

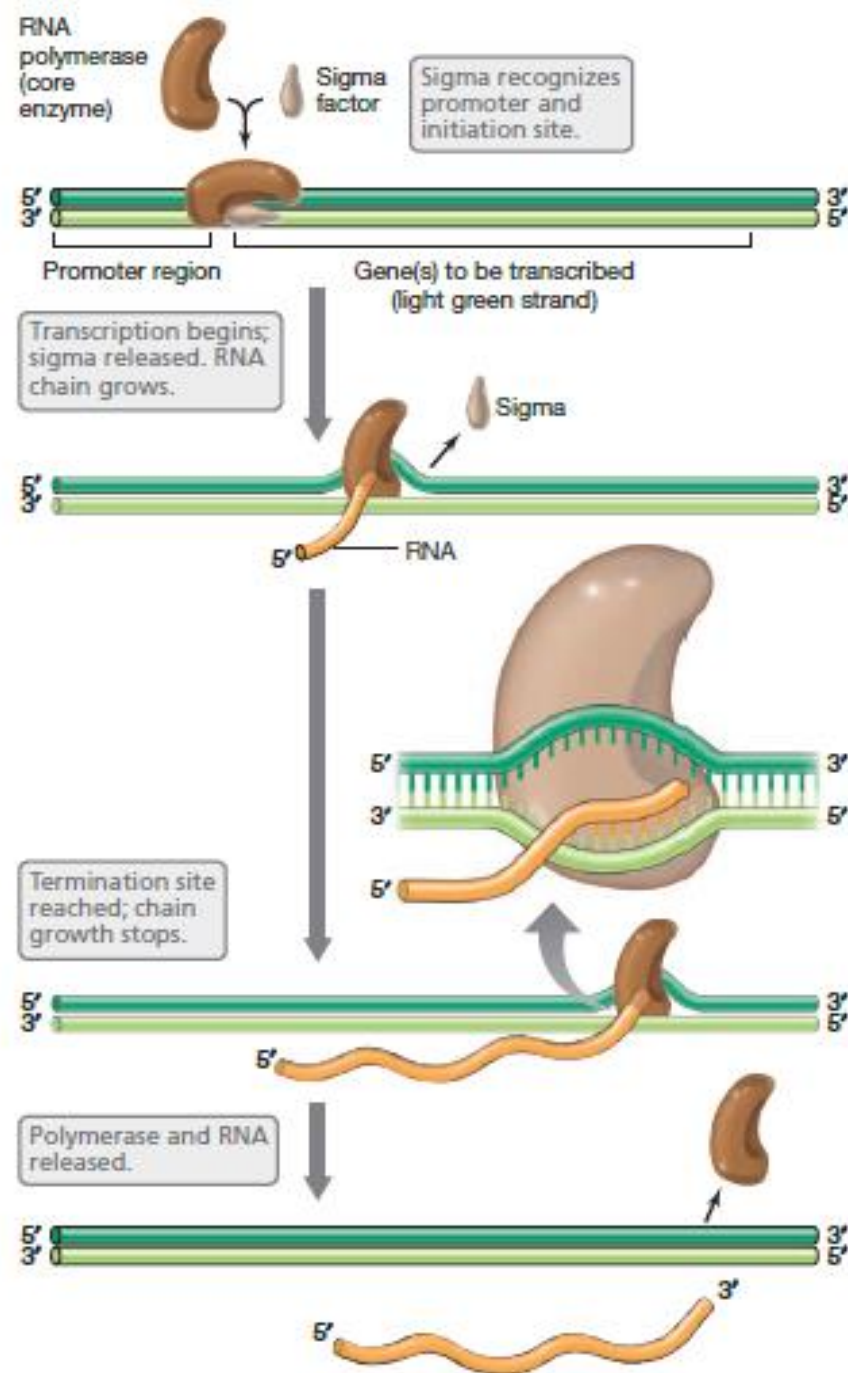
Prokaryotik Protein Metabolizması

- **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 sentezinkinine 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 oluşturlar. 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 başlayabilmesi için DNA üzerindeki uygun bölgesinin tanınmasını sağlamaktır.

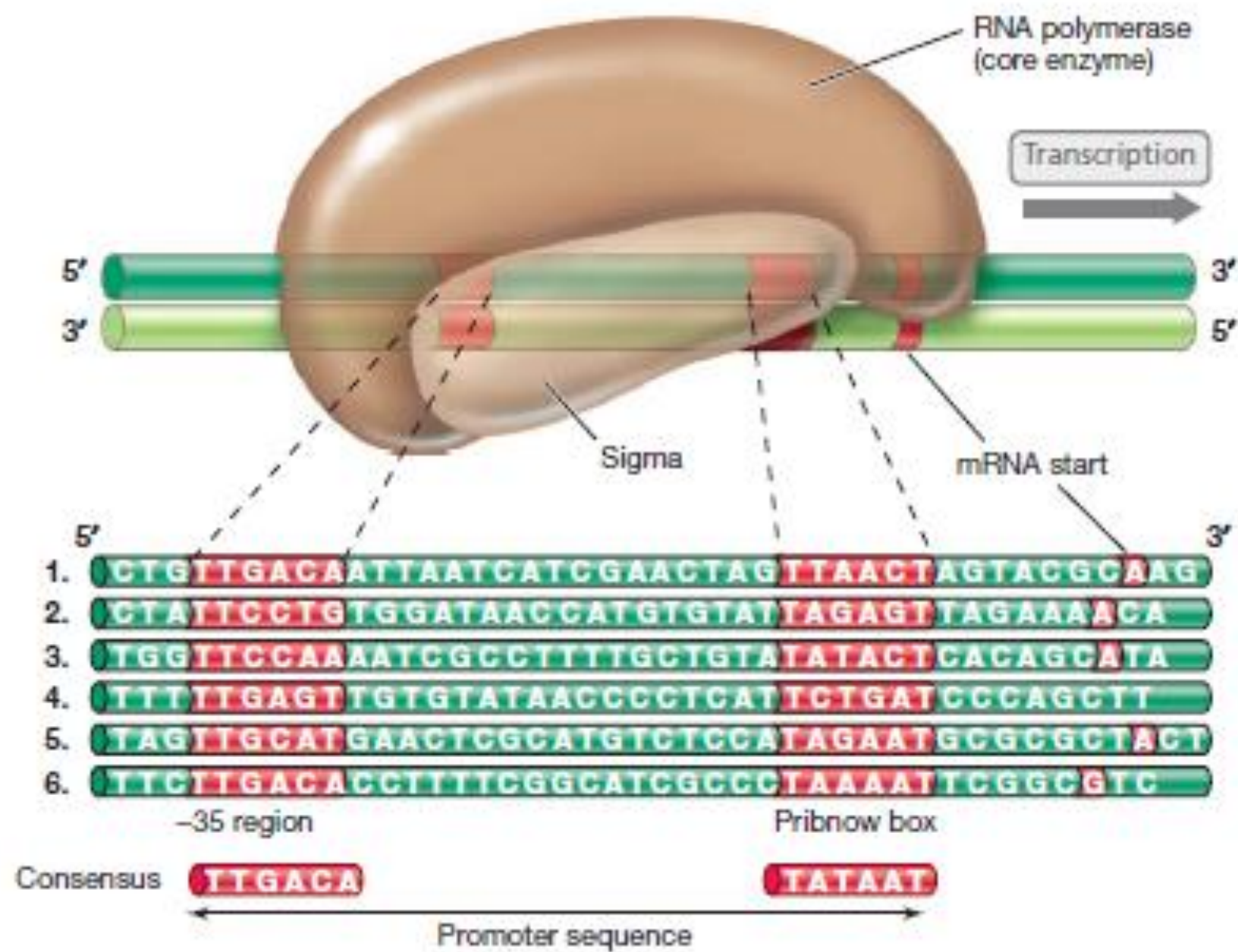
- Omega alt birimi RNA sentezi için gerekli olmayı kor enzimin oluşması için gereklidir. Bacteria da sigma faktörü kısa RNA parçası oluştuktan sonra RNA polimeraz holo enziminden ayrılır. Daha sonra sadece kor enzimi tarafından RNA molekülünün uzaması katalize edilir. Sigma faktörüne sadece başlangıçta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

