

MOLEKÜLER BİYOLOJİ

DOÇ. DR. MEHMET KARACA

RİBOZOMLAR

Ribozom **RİBONÜKLEOPROTEİN** (RNP) yapısındadır. Ribozomlar hem protein hem de RNA moleküllerinden oluşur. Ribozomlar protein ve RNA moleküllerinden oluşan iki alt üniteden oluşur. Ribozomlar bütün organizmalarda protein sentezinden sorumlu hücre organelleridir.

Bakteride 3 değişik rRNA vardır ve bu RNA'lar iki ribozom alt ünitenin (50S ve 30S) oluşumunda görev yapmaktadır.

İki ribozom alt ünitenin birleşmiş hali 70S büyüklüğünde olup %60-65 oranında rRNA ve %35-40 oranından proteinden teşkil edilmiştir.

Ö/PRO-KARYOTİK RİBOZOMLAR

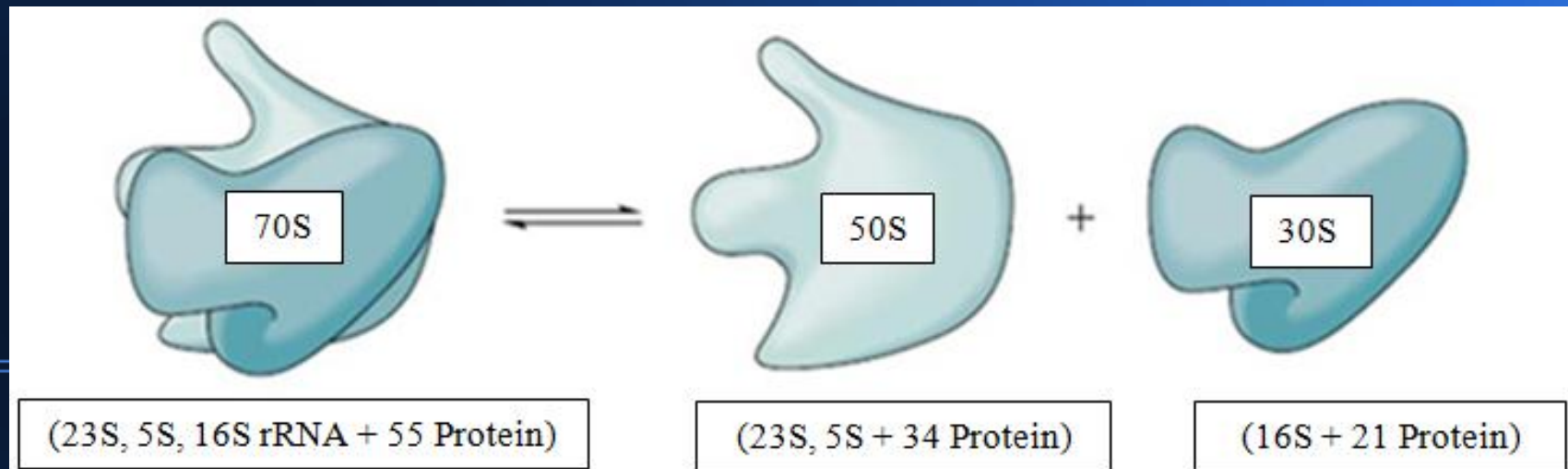
RİBOZOM		ÖKARYOTİK	PROKARYOTİK
	Sedimentasyon	80S	70S
	KÜTLE	$\sim 3.2 \cdot 10^6$ Da	$\sim 2.0 \cdot 10^6$ Da
	ÇAP	$\sim 250-300$ Å	~ 200 Å
BÜYÜK	Sedimentasyon	60 S	50 S
	KÜTLE	$\sim 2.0 \cdot 10^6$ Da	$\sim 1.3 \cdot 10^6$ Da
	Protein	47	33
	rRNA	28 S rRNA (3354 nt) 5 S rRNA (154 nt) 5.8 S rRNA (120 nt)	23S rRNA (2839 nt) 5S rRNA (122 nt)
KÜÇÜK	Sedimentasyon	40 S	30 S
	KÜTLE	$\sim 1.2 \cdot 10^6$ Da	$\sim 0.7 \cdot 10^6$ Da
	Protein	32	20
	rRNA	18S rRNA (1753 nt)	16S (1504 nt)

BAKTERİYEL RİBOZOMLAR

Büyük alt ünite (50S) 23S, 5S rRNA ve 34 adet (L1-L34) proteinden oluşur.

Küçük alt ünite ise (30S) 16S rRNA ve 21 adet (S1-S21) proteinden oluşur.

Mitokondri ve kloroplastta bulunan ribozomların teşkili de kabaca bu tiptedir.

