

Transkripsiyon

Transkripsiyon-Replikasyon Farkları

- 1.Replikasyon sırasında tüm kromozom kopyalanır fakat transkripsiyonda sadece bir **gen bölgesi** kopyalanabilir.
2. Transkripsiyon düzeyi organizmanın o andaki protein ihtiyacına bağlı olarak **değişir**. Her dokuda aynı anda farklı genlerin transkripsiyonu olur.
3. Transkripsiyon replikasyonda olduğu gibi bir **primer'e** ihtiyaç duymaz. Transkripsiyon için sadece bir DNA zinciri kalıp olarak iş görür.
4. DNA segmentinin başı ve sonunu belirleyen **spesifik düzenleyici dizeler** hangi DNA segmentinin şablon olarak kullanılacağını gösterir.
- 5.RNA polimerazın **proofreading** aktivitesi yoktur.

RNA Çeşitleri

Table 17.1 Types of RNA in a Eukaryotic Cell	
Type of RNA	Functions
Messenger RNA (mRNA)	Carries information specifying amino acid sequences of proteins from DNA to ribosomes.
Transfer RNA (tRNA)	Serves as adapter molecule in protein synthesis; translates mRNA codons into amino acids.
Ribosomal RNA (rRNA)	Plays catalytic (ribozyme) roles and structural roles in ribosomes.
Primary transcript	Serves as a precursor to mRNA, rRNA, or tRNA, before being processed by splicing or cleavage. Some intron RNA acts as a ribozyme, catalyzing its own splicing.
Small nuclear RNA (snRNA)	Plays structural and catalytic roles in spliceosomes, the complexes of protein and RNA that splice pre-mRNA.
SRP RNA	Is a component of the signal-recognition particle (SRP), the protein-RNA complex that recognizes the signal peptides of polypeptides targeted to the ER.
Small nucleolar RNA (snoRNA)	Aids in processing of pre-rRNA transcripts for ribosome subunit formation in the nucleolus.
Small interfering RNA (siRNA) and microRNA (miRNA)	Are involved in regulation of gene expression.

tRNA - küçük, 80 nt uzunluğunda, **antikodon** sekansı içeren, **single strand** ve ikincil katlanmalar geçirmiş bir moleküldür. mRNA'daki bilgileri okur ve uygun amino asitleri ribozoma taşır.

rRNA - ribozomların yapısal bileşenidir.

mRNA- bir gen veya gen seti ile bir veya daha fazla polipeptidin

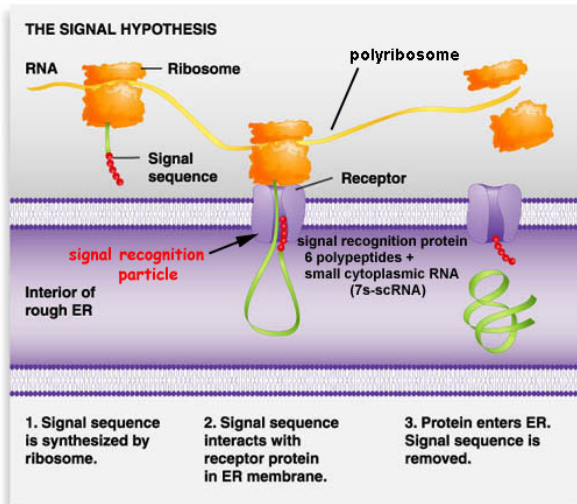
amino asit dizisini kodlar.

hnRNA- ökaryotlarda olgunlaşmamış öncül mRNA (pre-mRNA) molekülüdür.

small nuclear RNA (snRNP's)- spliceosome oluşumunda yapısal ve katalitik rol oynar. 5 snRNP's spliceosome yapısına katılır. [U1, U2, U4, U5, & U6];

SRP (signal recognition particle)- **scRNA**, ER'a hedeflenmeyi sağlayan protein-RNA kompleksinin bileşenidir ve polipeptitteki sinyal dizilim ile belirlenir.

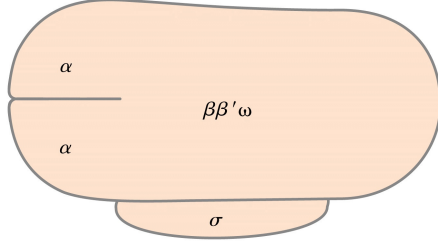
micro RNA's (micro-RNA)- antisense RNA & interfering RNA olarak da adlandırılır. mRNA bağlanarak inaktive eden 20-24 nt uzunluğundaki kısa RNA molekülleridir.Gen ekspresyonunu regüle eder.