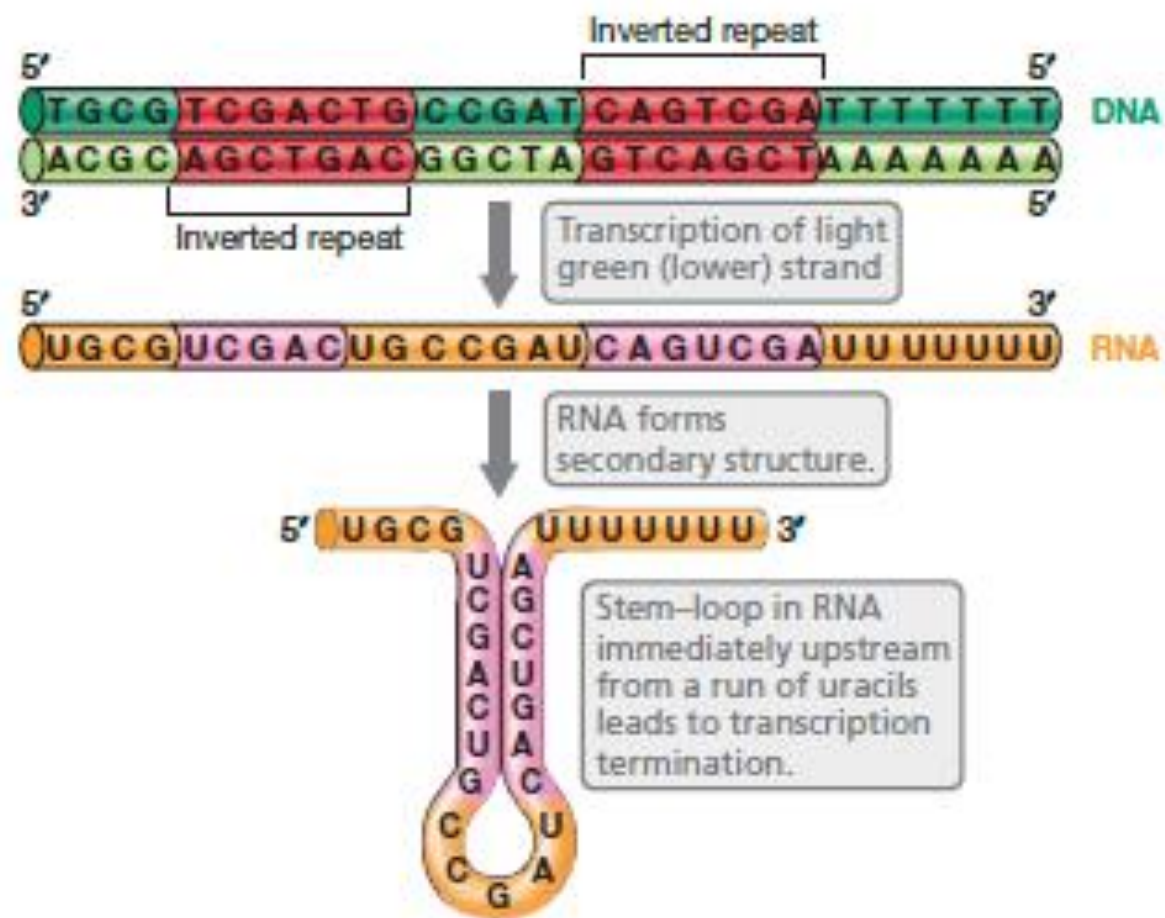
Table 4.4 Sigma factors in *Escherichia coli*

