC	Phenylalanine	UCC	Serine	UAC	Tyrosine	UGC	Cysteine
UUA	Leucine	UCA	Serine	UAA	None (stop signal)	UGA	None (stop signal)
UUG	Leucine	UCG	Serine	UAG	None (stop signal)	UGG	Tryptophan
CUU	Leucine	CCU	Proline	CAU	Histidine	CGU	Arginine
CUC	Leucine	CCC	Proline	CAC	Histidine	CGC	Arginine
CUA	Leucine	CCA	Proline	CAA	Glutamine	CGA	Arginine
CUG	Leucine	CCG	Proline	CAG	Glutamine	CGG	Arginine
AUU	Isoleucine	ACU	Threonine	AAU	Asparagine	AGU	Serine
AUC	Isoleucine	ACC	Threonine	AAC	Asparagine	AGC	Serine
AUA	Isoleucine	ACA	Threonine	AAA	Lysine	AGA	Arginine
AUG (start) ^a	Methionine	ACG	Threonine	AAG	Lysine	AGG	Arginine
GUU	Valine	GCU	Alanine	GAU	Aspartic acid	GGU	Glycine
GUC	Valine	GCC	Alanine	GAC	Aspartic acid	GGC	Glycine
GUA	Valine	GCA	Alanine	GAA	Glutamic acid	GGA	Glycine
GUG	Valine	GCG	Alanine	GAG	Glutamic acid	GGG	Glycine

- **Genetik Kodun Özellikleri**

- mRNA üzerinde taşınan genetik bilginin kodlandığı 22 amino asit bulunmaktadır. Sonuc olarak 64 tane kodun bulunduğu için birçok amino asit birden fazla kodon tarafından kodlanabilir.
- Bir kodon tRNA'nın bir parçası olan **antikodon** adlı üç bazlı bir tamamlayıcı bir dizi ile özgül baz eşleşmesi sonucu tanınır. Bazı durumlarda ilk baz pozisyonunda sınırlı baz eşleşmesi oluşurken üçüncü pozisyondaki kuralısız baz eşleşmesini tolere ederler. Bu durum **wobble hipotezi** olarak adlandırılır.