Prokaryotik- Ökaryotik RNA polimeraz enzimler

Prokaryotlarda, RNA polimeraz kompleks tek bir enzimdir. Kompleks $\alpha 2\beta\beta' \omega$ ve promotor bölgesini tanıyan σ subünitesinden oluşur.

Enzimin aktif formuna **holoenzim** denir. β ve β' katalitik bölgelerdir ve transkripsiyon için aktif merkezi oluştururlar.



RNA polimeraz'ın 3' → 5' **proofreading aktivitesi yoktur**. $1/10^4 - 10^5$ ribonükleotid hata oranı vardır. RNA hücre içinde geçici olarak sentez edildiğinden hatanın kalıcı etkisi yoktur.

Ökaryotlarda, 3 farklı tiptedir: RNA polimeraz I, II, III

RNA polimeraz I (Pol I) tek tip RNA sentezinden (preribozomal RNA) sorumludur. Bu RNA 18 S, 5.8 S ve 28 S rRNA'lar için prekürsördür.

RNA polimeraz II (Pol II)'nin temel fonksiyonu mRNA ve bazı spesifik RNA'ların sentezidir. Bu enzim binlerce farklı RNA bölgesini tanıyabilir.

RNA polimeraz III (Pol III); tRNA, 5 S rRNA ve bazı küçük özel RNA'ları sentezler.

Transkripsiyon için temel gereksinimler ?

RNA polimeraz enzimi

DNA kalıbı (**sadece bir DNA zinciri kalıp olarak iş görür**, replikasyonda her iki zincirin tam kopyası çıkarılıyordu!!!!)

NTP (ATP, GTP, UTP ve CTP) (**dNTP değil !!!**)

Mg²⁺ ihtiyaç vardır.

RNA polimerazlar transkripsiyona başlayacağı gen bölgesini nasıl tanır ?

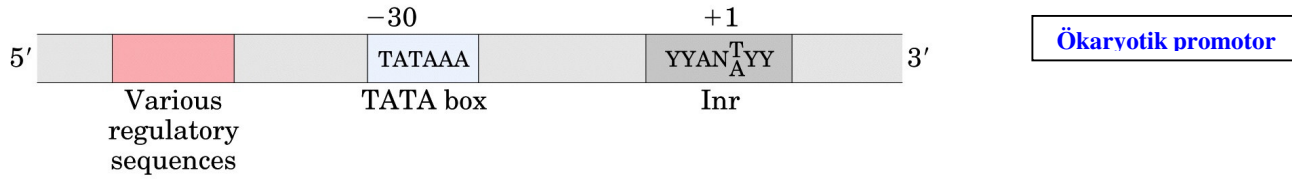
Promotor, RNA polimerazın transkripsiyonu başlatmak üzere DNA'ya bağlandığı özel bölgelerdir.

Bakteriyel promotorlarda -10 (5') TATAAT ve -35 (5') TTGACA olmak üzere **iki konsensus dizi** bulunmuştur. Üçüncü bir AT'den zengin bölge UP (upstream promotor) olarak adlandırılır ve birçok genin -40 ve -60 bölgesindedir. Promotorlardaki, konsensüs diziler türler arasında korunmuştur (tamamen aynı değildir)

	UP element	-35 Region	Spacer	-10 Region	Spacer	RNA start
Consensus sequence	NNAAA ^{AA} -A ^T TTTNNAAAANN	TTGACA	N ₁₇	TATAAT	N ₆	+1
rrnB P1	AGAAAATTATTTTAAATTCCT	GTGTCA	N ₁₆	TATAAT	N ₈	A
trp		TTGACA	N ₁₇	TTAACT	N ₇	A
lac		TTTACA	N ₁₇	TATGTT	N ₆	A
recA		TTGATA	N ₁₆	TATAAT	N ₇	A
araBAD		CTGACG	N ₁₈	TACTGT	N ₆	A

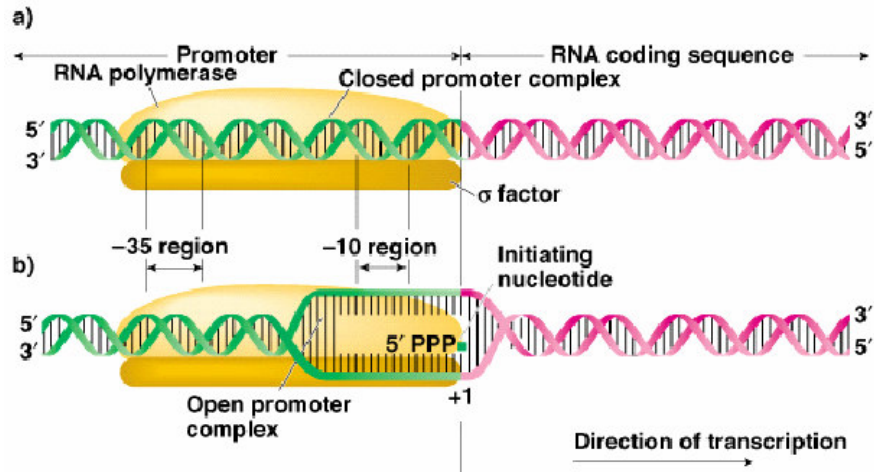
Prokaryotik promotor

Ökaryotik promotorda, transkripsiyon başlangıcından sonraki, ~-25 bç; örn "**TATA Box**" ve ~-50 -200 bç ilerideki . "**Cat Box**" = CAAT ve "**GC Box**" GGGCGG dizimleri yer alır.