<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

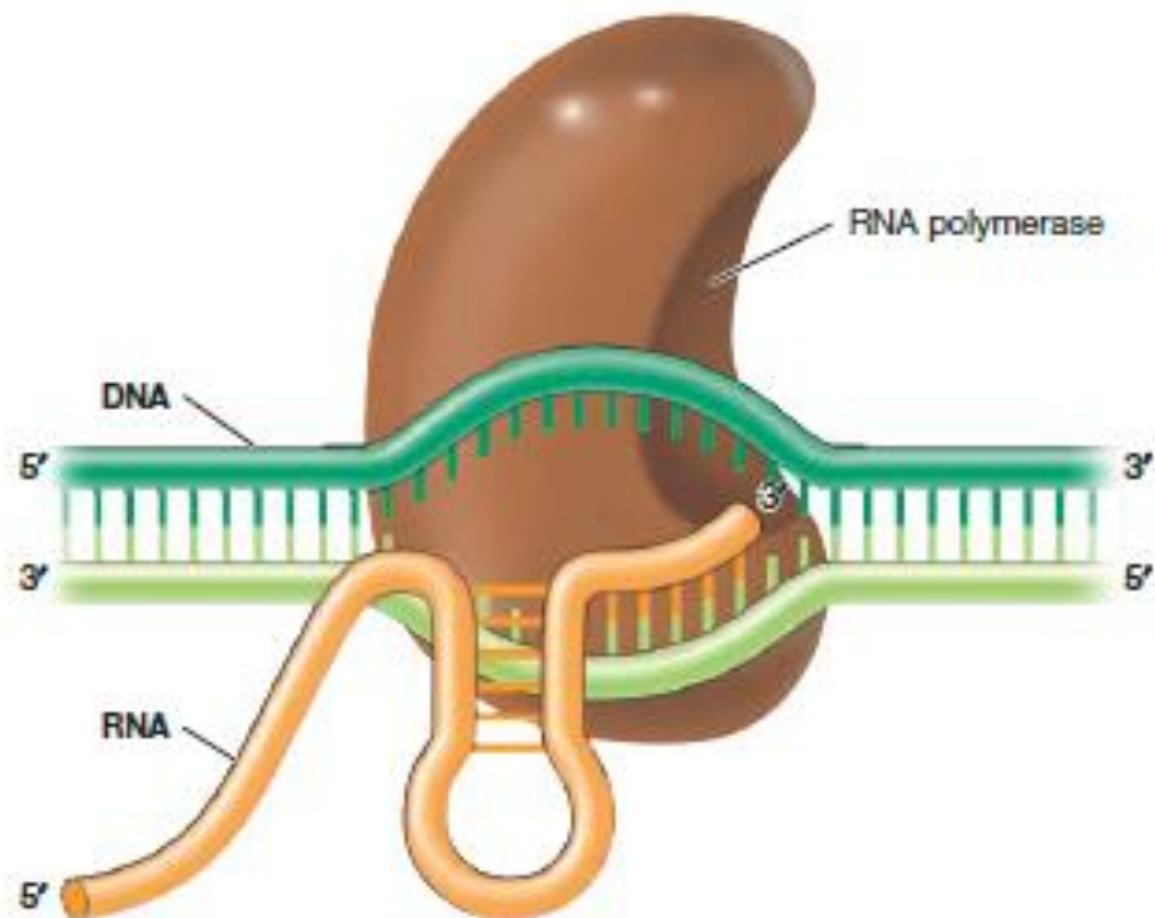
- **Transkripsiyonun Sonlanması**

- 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 cogunlukla 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)



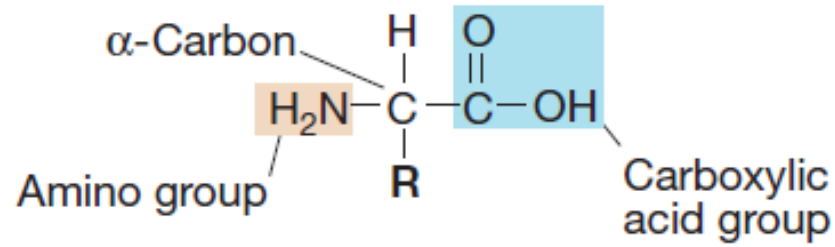
(b)

- 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.

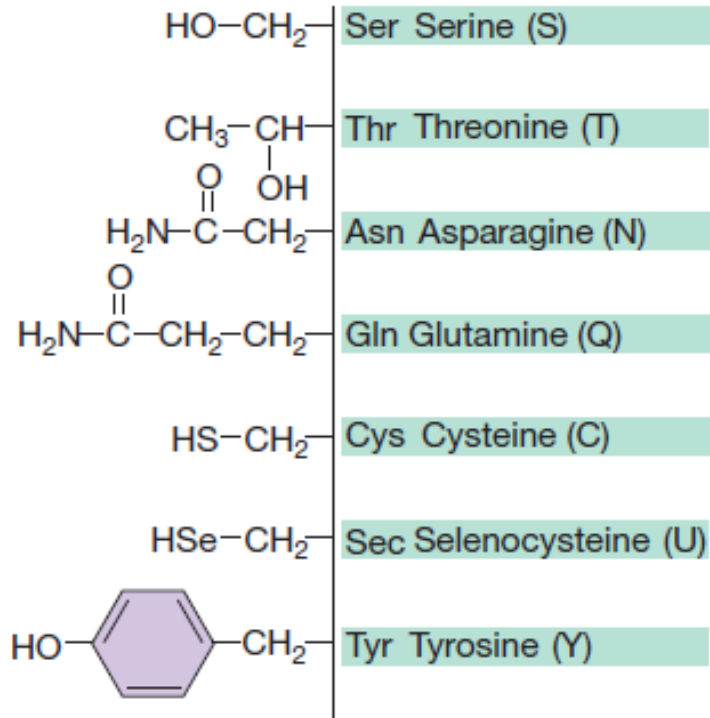
- <https://www.youtube.com/watch?v=1b-bRVgqof0&t=5s>

- **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.

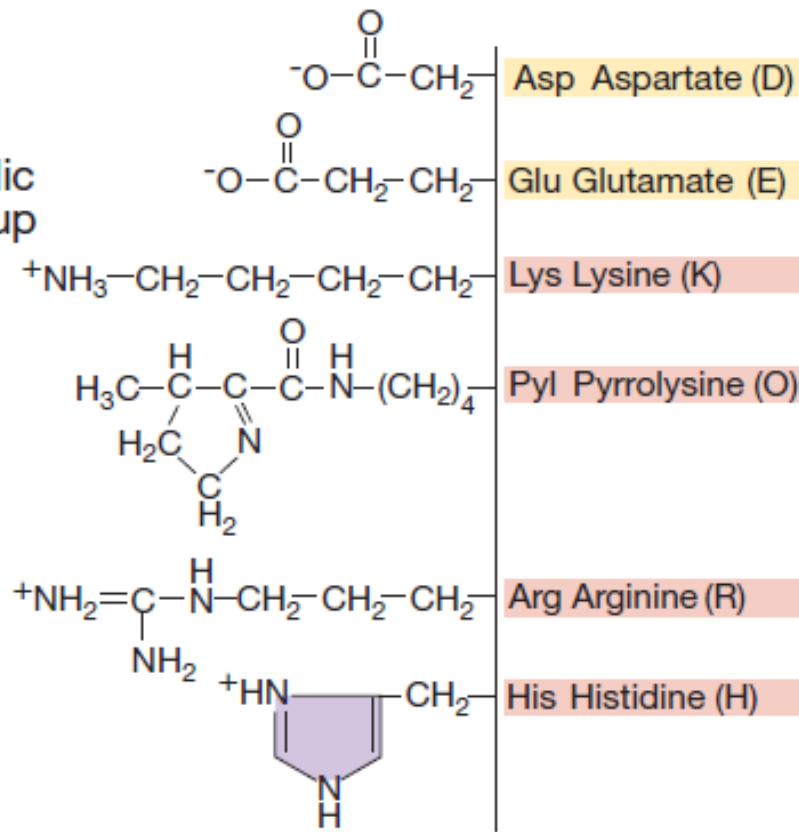
- Bütün amino asitler α -karbona bağlı bir amino grubu ($-\text{NH}_2$) ve bir karboksilik asit grubuna sahiptirler ($-\text{COOH}$). Bir amino asidin karboksil karbonu ile ikinci bir amino asidin azotu arasında oluşan bağ peptid bağı olarak bilinir. İki amino asidin bağlanması ile oluşan yapıya dipeptid 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