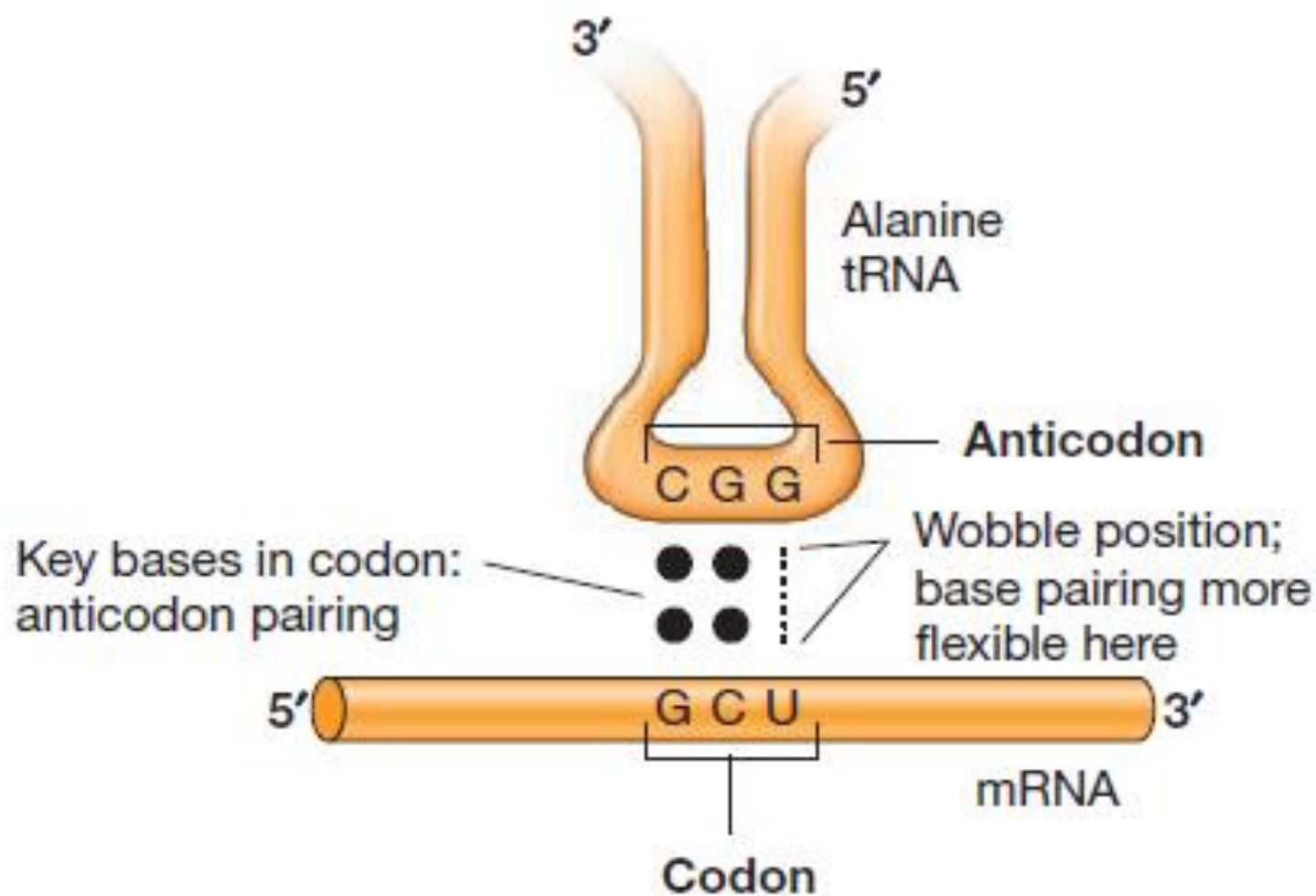


Figure 4.32 The wobble concept. Base pairing is more flexible for the third base of the codon than for the first two. Only a portion of the tRNA is shown here.

- Bazı kodonlar aynı amino asidi kodlamalarına rağmen diğer kodonlara göre daha çok tercih edilirler. Bu durum organizmaya özel olan **kodon eğilimi** adı verilen bir durum ile açıklanmaktadır.
- **Açık Okuma Çerçevesi**
- Protein kodlayan genleri belirlemek için en yaygın yöntemlerden bir DNA dizisinin her iki zincirinde **açık okuma çerçevesi (ORFs)** yönünden incelenmesidir. Eğer bir mRNA çevrilebiliyorsa, bir açık okuma çerçevesine sahiptir: bir başlangıç kodonu (tipik olarak AUG) takiben belirli sayıda kodonlar ve sonra da aynı okuma çerçevesi için bir sonlanma kodonu içermelidir.

- **Başlangıç ve Stop Kodonları ile Okuma Çerçeveleri**
- Mesajcı RNA, *bacteriada N-formilmetiyonin* adlı kimyasal olarak modifiye edilmiş bir metiyonini kodlayan **başlangıç kodonu** ile çevrilmeye başlar.
- Üçlü bir koddan translasyona doğru nükleotidden başlamak translasyona doğru nükleotitten başlamak çok önemlidir. Eğer öyle olmazsa mRNA'da ki tüm açık okuma çerçevesi kayacak ve sonrasında tamamen farklı bir protein yapılacaktır. Alternatif olarak okuma çerçevesi içine bir stop kodonu girerse polipeptid olgunlaşmadan sonlacancaktır.

- Geleneksel olarak okuma çerçevesi transalasyona uğradığında oluşan polipeptidi kodlayan gene *0 çerçevesi* denilir. Diğer iki olası okuma çerçevesi (-1 ve +1) aynı amino asit dizisini kodlamaz. Dolayısıyla ribozomun trasnlasyona başlamak için doğru başlangıç kodonunu bulması bir kere okuduktan sonra da mRNA'nın tam olarak üç baz oalcak şekilde zamanında translokasyonu elzemdir.

mRNA 5'  3'

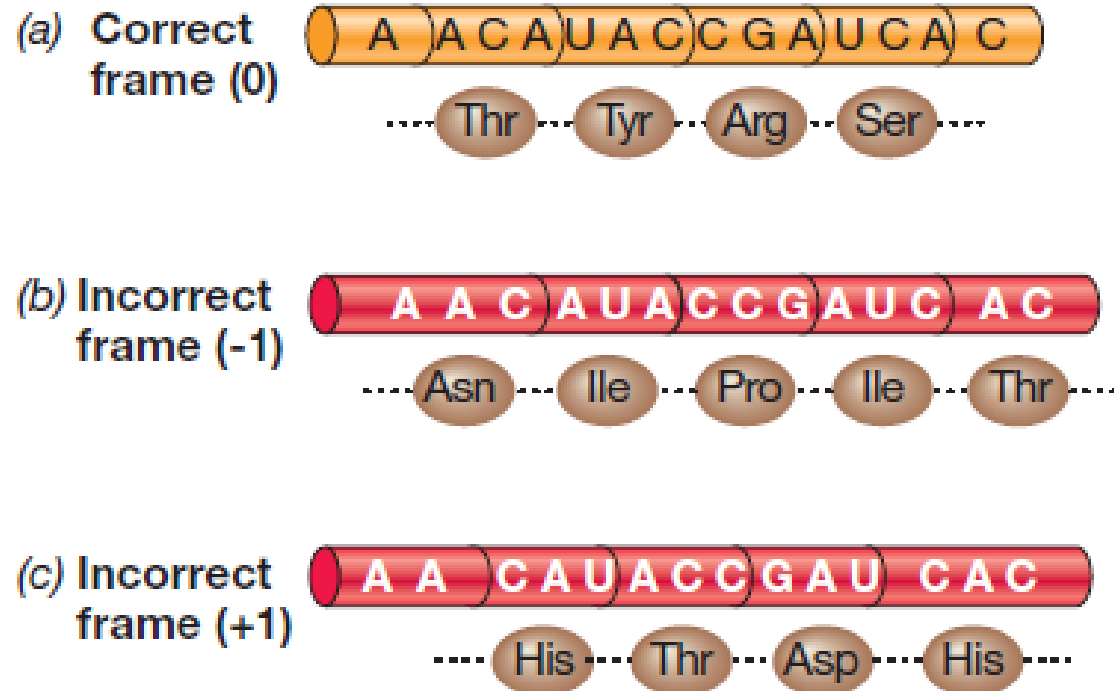


Figure 4.33 Possible reading frames in an mRNA. An interior sequence of an mRNA is shown. (a) The amino acids that would be encoded if the ribosome is in the correct reading frame (designated the “0” frame). (b) The amino acids that would be encoded by this region of the mRNA if the ribosome were in the -1 reading frame. (c) The amino acids that would be encoded if the ribosome were in the $+1$ reading frame.