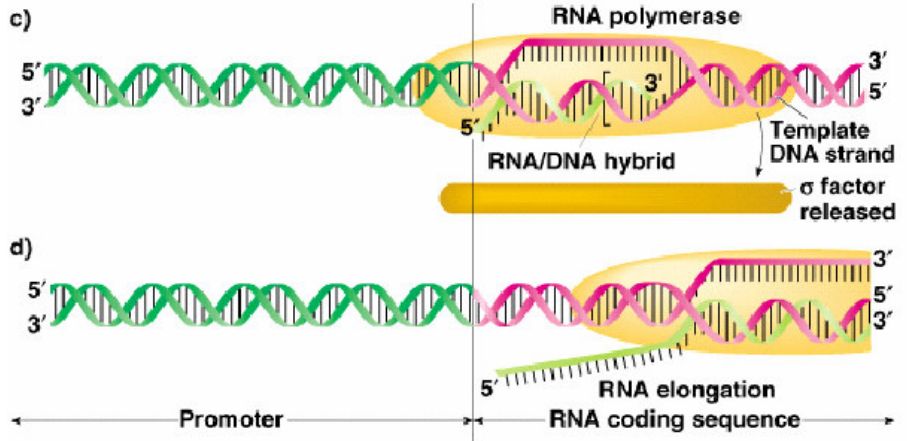


Prokaryotik Transkripsiyonun Basamakları

I- Initiation- başlama- Kalıba bağlanma, RNA polimerazın sigma alt birimi ile DNA'nın özgül promotor dizisine bağlanması ile gerçekleşir. Transkripsiyon için bir "buble" gereklidir. Bu *E. coli*'de 17 baz çifti uzunluğundadır.



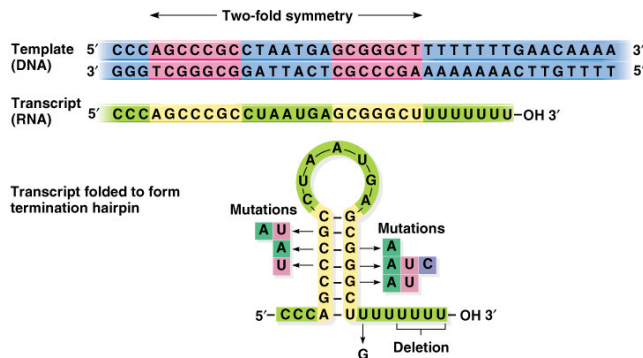
II- Elongation-uzama: 8-9 bç uzunluğunda RNA sentezlendikten sonra sigma faktörü RNA polimerazın yapısından ayrılır. *E. coli*'de zincir uzama hızı 50-90 nükleotid/saniye'dir. DNA sarmalı hızlı şekilde çözülür ve enzim bölgedeki sentezi tamamlayınca hemen eski sarmal haline çevrilir. Yeni RNA zinciri kısmı olarak DNA-RNA hibridi şeklindedir, fakat büyük kısmı tek zincirli serbest formdadır.



Termination-sonlanma: Prokaryotlarda terminasyon dizileri iki tiptir: **p faktörü bağımlı** ve (**p-independent**)

Tip I (p-independent): **Palindromik**, inverse repeat dizilerinin oluşturduğu hairpin loop yapısı ile DNA-RNA hibridi kararsız hale gelir ve sentez sonlandırılır