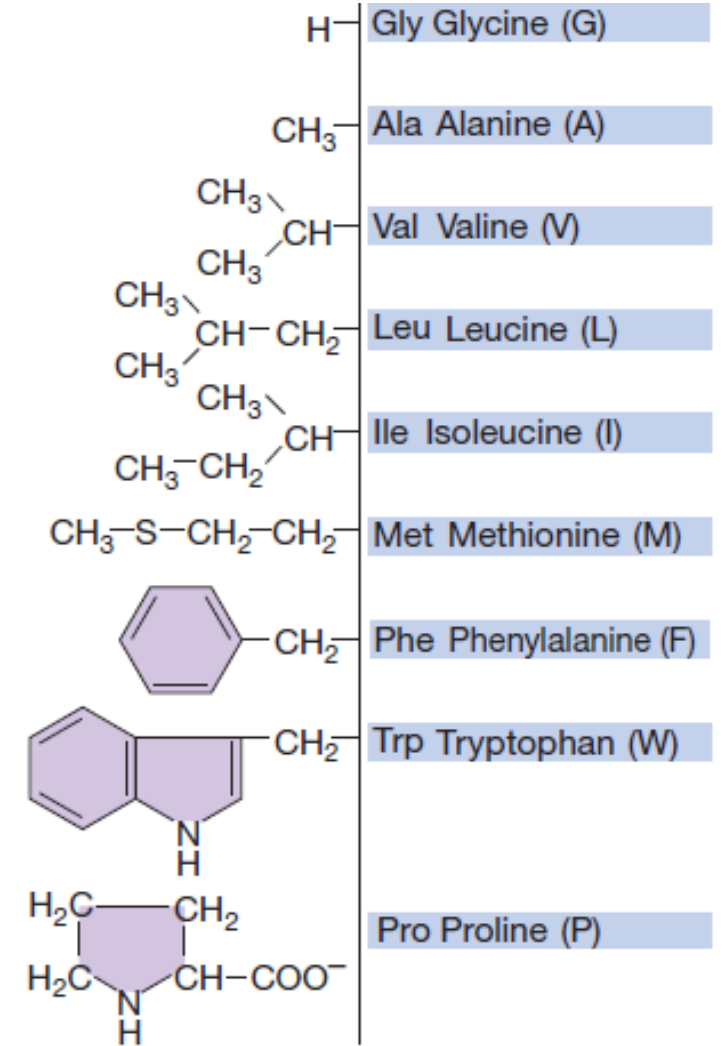


(b) Structure of the amino acid "R" groups



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 önce 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 her bir 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 kuralsız baz eşleşmesini tolere ederler. Bu durum **wobble hipotezi** olarak adlandırılır.

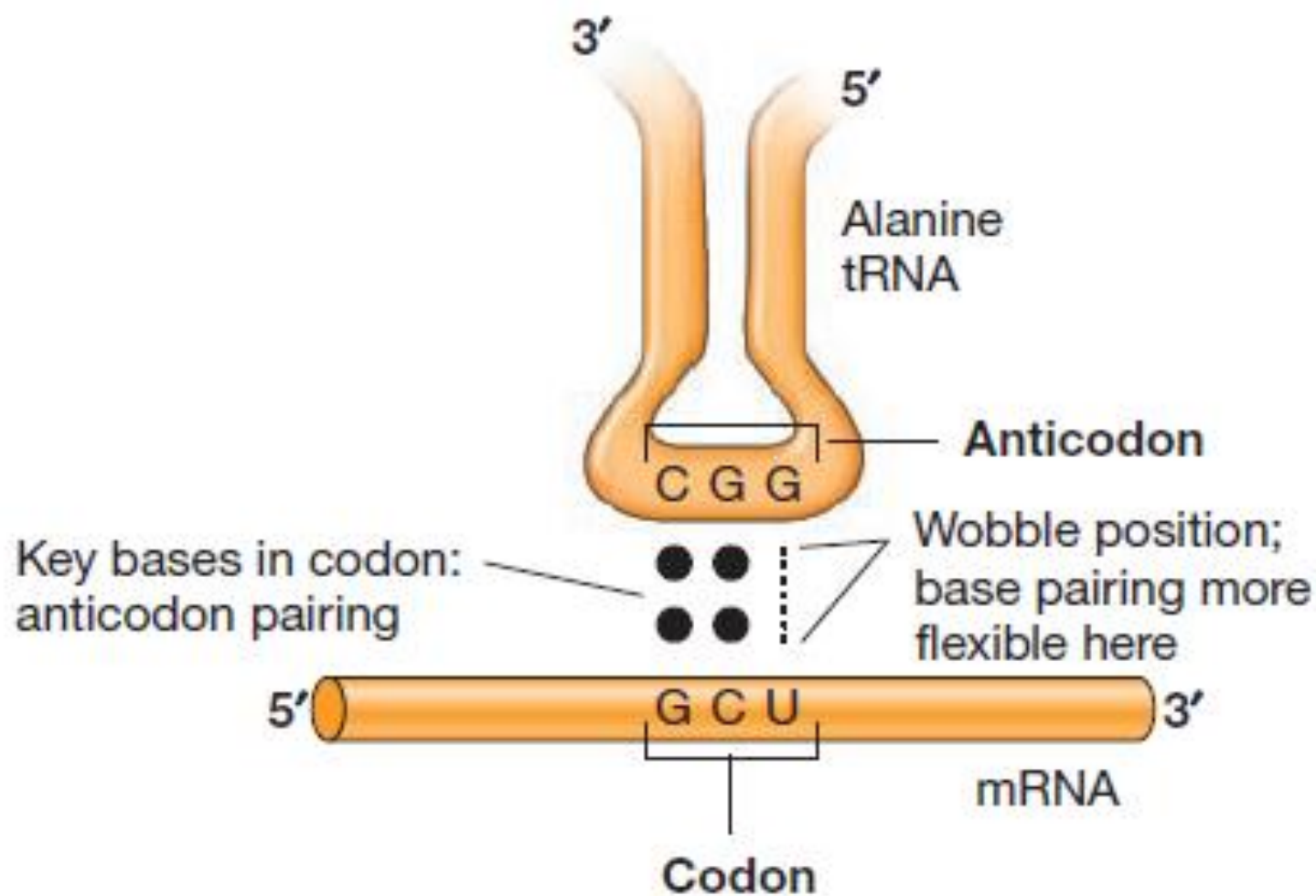


Figure 4.32 The wobble concept. Base pairing is more flexible for the third base of the codon than for the first two. Only a portion of the tRNA is shown here.