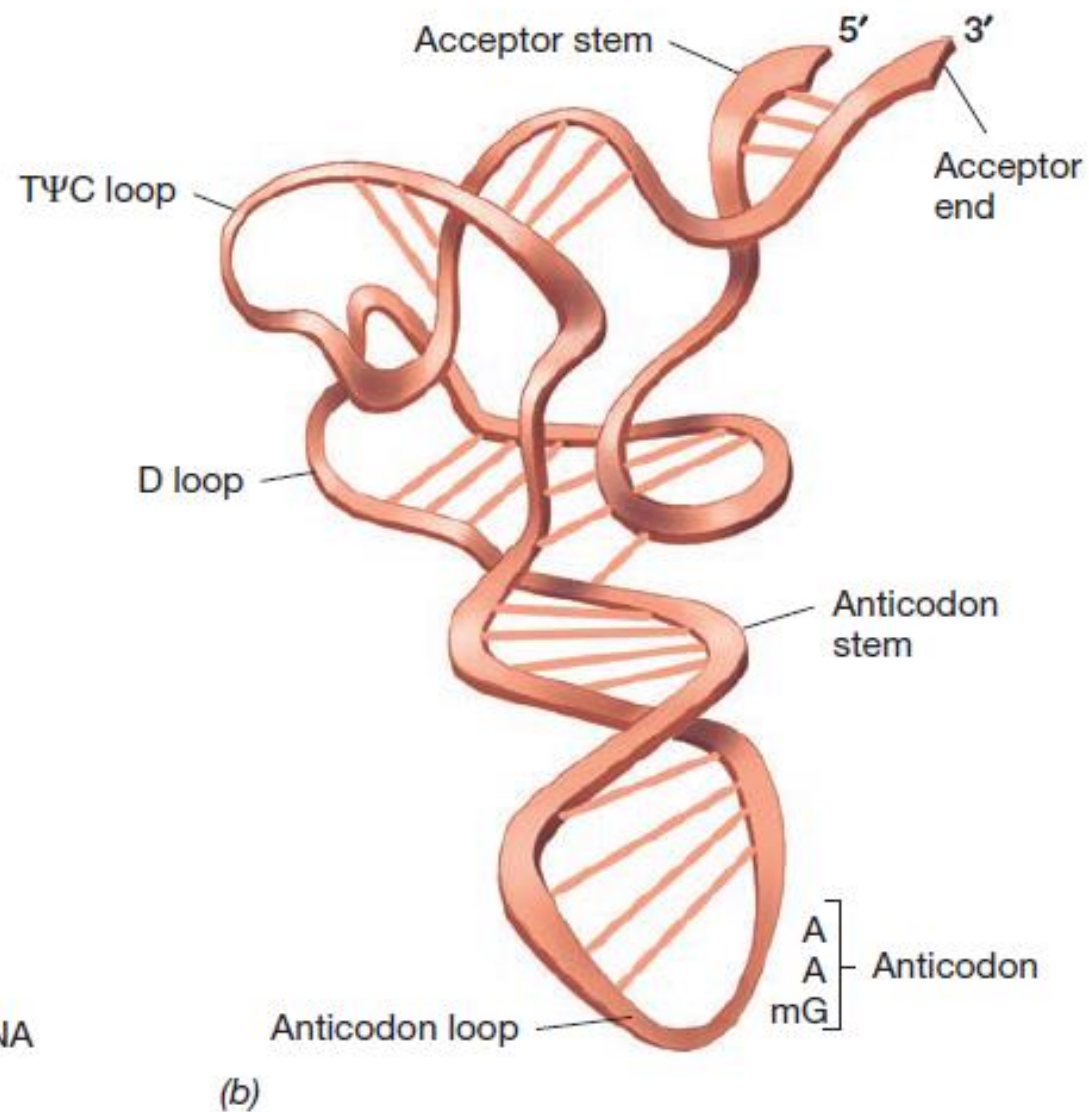
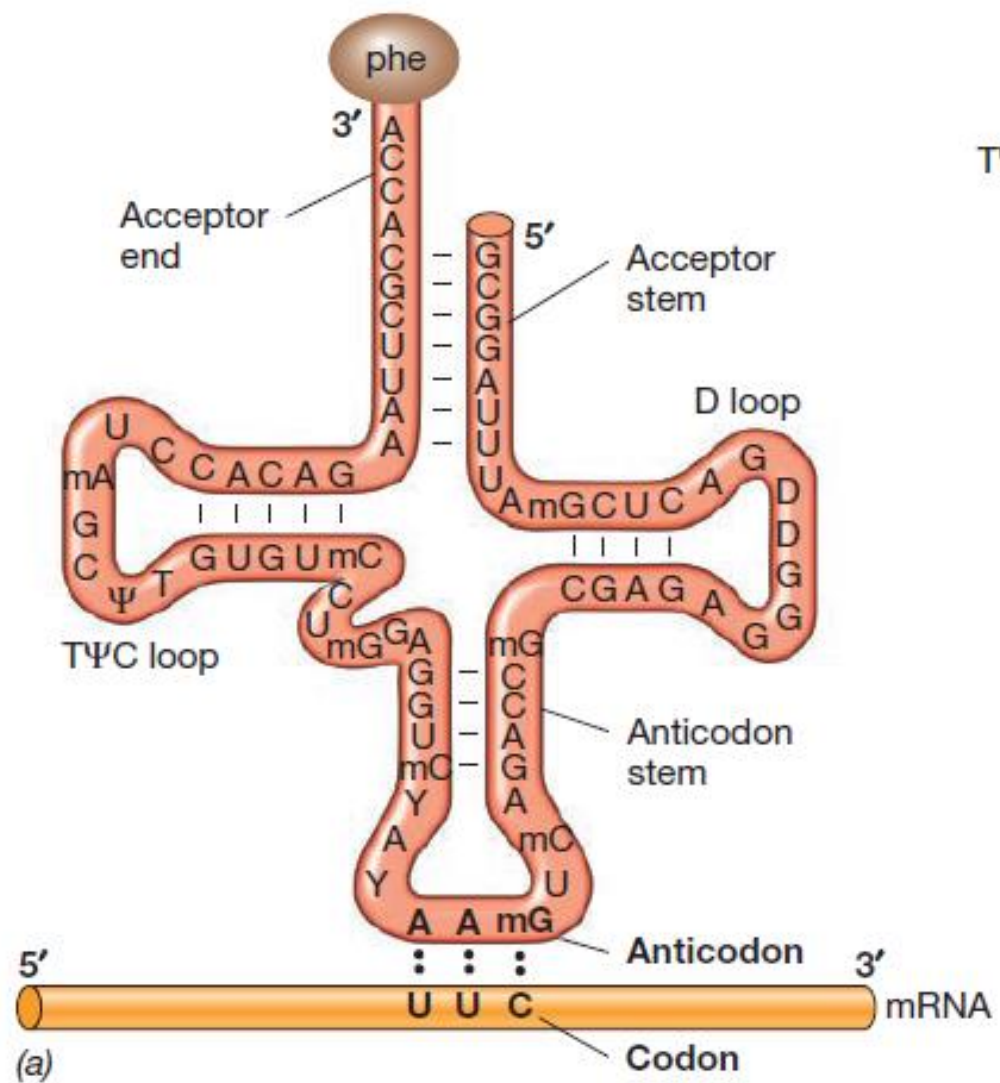
- Okuma çerçevesinin doğruluğu mRNA ve ribozom içindeki rRNA arasındaki etkileşimle garanti altına alınır. Prokaryotlarda mRNA'nın yukarısında bulunan bir bölgede bulunan *ribozomal bağlanma bölgesi(RBS)* veya Shine-Dalgarno adlı bir dizi yardımıyla, ribozomal RNA başlangıç kodonu olarak spesifik bir AUG kodonunu tanır.
- Birkaç kodon hiçbir amino asidi kodlamaz. Bu kodonlar (AAA,UAG, UGA) **stop kodonlarıdır** ve mRNA daki bir protein kodlayan dizide translasyonun durması için sinyal verirler. Stop kodonları aynı zamanda anlamsız kodonlar olarak da adlandırılır.