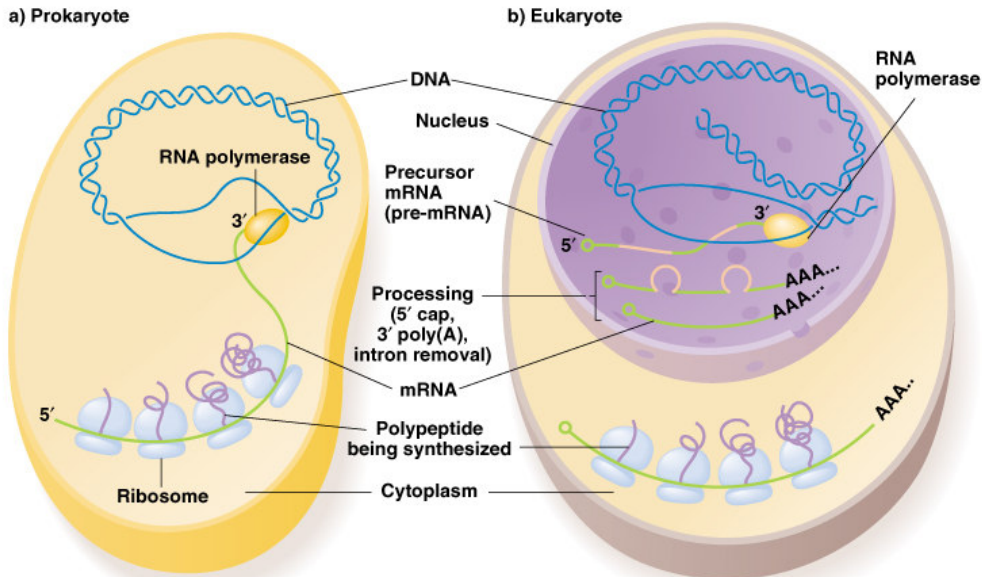
Tip II p faktörü bağımlı- DNA kalıbı ve RNA



Ökaryotik Transkripsiyon ve Farkları

- Ökaryotlarda transkripsiyon çekirdekte, translasyon sitoplazmada birbirinden tamamen ayrılmış olarak gerçekleşir.
 - Transkripsiyonda 3 farklı RNA pol enzimi görev alır. RNA polimeraz II mRNA transkripsiyonunu yapan enzimdir.
 - Promotörlere ek olarak genin 5' kontrol bölgesinin dışında genin içinde ve 3' aşağı bölgesinde de yer alabilen **enhansır (Trans-acting faktörler)** olarak bilinen diziler bulunur. Prokaryotlarda olduğu gibi, promotorda, iki tip dizi ihtiyacı vardır
- Bazal elementler (transkripsiyon başlangıcından sonraki, ~-25 bç; örn **"TATA Box"** = TATAAAA) *AT-rich DNA
 - Proximal elementler (upstream, ~-50 to -200 bç, . **"Cat Box"** = CAAT and **"GC Box"** GGGCGG)
- Sentezlenen ilk RNA kopyası, olgun ökaryotik mRNA ya dönüşmek için bir dizi işleme basamağından geçer. Bu nedenle Transkripsiyon ve translasyon birarada olmaz.
 - Ökaryotik mRNA'lar monosistroniktir.

Prokaryotik mRNA'lar → mRNA modifikasyona uğratılmadan translasyonda kullanılır. Prokaryotlar nucleus içermediğinden, mRNA transkripsiyon tamamlanmadan ribozomlara bağlanarak aynı anda translasyona da katılır. **Prokaryotlarda mRNA'lar polisistronik yapıdadır.**



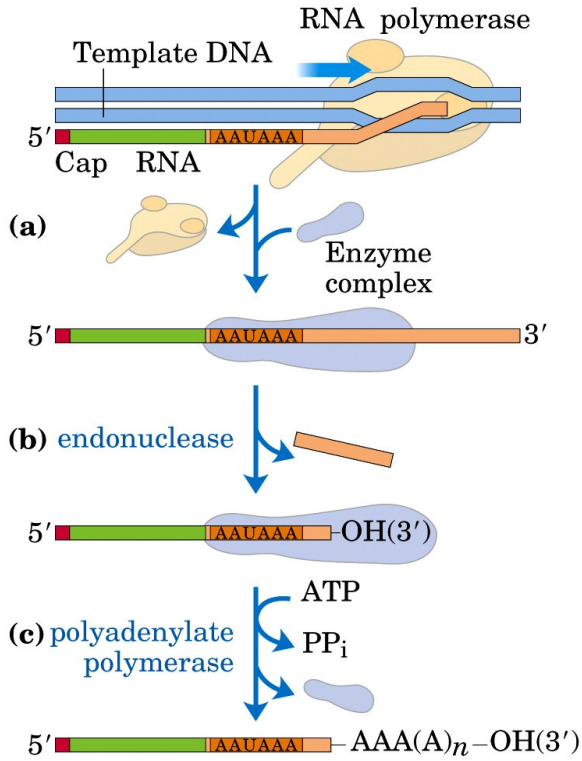
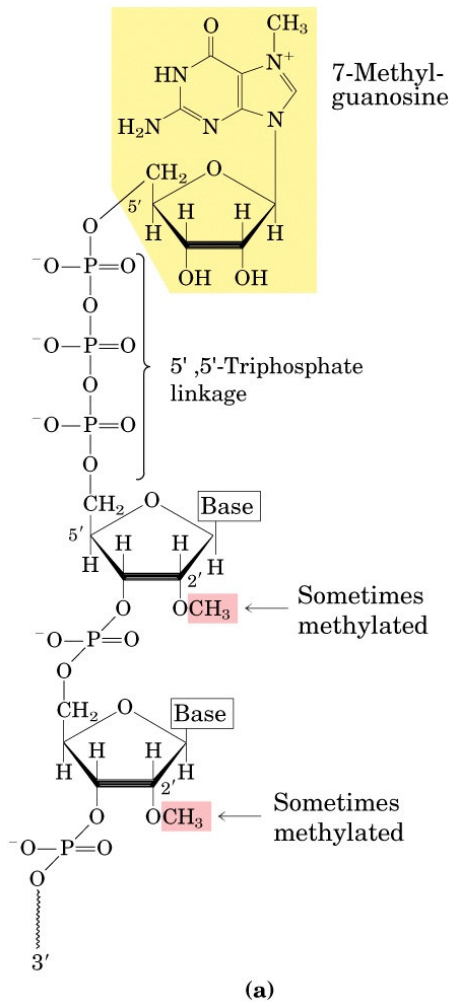
Ökaryotlarda mRNA'nın İşlenmesi