- 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 çerçeveleri (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'

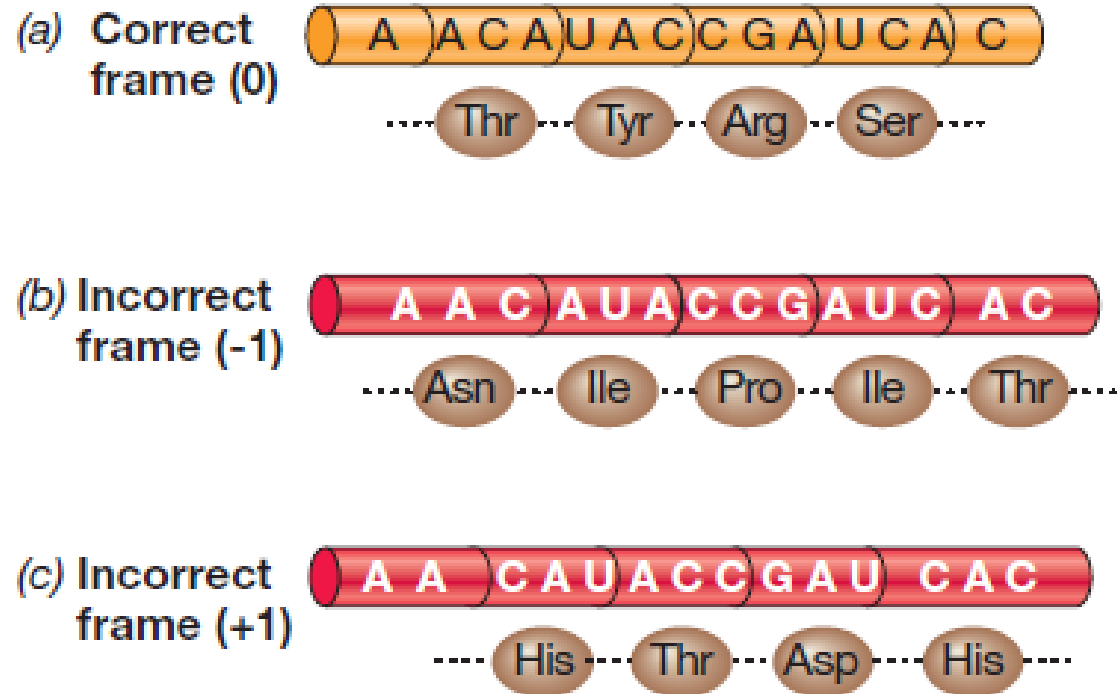


Figure 4.33 Possible reading frames in an mRNA. An interior sequence of an mRNA is shown. (a) The amino acids that would be encoded if the ribosome is in the correct reading frame (designated the “0” frame). (b) The amino acids that would be encoded by this region of the mRNA if the ribosome were in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