- **Transfer RNA**

- Bir transfer RNA, mRNA üzerindeki kodonla baz eşleşmesi yapan antikodonu taşır. Bunun yanı sıra her tRNA kendi antikodonuna karşılık gelen amino asit için özgündür. tRNA ve onun özgül amino asidi *aminoaçil tRNA sentetaz* adlı enzimle bağlanırlar. Bu enzimler bir tRNA'nın doğru amino asit ile yüklenebilmesi için hem özgül bir tRNA hemde onun eş amino asidini tanımak zorundadır.

- **tRNA nın genel Yapısı**

- Bakteri hücrelerinde 60 farklı tRNA vardır. Transfer rna molekülleri kapsamlı sekonder yapı içeren kısa tek zincirli moleküller olup 73-93 nükleotit uzunluğundadırlar. Belirli bazlar ve sekonder yapılar tüm tRNA'larda sabitken diğer kısımlar değişkendir. Olgun ve aktif tRNA, molekül içerisinde ilave çift zincirli bölgeler içerir. Bu sekonder yapı tek zincirli molekülün kendi üzerinde katlanması ile meydana gelir. tRNA sekonder yapısındaki bazı kısımlar onların fonksiyonlarına göre isimlendirilir. (antikodon haklası, alıcı kök gibi)



- **Antikodon ve Amino asit bağlanma bölgesi**
- tRNA molekülünde,mRNA üzerindeki kodonu tanıyıp üçlü baz grubu içeren değişken anahtar kısımlardan birisi *antikodondur*.antikodon, antikodon halkasında bulunur. Antikodonun üç nükleotiti kodonu üç bazıyla özgül olarak eşleşerek tanır. Bunun aksine tRNA nın diğer kısımları hem rRNA ile hemde ribozomun protein bileşenleri, ribozomal olmayan translasyonal proteinleri ve aminoasil-tRNA sentetaz enzimi ile etkileşir.