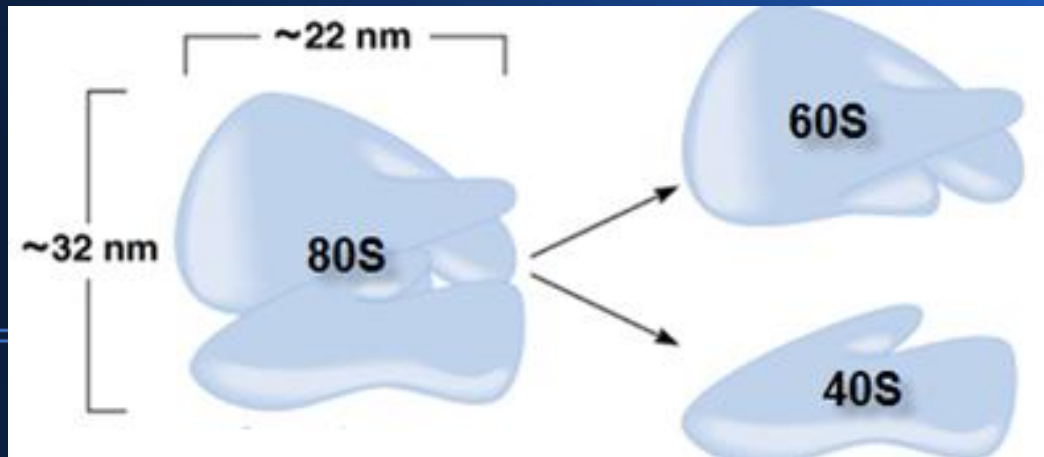


ÖKARYOTİK RİBOZOMLAR

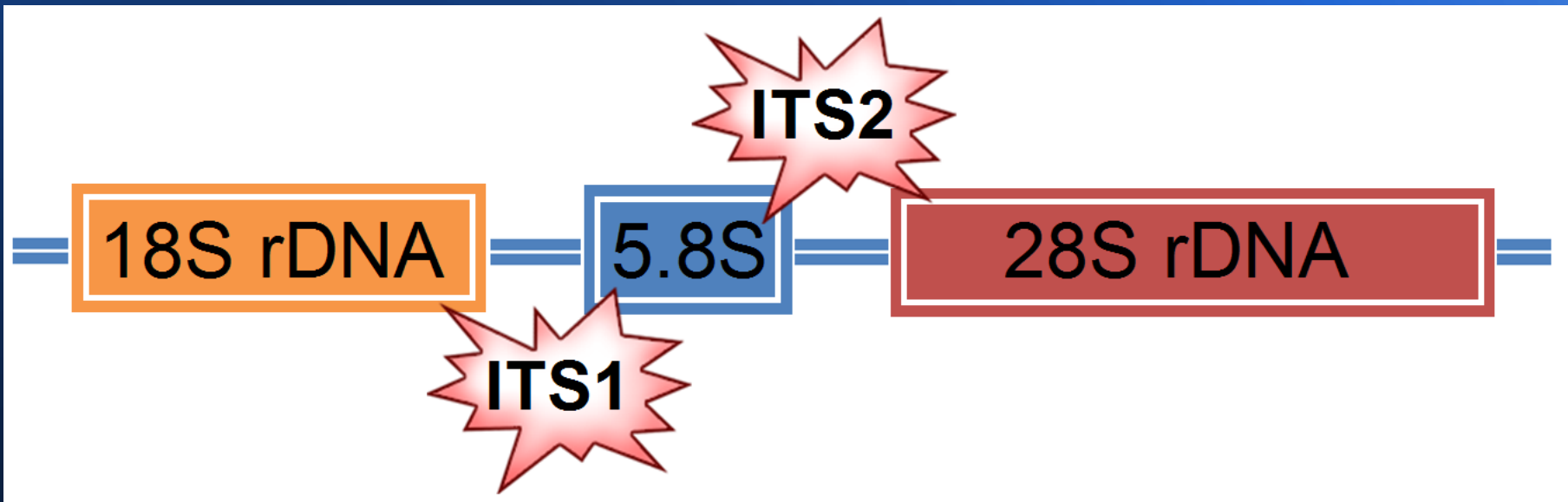
Ökaryotlar 28S, 18S, 5S ve 5.8S olmak üzere 4 RNA ve iki alt üiteden oluşmaktadır.

Büyük alt ünite (60S) 28S rRNA, 5.8S rRNA ve 5S rRNA olmak üzere 3 farklı rRNA'dan ve yaklaşık 50 proteinden oluşmaktadır.

Küçük alt ünite (40S) ise 18S rRNA ve yaklaşık 35 proteinden yapılmıştır.



ÖKARYOTİK RİBOZOMAL DNA DİZİLİŞİ



Nuclear ribosomal internal transcribed spacer
(ITS) region

KARŞILAŞTIRMA

Ökaryotlarla prokaryotlar arasında aktif ribozomun oluşması, **TRANSPEPTİDASYON**, **TRANSLOKASYON** ve **TERMİNASYON** konusunda büyük benzerlikler vardır.

Ökaryotik organizmalarda daha fazla translasyon kompleksleri ve faktörleri bulunmaktadır.

Ökaryotlarda mRNA transkripsiyonun sonlanmasından sonra, sitoplazmaya transferi edilmekte ve daha sonra translasyon başlamakta, prokaryotlarda ise **TRANSKRİPSİYON** ve **TRANSLASYON** aynı anda devam edebilmektedir.