Sentezlenen mRNA pre-mRNA formundadır. İşlenme basamakları

1. mRNA'nın 5' ucuna şapka (cap) yapısı takılır.

20-30 nt mRNA sentezinden sonra, mRNA'nın 5'- ucuna 7-metilguanozin 5' → 5' trifosfat bağı ile eklenir. Bu yapı mRNA'nın ribozomlara bağlanması için esastır.

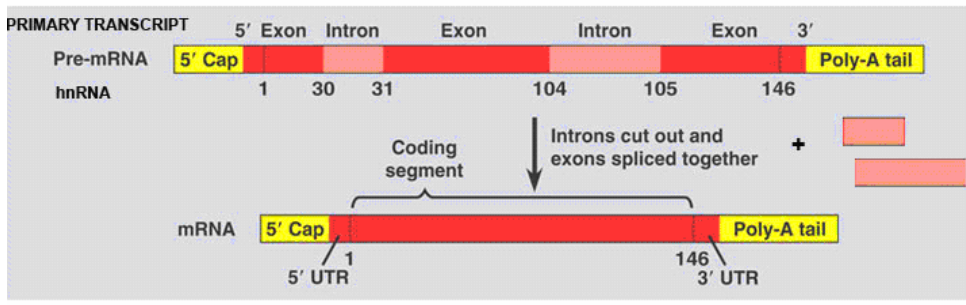
2. mRNA'nın 3' ucuna poli A kuyruğu (50-250 A nt) eklenir. Bu yapı transkripsiyon sonlanması ve mRNA kararlılığı için esastır.

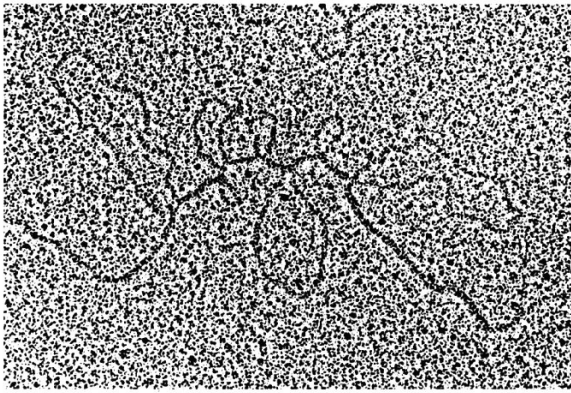


3. Eğer mRNA split gen formunda ise yani intron (kodlayıcı olmayan sekanslar) içeriyorsa,

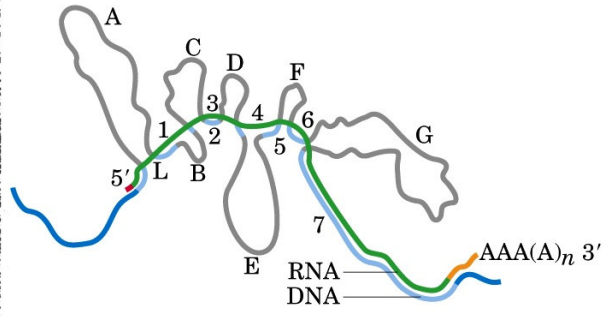
✓ Okaryotik pre-mRNA'lar genellikle intron içerirler (ve bazı virüsler)

intron = ekzon bölgeleri arasında kalan non-coding DNA dizileri, exon = a.a kodlayan DNA dizileridir.