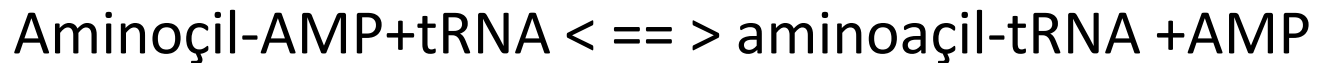
- Bütün tRNAların 3' ucu (alıcı uc) kısımlarında eşleşmemiş 3 nükleotit bulunur. Bu 3 nükleotit dizisi her zaman (CCA) şeklindedir ve tRNA işlevselliği için kesinlikle elzemdir.
- Eşlenik olan amino asit, daha sonra ilişkili olduğu tRNA'nın CCA ucuna tutturularak terminal adenin bağı ile kovalent olarak bağlanır.

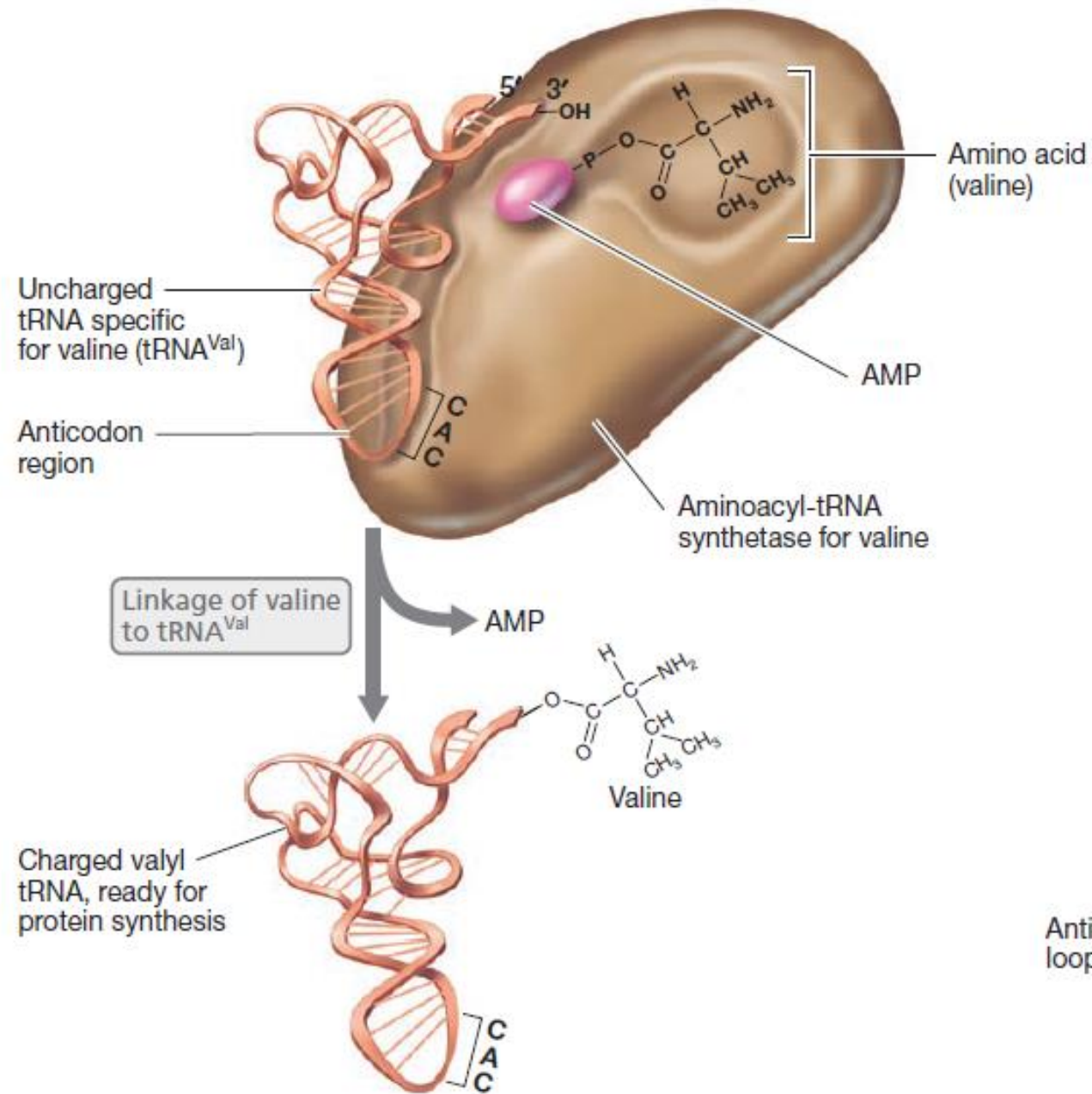
- **tRNA'ların tanınması aktivasyonu ve yüklenmesi**

- Amino açıl tRNA sentetaz tarafından doğru tRNA'nın tanınması tRNA ve sentetaz arasında bazı anaktar bölgeleri arasında bir uyum gerektirir.
- Amino açıl tRNA sentetaz tarafından kaalize edilen amino asit ve tRNA arasındaki özgül reaksiyon amino asitin ATP reaksiyonu ile aktive edilmesi ile başlar.