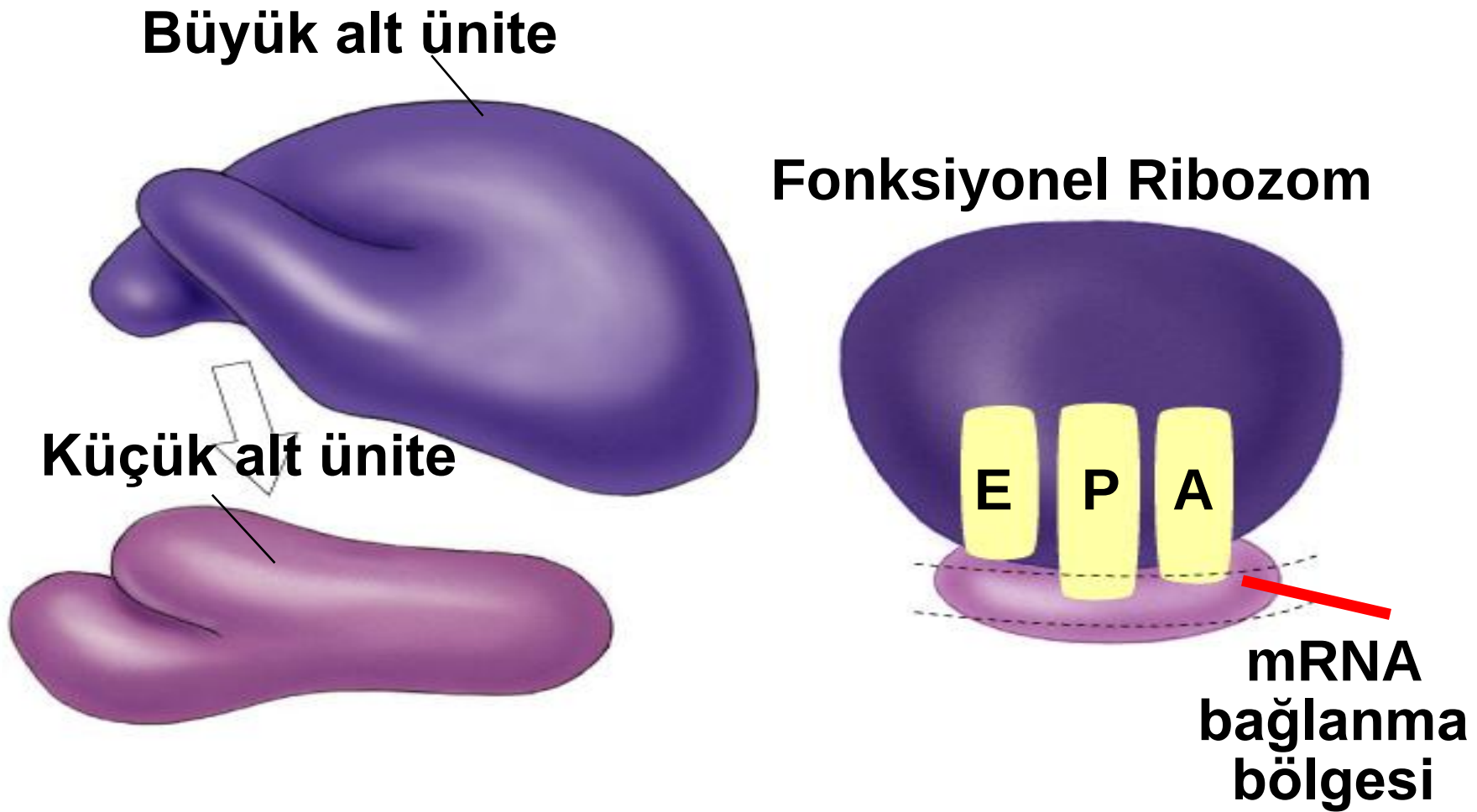
KARŞILAŞTIRMA

Prokaryotlarda başlama kodonun için spesifik bir “fMet-tRNA” bulunurken ökaryotlarda böyle bir durum söz konusu değildir.

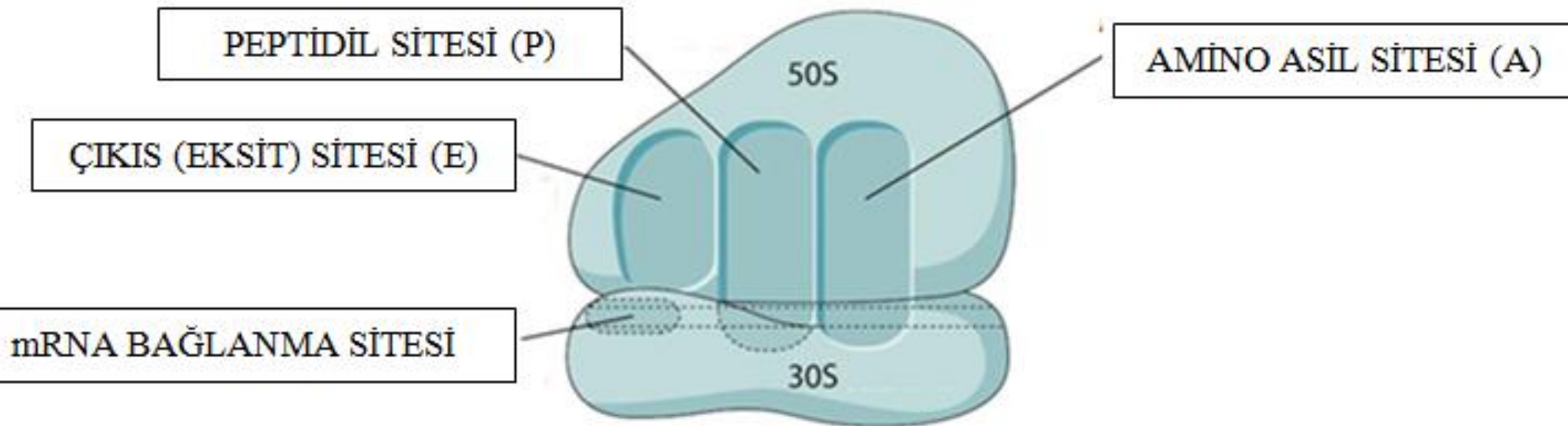
Ökaryotlarda “**SHINE-DALGARNO**” dizisinin bulunmamasıdır. Ancak bazı ökaryotik mRNA “**KOZAK**” (CAAAAUG) dizisinin Shine-Dalgarno dizilerine benzer fonksiyonu olduğu görülmüştür.