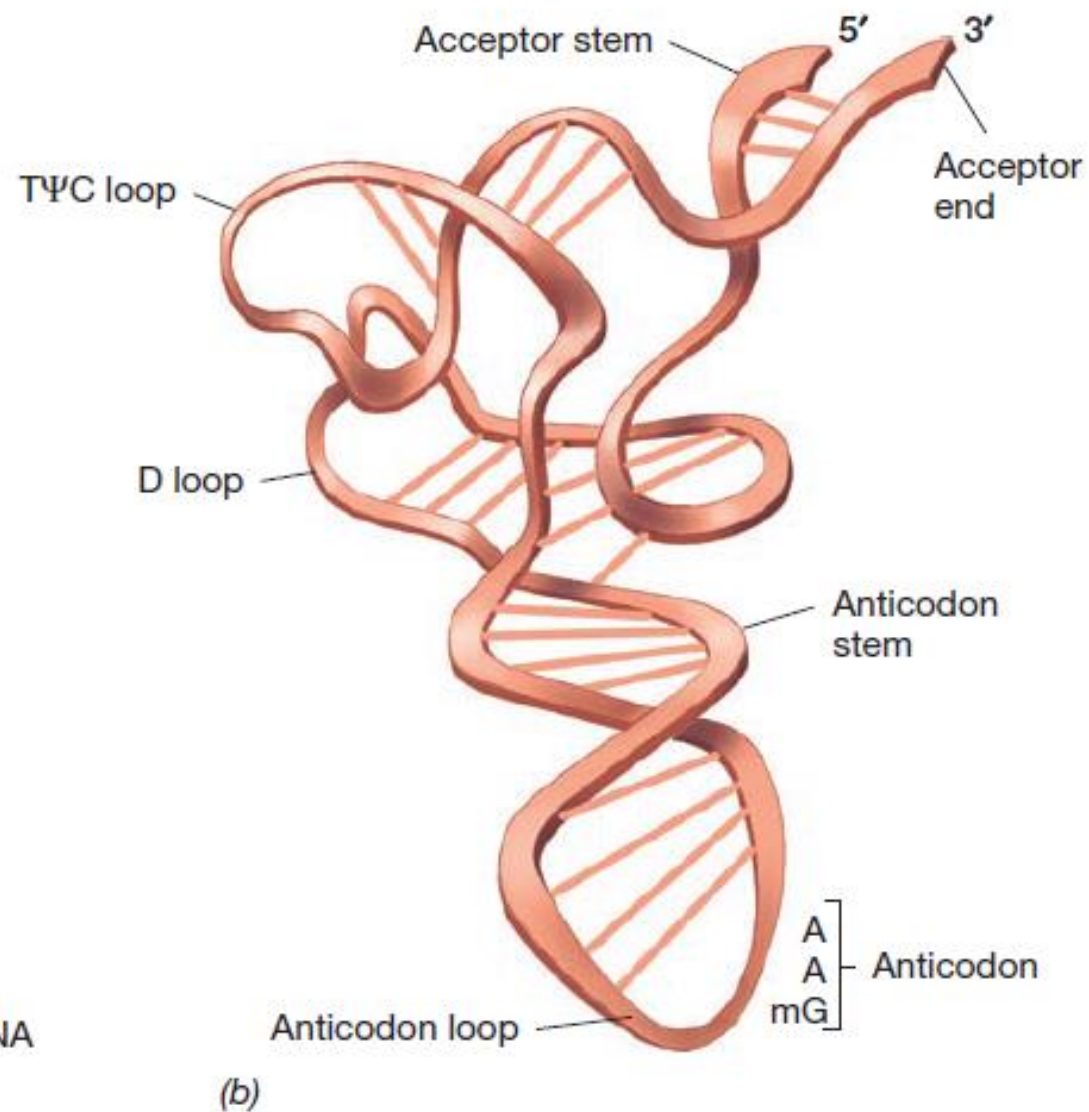
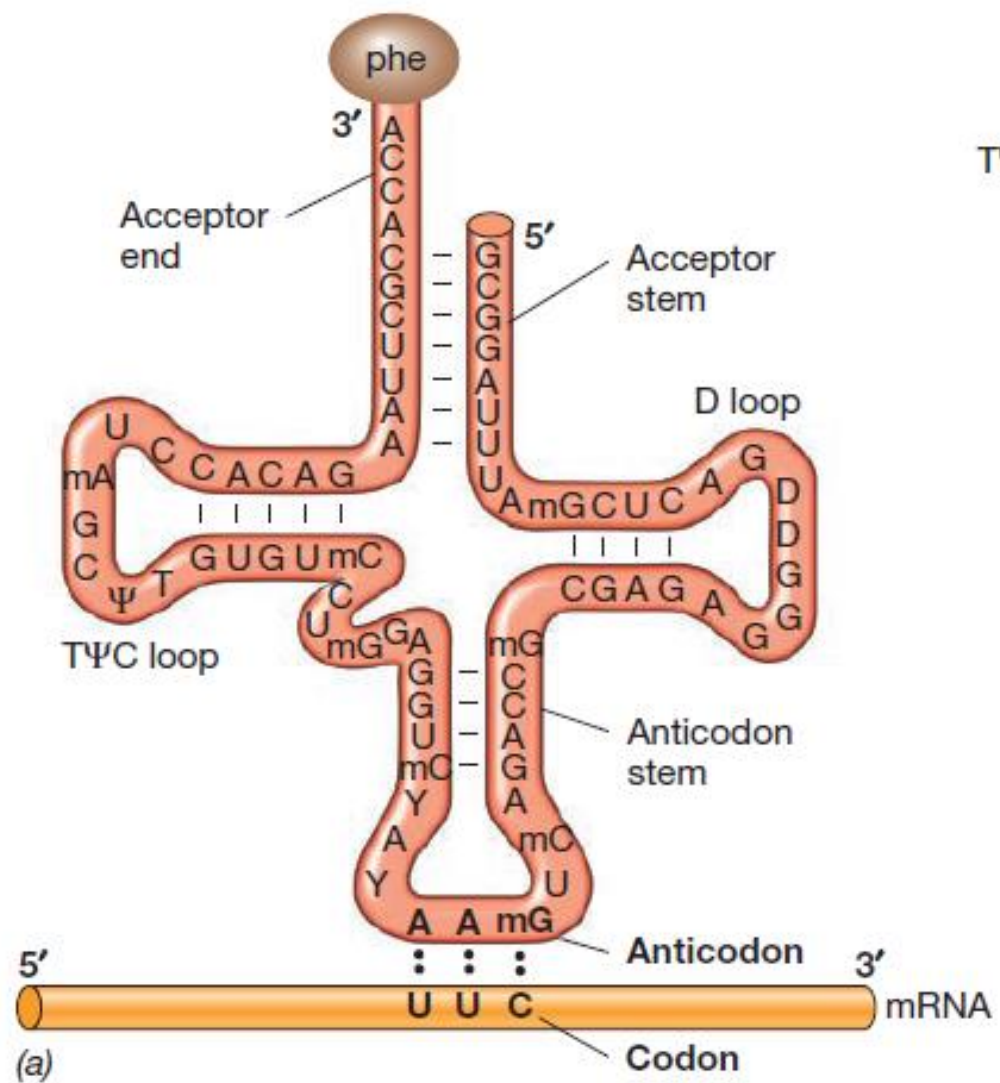
- Okuma çerçevesinin doğruluğu mRNA ve ribozom içindeki rRNA arasındaki etkileşimle garanti altına alınır. Prokaryotlarda mRNA'nın yukarısında bulunan bir bölgede bulunan *ribozomal bağlanma bölgesi(RBS)* veya Shine-Dalgarno adlı bir dizi yardımıyla, ribozomal RNA başlangıç kodonu olarak spesifik bir 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.

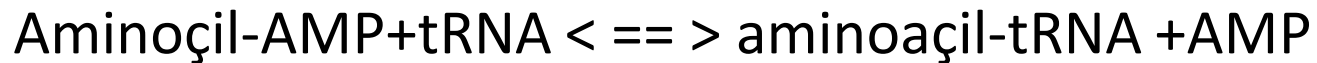
- Bütün tRNAların 3' ucu (alıcı uc) kısımlarında eşleşmemiş 3 nükleotit bulunur. Bu 3 nükleotit dizisi her zaman (CCA) şeklindedir ve tRNA işlevselliği için kesinlikle elzemdir.
- Eşlenik olan amino asit, daha sonra ilişkili olduğu tRNA'nın CCA ucuna tutturularak terminal adenin bağı ile kovalent olarak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