(a)

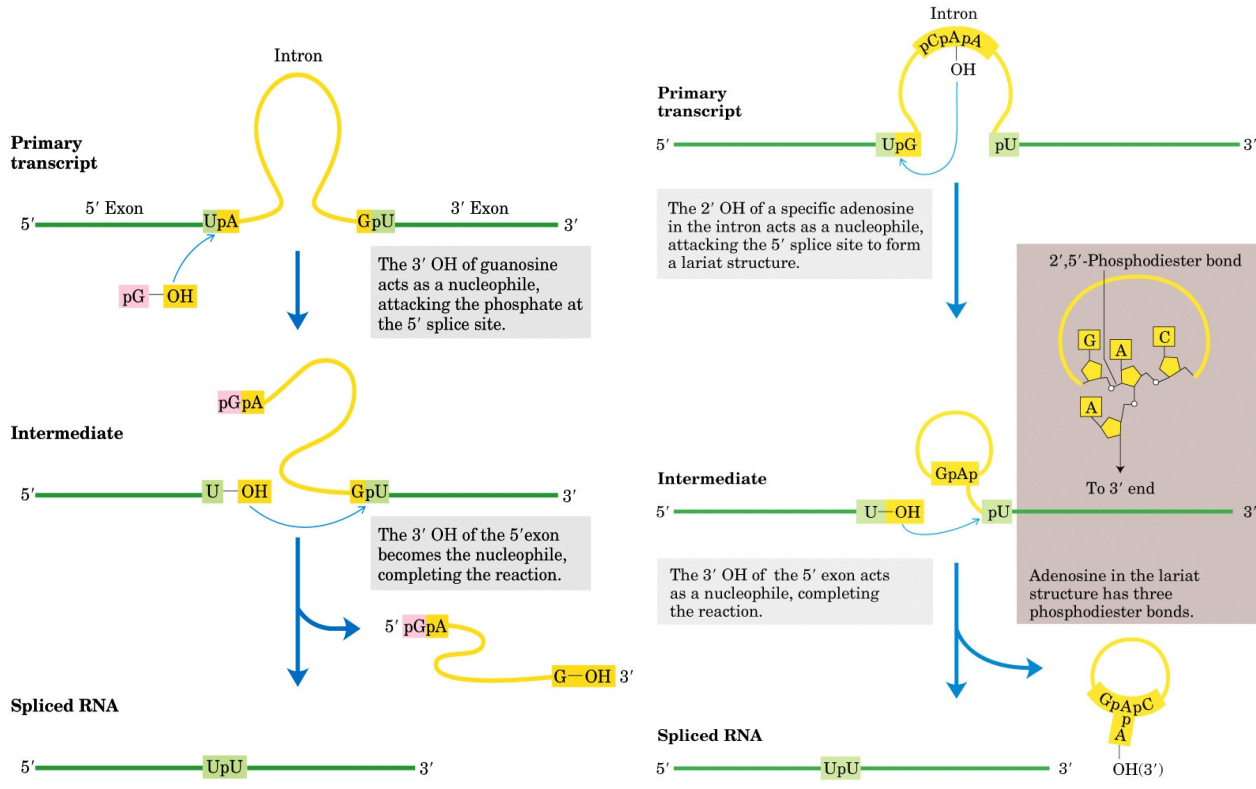


(b)

RNA-DNA hibridizasyonu ile tavuk ovalbumin genindeki kodlayıcı olmayan dizelerin gösterilmesi

Öncül mRNA yapısındaki proteine dönüşmeyecek bölgeler (intronlar) çıkartılarak proteine dönüşecek bölgeler (eksonlar) birleştirilir. Bu işleme sıplaysing (splicing) denir.

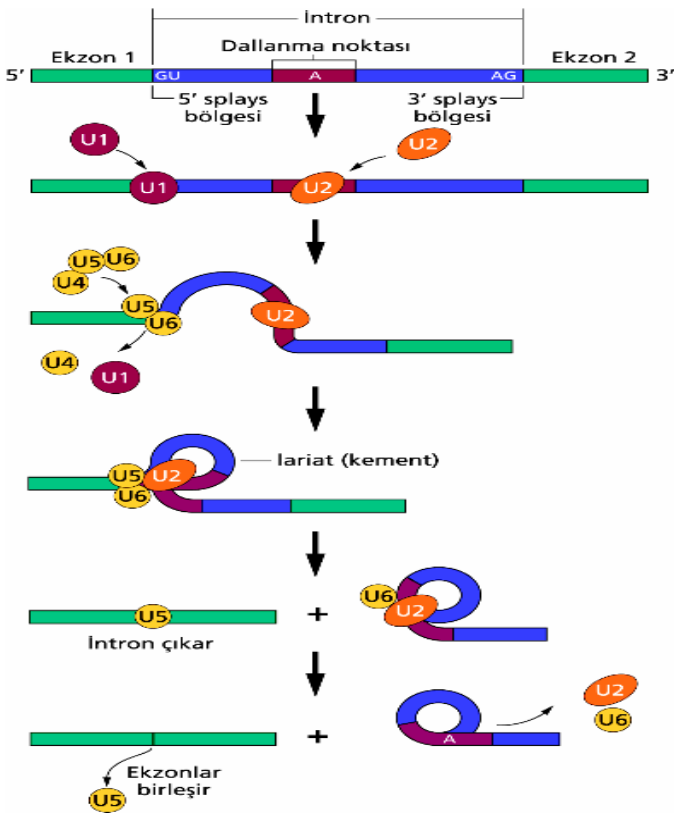
Tüm intronlar 5'-GT(U) dizisi ile başlar ve AG-3' dizisi ile biter.(Splicing için anahtar dizi) Splicing mekanizmasında gerçekleşen işlemler;