İki sistem arasındaki ribozomal RNA ve proteinleri arasındaki farklılık fonksiyonel açıdan değildir. Farklılık ökaryotik ribozomlar **DAHA BÜYÜK MOLEKÜLLER** olmasından kaynaklanmaktadır.

FONKSİYONEL RİBOZOM

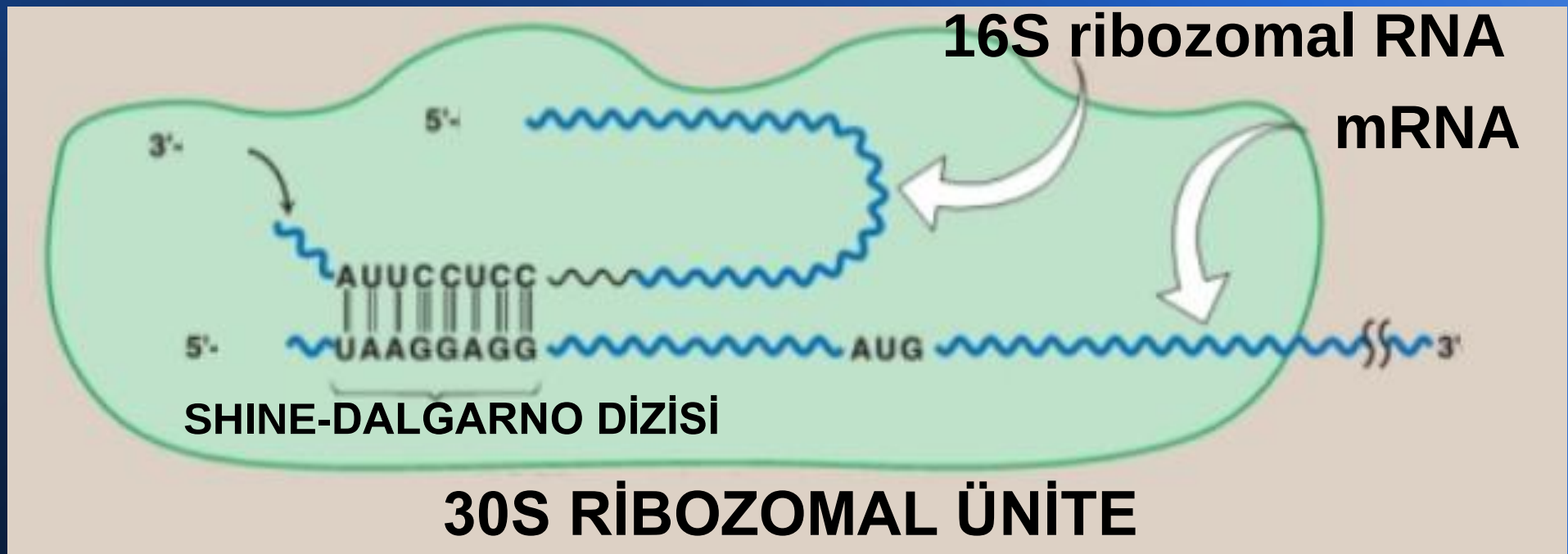


FONKSİYONEL RİBOZOM BÖLGELERİ

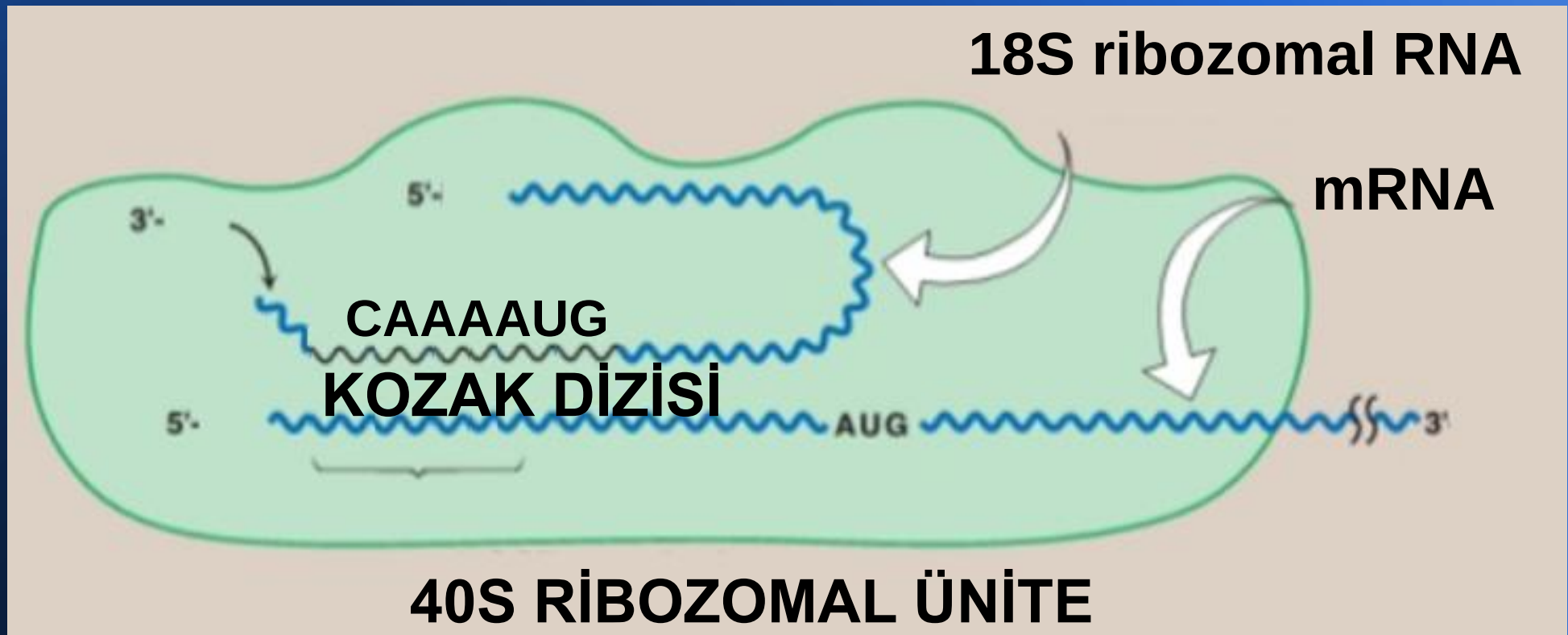


A bölgesi = Amino-asil-tRNA bağlanma bölgesi
P bölgesi = Peptidil-tRNA bağlanma bölgesi
E bölgesi = Çıkış bölgesi

PROKARYOTİK KÜÇÜK ÜNİTE



ÖKARYOTİK KÜÇÜK ÜNİTE



TRANSFER RNA (tRNA)

PROTEİN BİYOSENTEZİ İÇİN GEREKLİ AMİNO ASİTLERİ TAŞIR.

tRNA ZİNCİRİNDE YER ALAN RİBONUKLEOTİT SAYISI 70 İLE 99 ARASINDADIR.

ÖKARYOTLARDA YER ALAN 20 AMİNO ASİTİN HER BİRİ İÇİN EN AZ BİR tRNA MOLEKÜLÜ BULUNMAKTADIR.

tRNA'LAR ADAPTÖRLÜK GÖREVİ YAPARAK BİR UÇLARINA BAĞLADIKLARI AMİNO ASİTİ, RİBOZOMA TAŞIRLAR YANİ TRANSFER EDERLER.

tRNA Yüklenmesi (ŞARJI)

BİR TRANSFER RNA MOLEKÜLÜNE TAŞIDIĞI ANTİ KODONUNA GÖRE BİR AMİNO ASİTİN ESTER BAĞI İLE BAĞLANMASI “tRNA YÜKLENMESİ” VEYA “ŞARJI” DENİR.

BU İŞLEM İKİ GRUP “AMİNO ASİL tRNA SENTETAZ” ENZİMİ TARAFINDAN GERÇEKLEŞTİRİLİR.