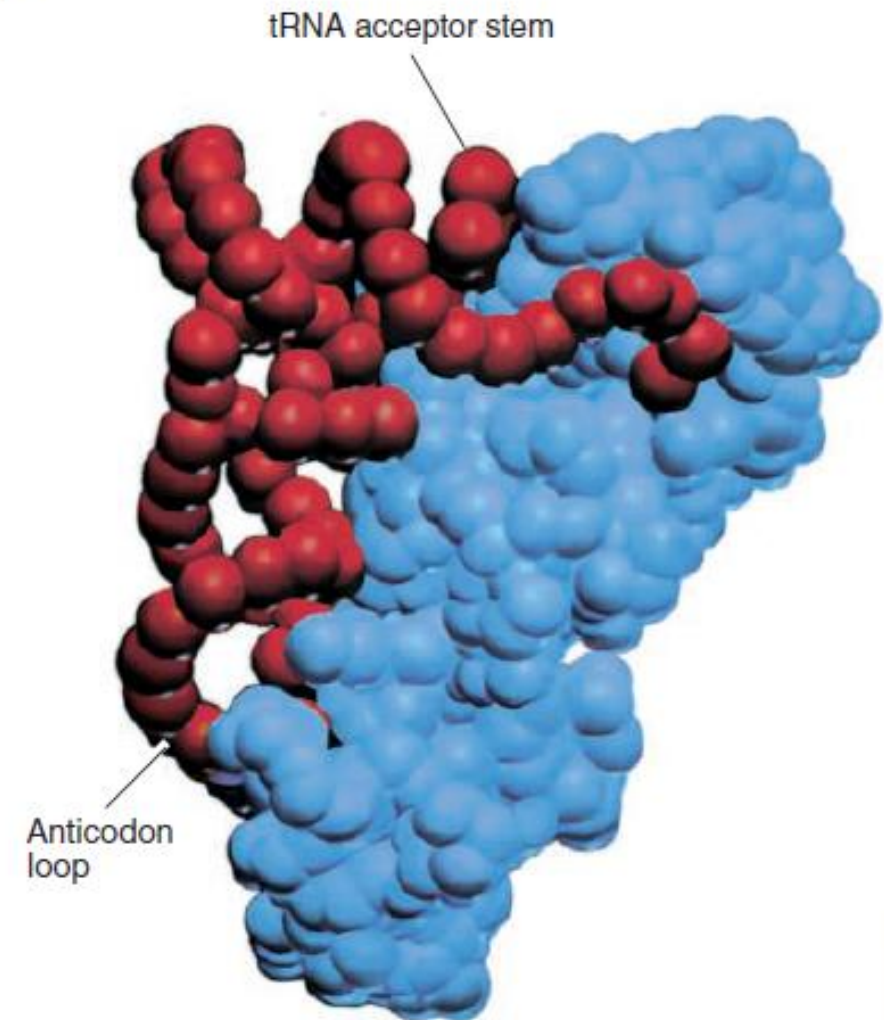


oluşan amino açıl-AMO ara ürünü uygun tRNA molekülü ile karşısına dek tRNA sentetaza bağlı kalır. Daha sonra şekilde gösterildiği üzere yüklü bir tRNA oluşturabilmek için aktive edilmiş amino asit, tRNA ya bağlanır.





(a)



(b)

- https://www.youtube.com/watch?v=180_sM9iYVk

- **Protein sentezi**

- Proteinlerin düzgün çalışabilmesi için amino asitlerin polipeptid zincirinde doğru yere eklenmesi hayati önem taşımaktadır. Bu görev protein sentez makinesi olan ribozomun görevidir. Protein sentezi 3 sürece ayrılır; başlangıç, uzama ve sonlanma. Bu süreç mRNA'nın yanı sıra tRNA ve ribozomlar ile başlangıç, uzama ve sonlanma faktörleri olarak görev yapan çok sayıda proteine gereksinim duyar.

- **Ribozomlar**

- Ribozomlar protein sentezinin başladığı yerdir. Her ribozom iki alt birimden oluşur. Prokaryotlar bütün bir 70S ribozomu oluşturan 30S ve 50S ribozomların birleşmesi ile oluşur.
- Her ribozomal alt birim özgül ribozomal RNA lar ve ribozomal proteinlere sahiptir. 30S alt birimi, 16S rRNA ve 21 protein içerirken, 50S alt birim 5S ve 23S rRNA ile 31 protein içerir.
- Ribozom dinamik bir yapıya sahip olup alternatif olarak alt birimlerine ayrılabilir.
- Ribozomun fonksiyonu için elzem olan pek çok protein translasyonun çeşitli aşamalarında ribozomla etkileşime girerler. Bu proteinler ribozomal proteinler yerine translasyon faktörleri olarak adlandırılır.

- **Translasyonun Başlaması**

- Bakteriada protein sentezinin başlaması serbest bir 30S ribozomal alt birimle olur. Daha sonra 30s alt birimi mRNA, formil-metiyonin tRNA, ile IF1,IF2 ve IF3 adlı cesitli baslagıc proteinlerini kapsayan bir baslangıc kompleksi olusturur. Bu adım içinde GTP gereklidir. Bir sonraki adımda ise 70s ribozomu olusturmak için 50s ribozomal alt birim baslangıc komplkesine eklenir.
- mRNA üzerinde baslama kodonundan hemen once rizobozom bağlanma bölgesi (RBS) mRNA nın ribozoma baglanmasına yardımcı olur. Bu iki molekül arasındaki baz eşlemesi ribozom-mRNA kompleksini dogru okuma çercevesinde güvenle bir araya getirir.