A-Grup I intronlarda splicing (eklenme) mekanizması

B-Grup II intronlarda splicing (eklenme) mekanizması

C- Spliceosome kompleksi ile eksonların birleştirilmesi- Küçük snRNP (nükleer ribonükleoproteinler) tarafından yürütülen bir mekanizmadır.



Post-transkripsiyonel modifikasyon, mRNA editing:

1. pre-RNA'daki nükleotidlere ekleme - çıkarma yada yapıdaki bazların kimyasal değişikliğe uğratılmasıyla (böylece mRNA'daki bazlar ilgili DNA sekansı ile tam komplementerlik göstermez)
2. Amino asitlerin değişikliği, ekleme yada çıkarılmasıyla gerçekleştirilir.

RNA editing, genellikle hücre yada dokuya spesifiktir. (Örn. protozoa, slime molds, bitki organelleri, memeliler)

RNA polimerazın inhibisyonu

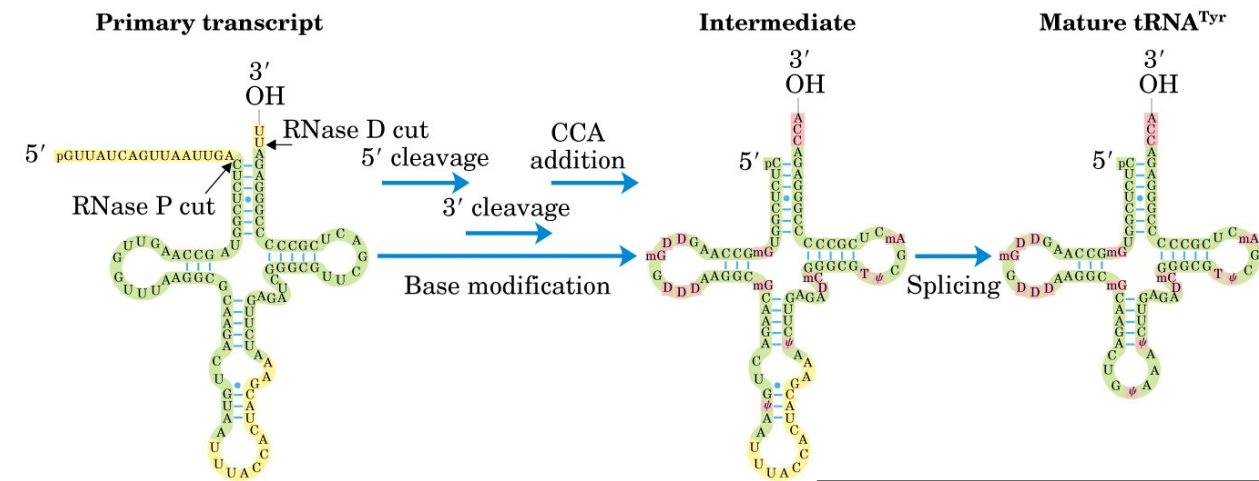
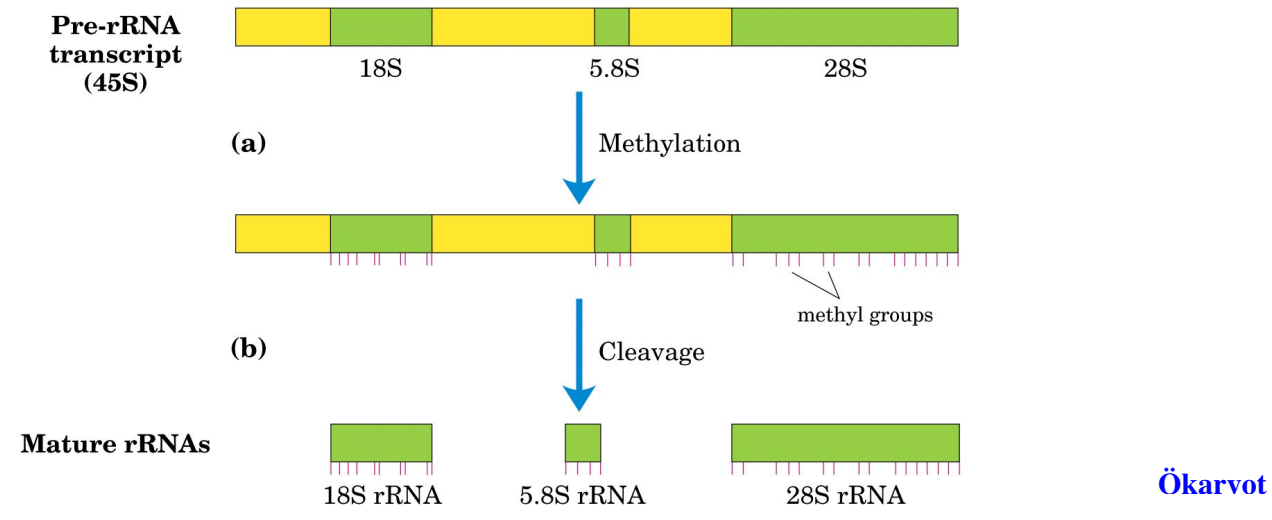
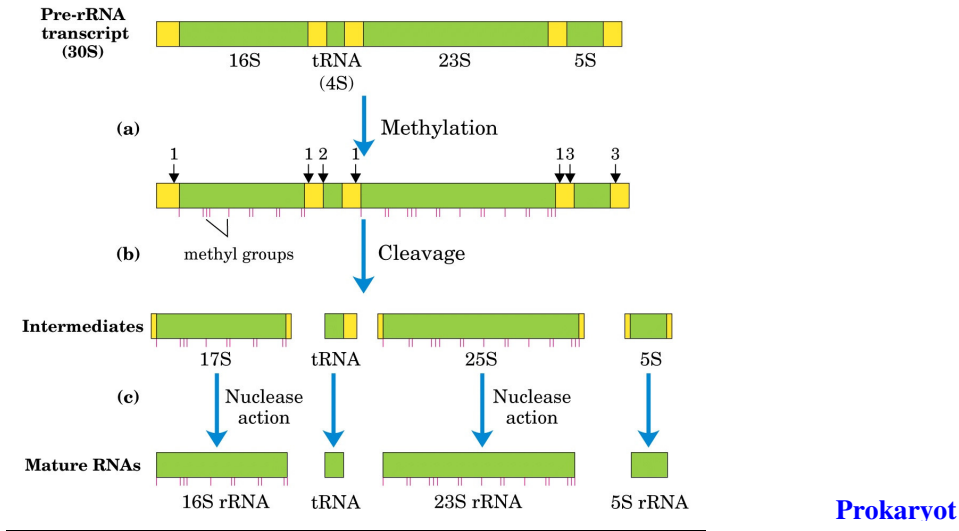
- **Aktinomisin D:** Antibiyotik olarak kullanılır Bakteri ve ökaryotlarda G=C baz çiftleri arasına girerek DNA yapısını bozar.