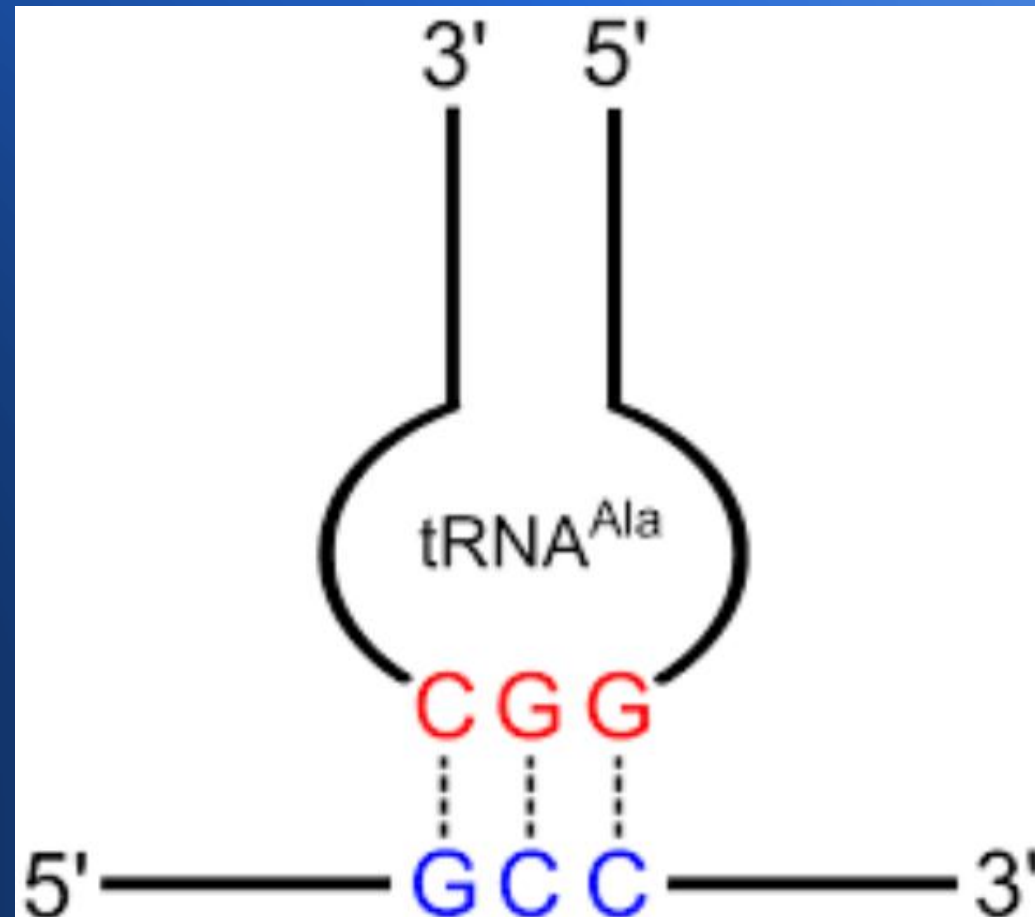
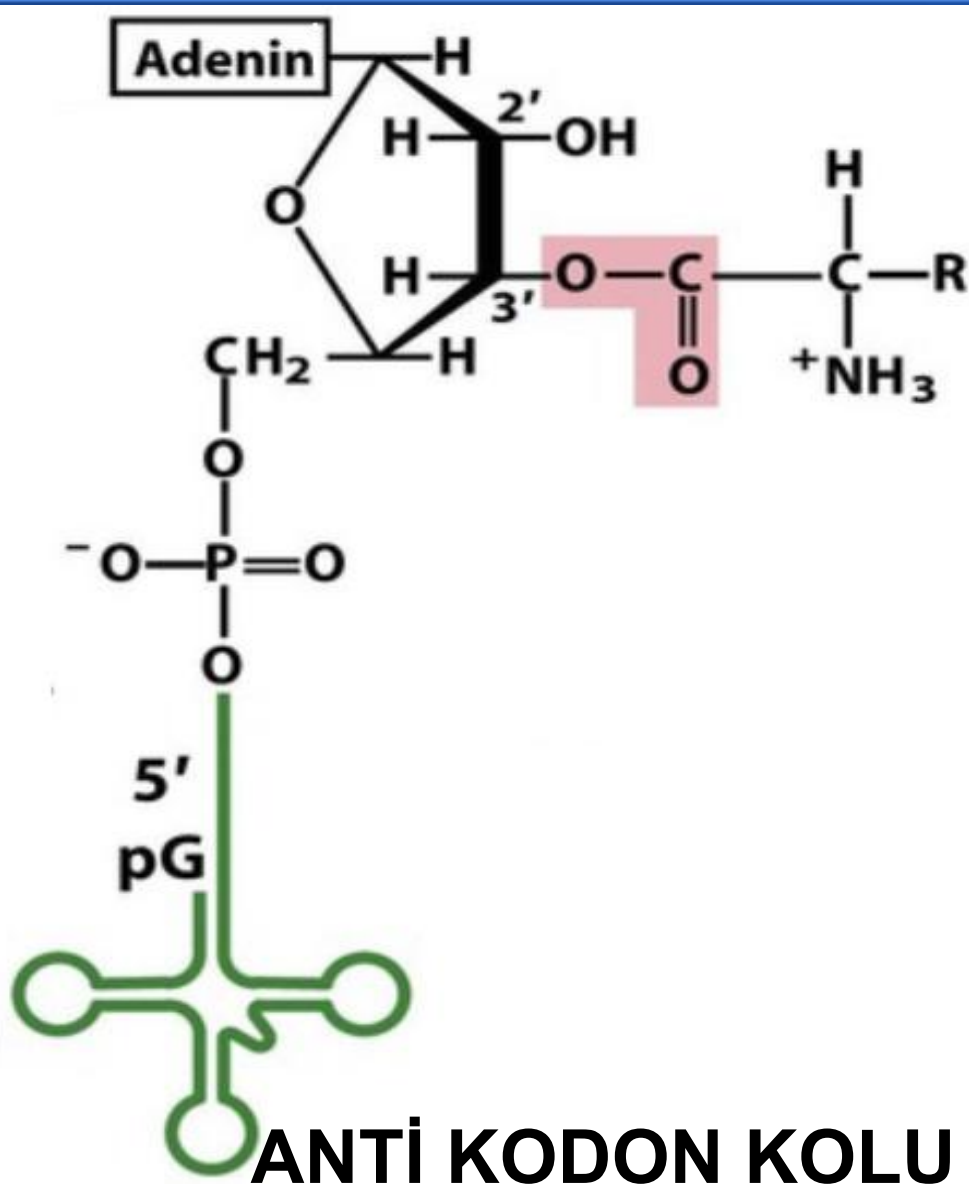
Grup I -