- Translasyonun başlangıcı her zaman başlangıç kodonu olan AUG'tye özgül başlatıcı bir aminoasit-tRNA'nın bağlanması ile başlar. Bacteria 'da bu formilmetiyonin-tRNA'dır. Polipeptid tamamlandıktan sonra formil grubu çıkartılır. Sonuç olarak tamamlanmış proteinin n-terminal amino asidi metiyonin olacaktır.

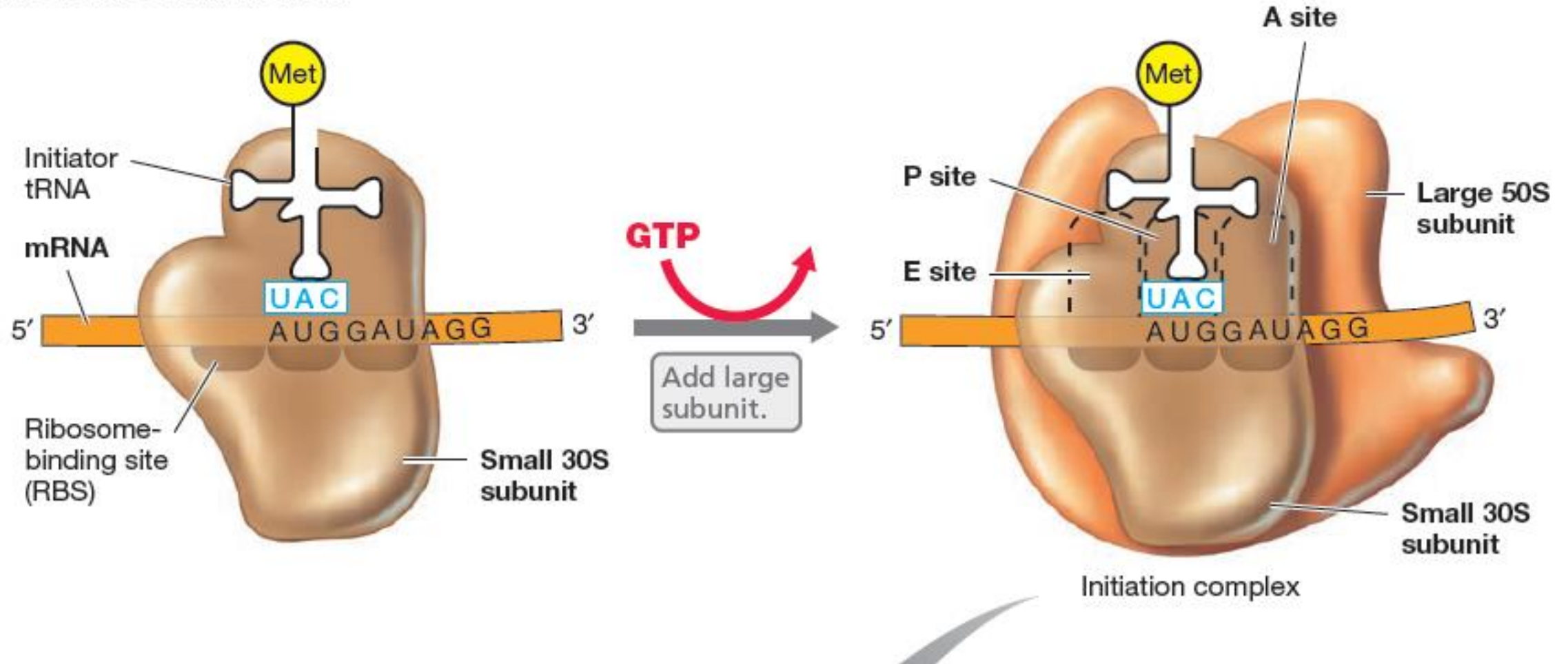
- **Uzama,Translokasyon ve Terminasyon**