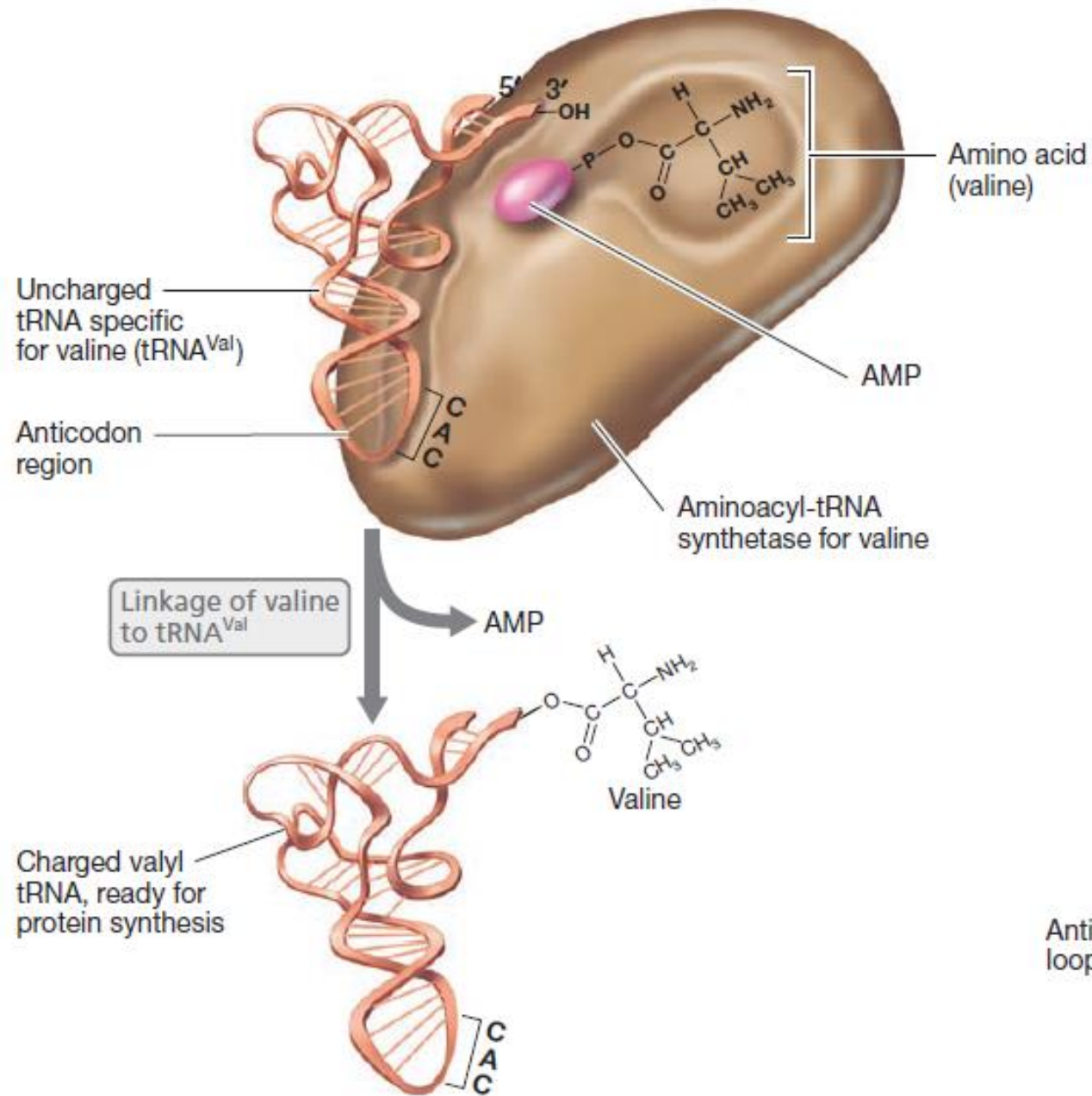
- **tRNA'ların tanınması aktivasyonu ve yüklenmesi**

- 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 baslar.

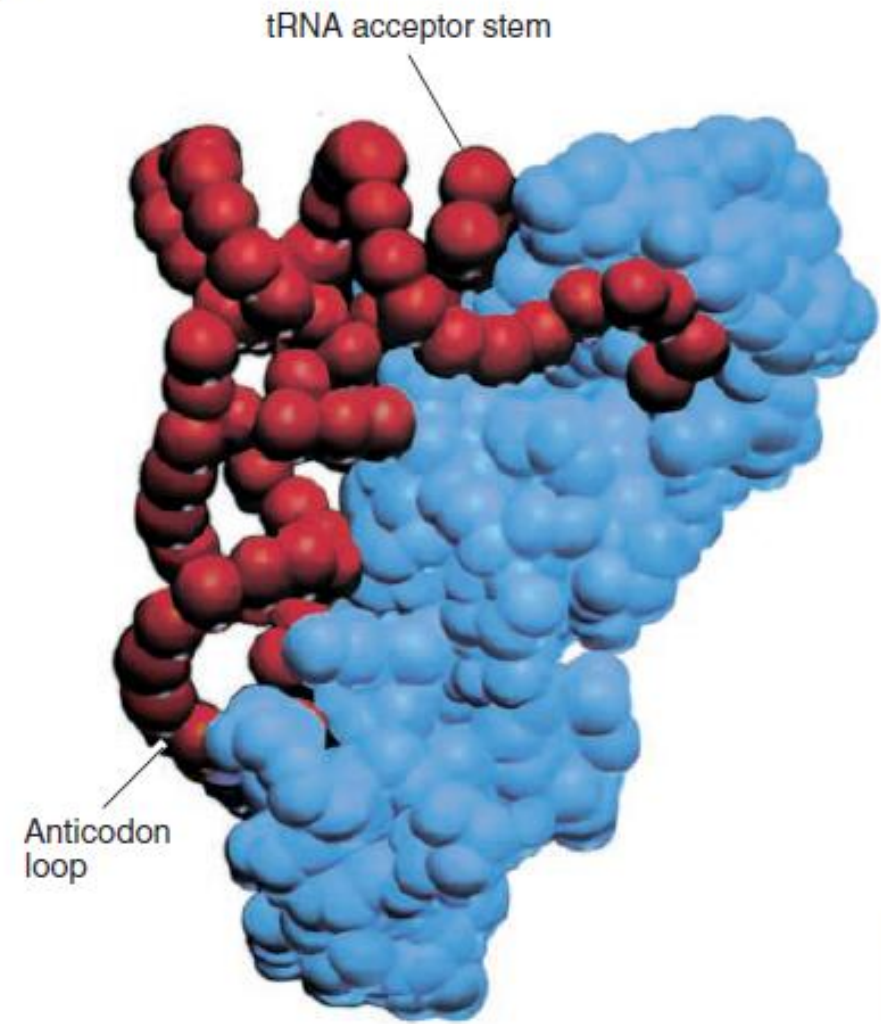


oluşan amino açıl-AMO ara ürünü uygun tRNA molekülü ile karsılasana dek tRNA sentetaza bağlı kalır. Daha sonra şekilde gösterildiği üzere yüklü bir tRNA oluşturabilmek için aktive edilmiş amino asit, tRNA ya bağlanır.





(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.