Arg, Cys , Gln, Glu, Ile, Leu, Met, Trp Tyr, Val

Grup II -

Ala, Asn, Asp, Gly, His, Lys, Phe, Ser, Pro, Thr

ŞARJI tRNA



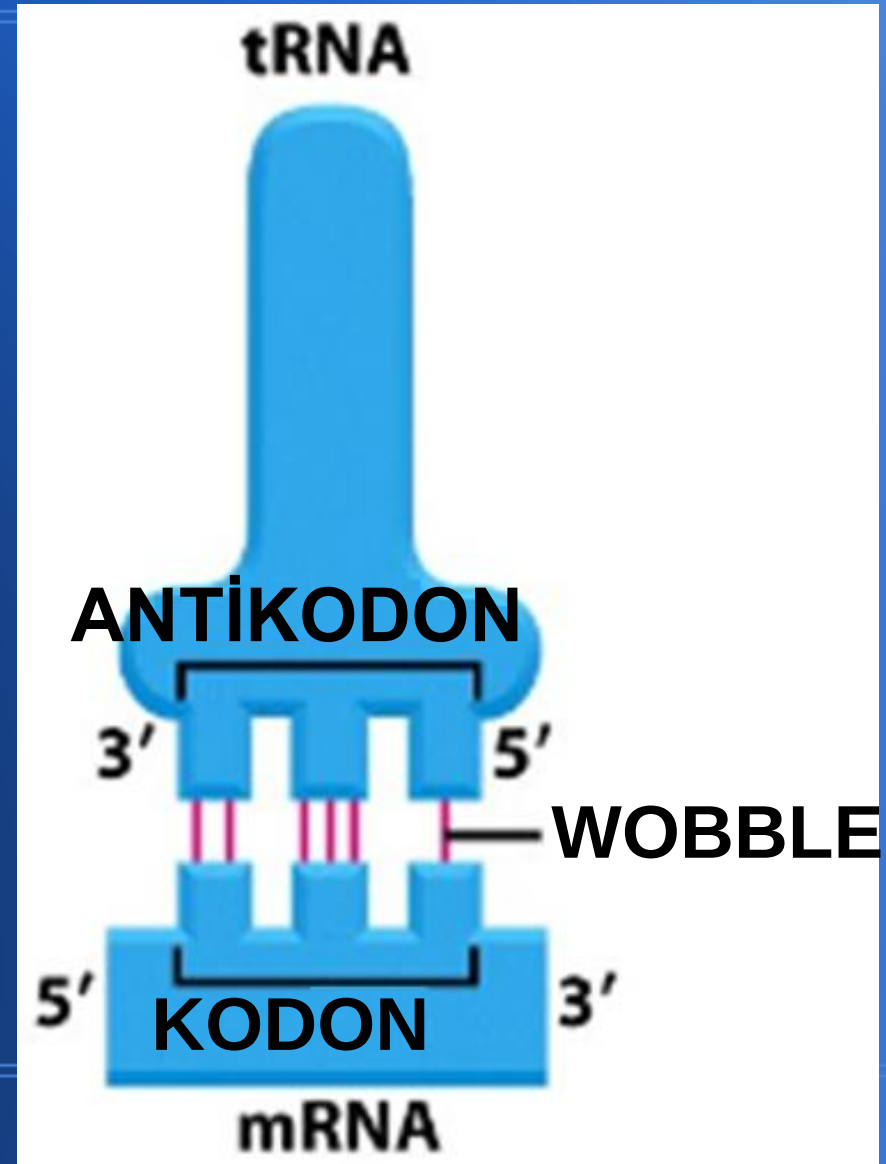
“KODON” “ANTİKODON” “WOBBLE”

“KODON” mRNA üzerinde 5'=>3' yönünde okunan 3'lü nükleotitin her biridir. Çok sayıda olabilir.

Stop kodonları dışındaki 61 kodon 20 amino asite denk gelir.

“ANTİKODON” tRNA'nın antikodon bölgesinde bulunan ve KODON'a tamamlayıcı olan 3 nükleotittir. Tek antikodon bulunur.

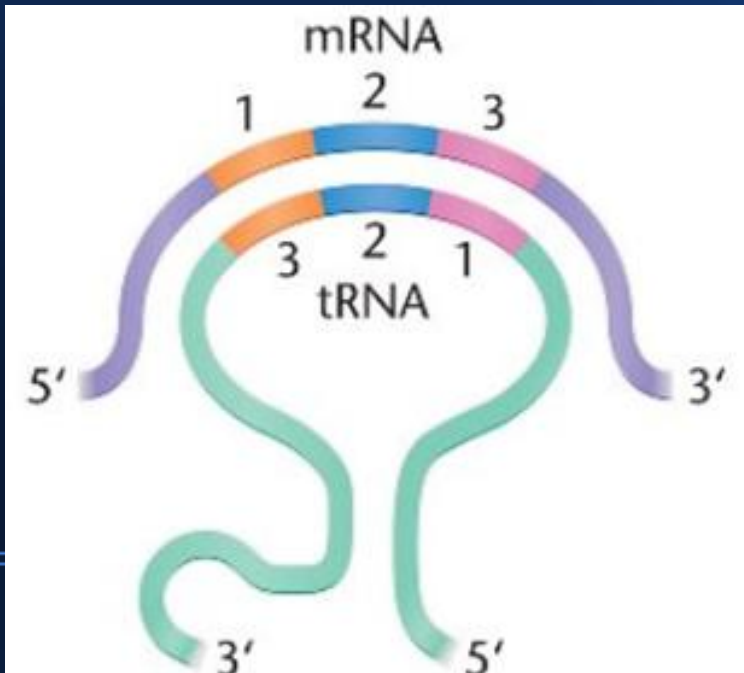
Örneğin Antikodon: 3'-UAG-5' ise Kodon: 5'-AUC-3'