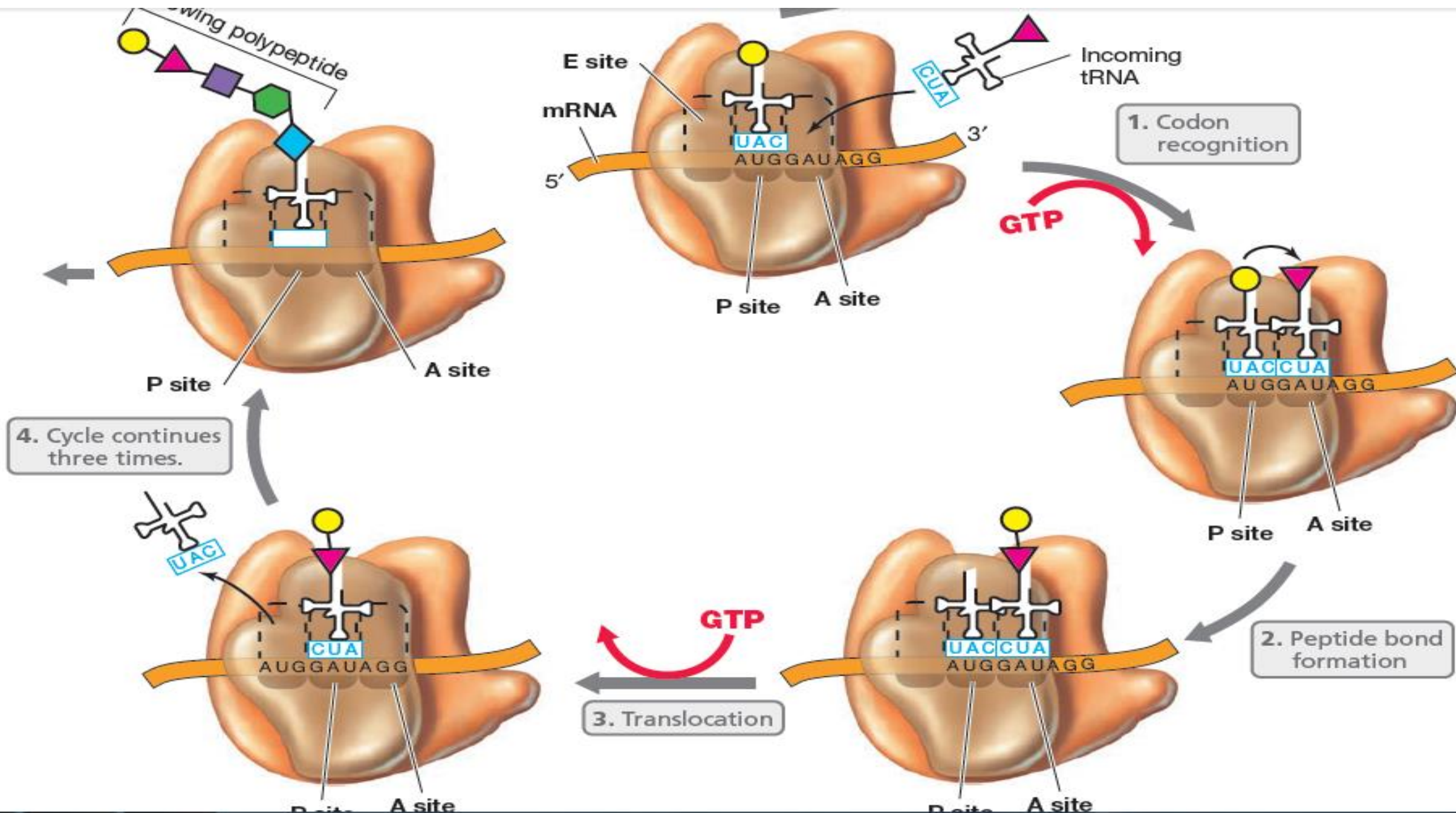
- Ribozomun tRNA'larla etkileşime girdiği bölgeler vardır. Bu bölgelerden iki tanesi temelde 50s üzerinde yerleşmiştir ve bu bölgeler A bölgesi ve P bölgesi olarak adlandırılmaktadır. A bölgesi alıcı bölge olup gelmekte olan yüklenmiş tRNA non ribozom üzerinde bağlandığı ilk bölgedir. Bir tRNA'nın uzama bölgesine yüklenmesine EF-Tu yardım eder.
- P bölgesi ise uzamakta olan polipeptidin tutulduğu bölgedir. Polipeptid bağ olusumu sırasında uzamakta olan polipeptid zinciri yeni bir peptid bağ olusturarak A bölgesine taşınır. Uzama için özellikle EF-Tu ve EF-Ts uzama faktorleri gibi ribozomal olmayan bazı proteinler ve GTP ye ihtiyac duyulmaktadır.

- Uzama uzamayı takiben polipeptidi tutan tRNA A bölgesinden P bölgesine translokasyona uğrar (taşınır), dolayısıyla A bölgesinde yeni yüklenmiş bir tRNA için yer açılmış olur. Translokasyon, EF-G uzama faktörüne her bir translokasyon olayı için bir molekül GTP'ye ihtiyaç duyarlar. Her translokasyon basamagında A bölgesinde yeni bir kodon açığa çıkacak şekilde ribozom 3 nükleotit ilerler. Translokasyon bu asamada yüksüz olan tRNA'yı 3. bölge olan E bölgesine iter. tRNA ribozomun bu bölgesinde serbest bırakılır.

- Birden fazla ribozom *polizom* adı verilen bir kompleks oluşturarak tek bir mRNA molekülünü aynı anda translasyona ugratabilirler. Polizomlar aynı anda trasnlasyonun hızını ve verimini arttırırlar.
- Protein sentezinin sonlanması,ribozom bir stop kodonuna geldiğinde gerçekleşir. Stop kodonuna hic bir tRNA baglanmaz. Bunun yerine *salınma faktörü (RSf)* denilen özel proteinler stop kodonunu tanırlar ve son tRNA'da bağlı olan polipeptidi keserek biten ürünün salınmasını sağlarlar.

TRANSLATION: Initiation





- <https://www.youtube.com/watch?v=KZBIjAM6B1s>