- **Rifampisin:** Bakteriyel RNA sentezini RNA polimerazın β subünitesine bağlanarak inhibe eder.
- **A-amanitin:** Pol II'yi yüksek dozlarda inhibe eder. Pol I üzerine etkisi yoktur.

Hücrel mRNA'lar farklı hızlarda yıkılırlar

- Vertebralı hücrelerinde ortalama mRNA yarı ömrü yaklaşık 3 saattir. Ökaryotik hücrelerde poli (A) birçok mRNA'nın stabilitesi için önemlidir.
 - Bakteriyel mRNA'nın yarı ömrü ise yaklaşık 1.5 dakika'dır.
- ⇒ RNA ribonükleazlar ile yıkılır (genellikle 5' → 3' yönünde).
- Laboratuvarlarda polinükleotid fosforilaz enzimi sentetik RNA polimerleri yapımında kullanılır.

Ribozomal RNA ve tRNA'lar da İşlenirler

- Hem prokaryotik hem de ökaryotik hücrelerde ribozomal DNA'lar daha uzun olan preribozomal RNA'lardan oluşurlar. Birçok hücre 40-50 farklı tRNA içerir ve ökaryotik hücreler birçok tRNA geninin çoklu ve intron içeren kopyalarını içermektedir.
- RNAase D ve RNAase P bu intronların çıkarılmasında görev alan enzimlerdir. RNAase P'nin hem RNA hem de protein komponenti bulunur.



Bakteri ve ökaryotlarda tRNA oluşumu