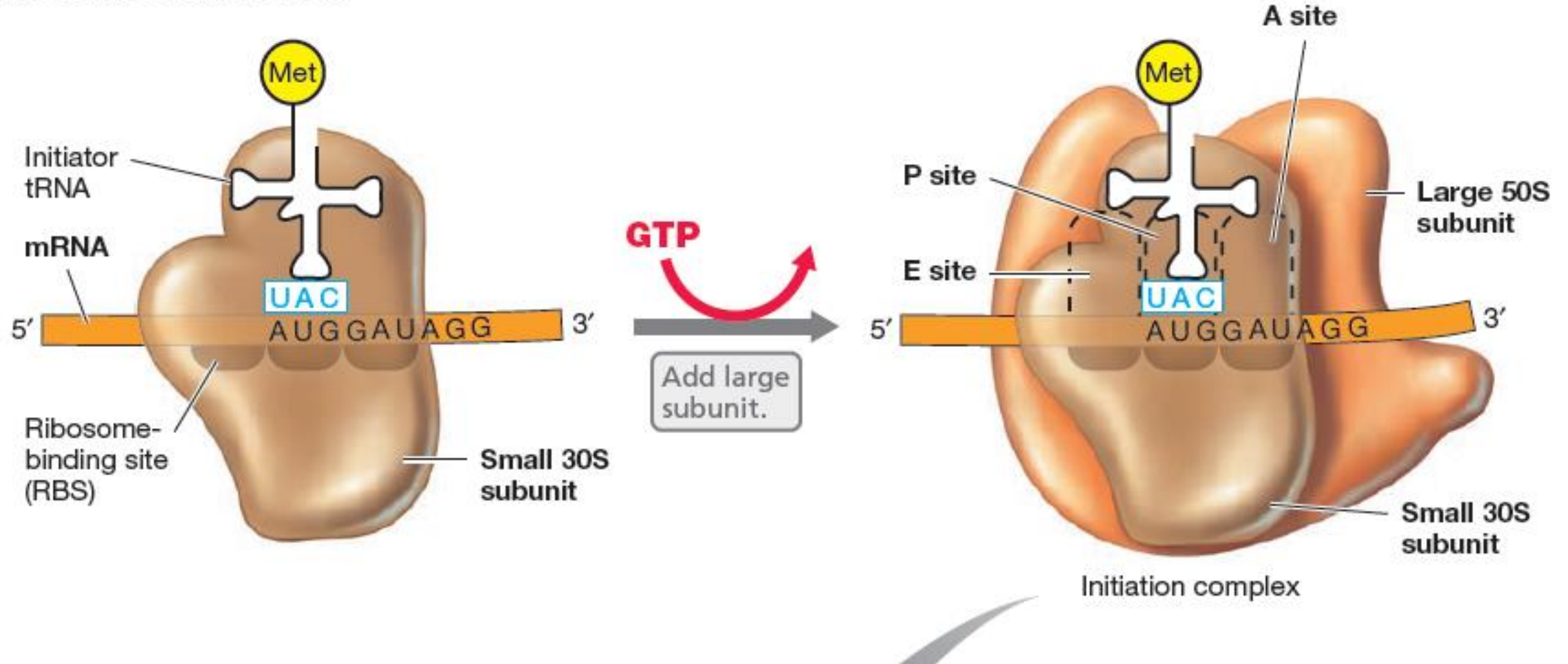
- **Uzama,Translokasyon ve Terminasyon**

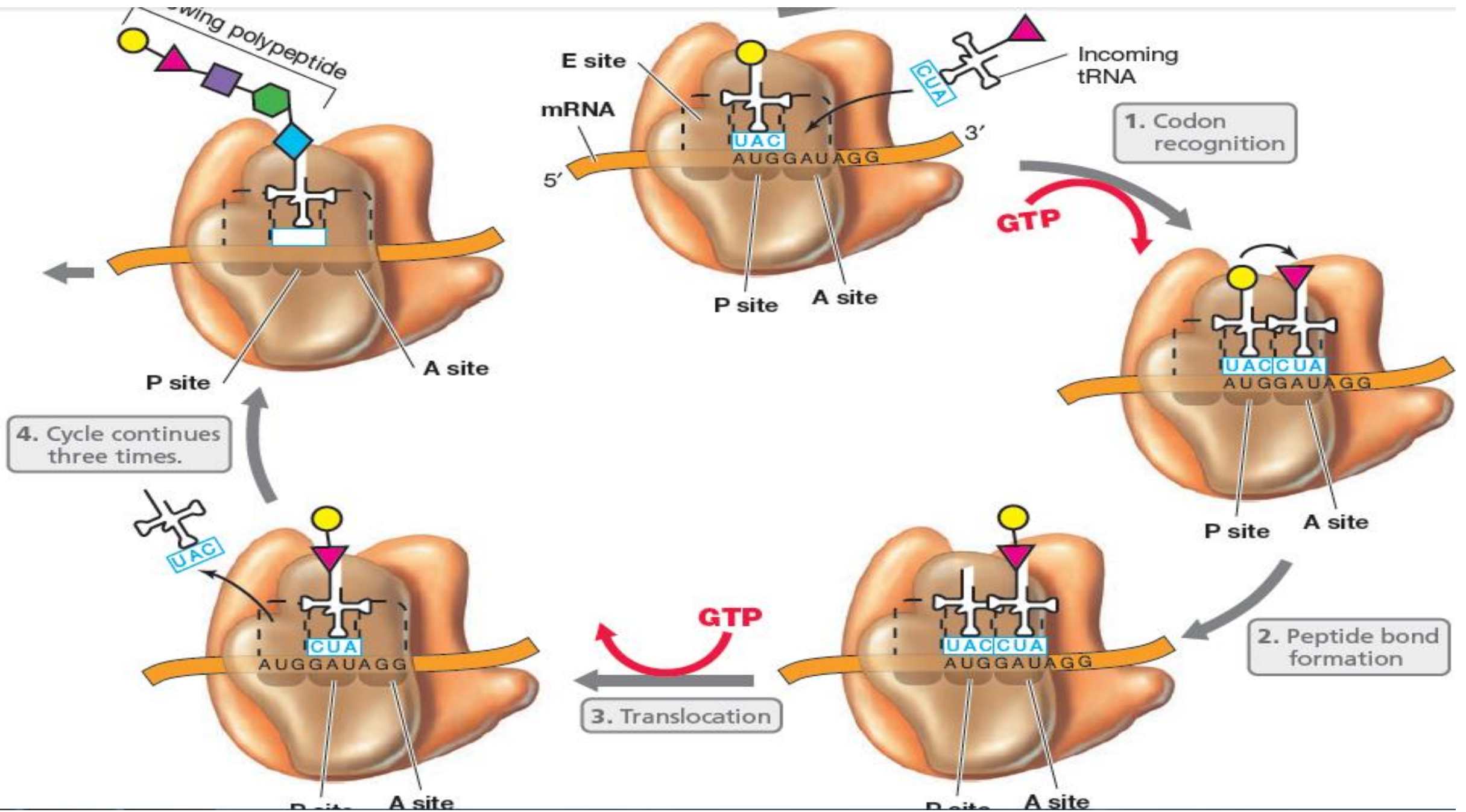
- Ribozomun tRNA'larla etkileşime girdiği bölgeler vardır. Bu bölgelerden iki tanesi temelde 50s üzerinde yerleşmiştir ve bu bölgeler A bölgesi ve P bölgesi olarak adlandırılmaktadır. A bölgesi alıcı bölge olup gelmekte olan yüklenmiş tRNA non ribozom üzerinde bağlandığı ilk bölgedir. Bir tRNA'nın uzama 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>