WOBBLE

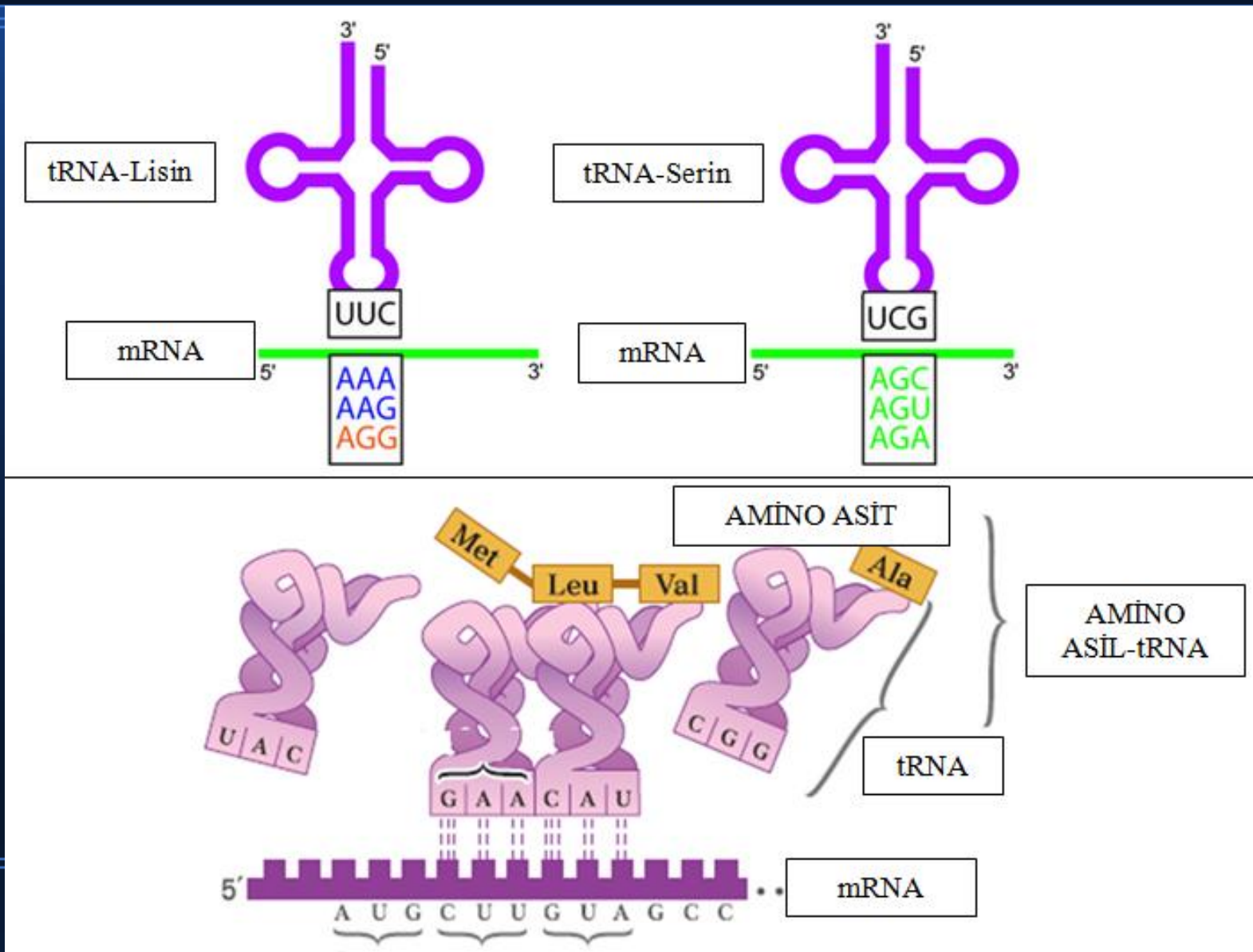
tRNA 1. pozisyonu (5')	mRNA 3. pozisyonu (3')
A	U
C	G
G	C / U
U	A / G
I	A / U / C

Bazı amino asitler birden fazla tRNA'ya yüklenebilmektedir. Bu tür tRNA'lar **İZOAKSEPTÖR** tRNA'lar olarak isimlendirilir.



İzoakseptör tRNA antikodonu ve mRNA kodon eşleşmesinde standart baz eşleşmesi yanı sıra Wobble baz eşleşmeleri bulunmaktadır.

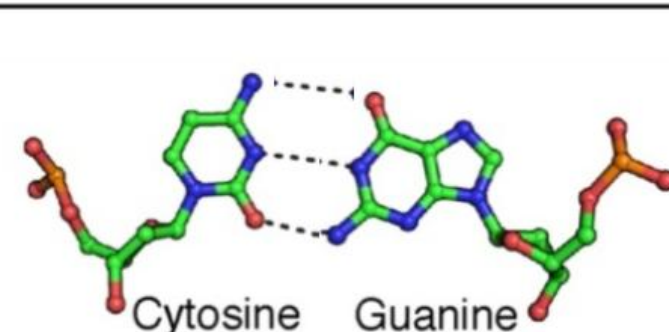
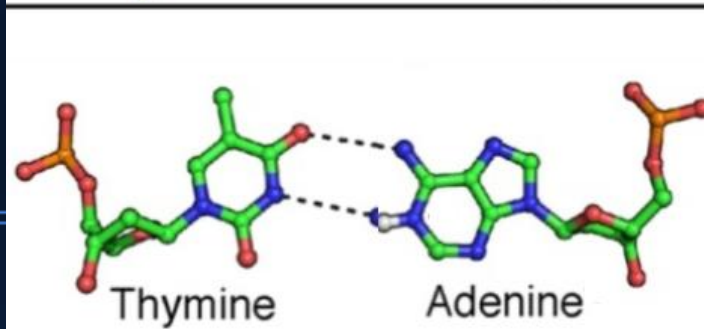
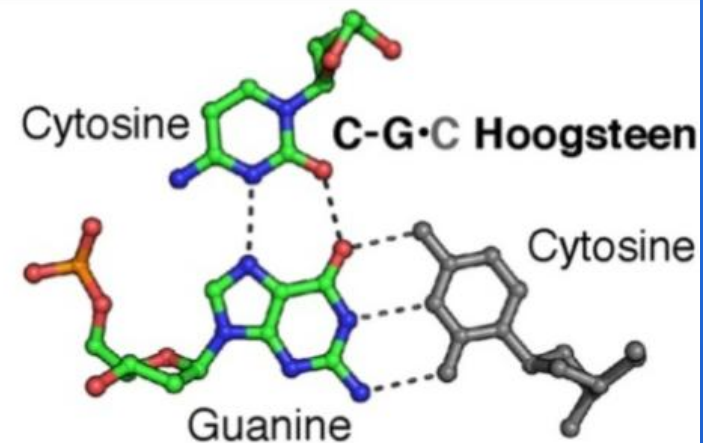
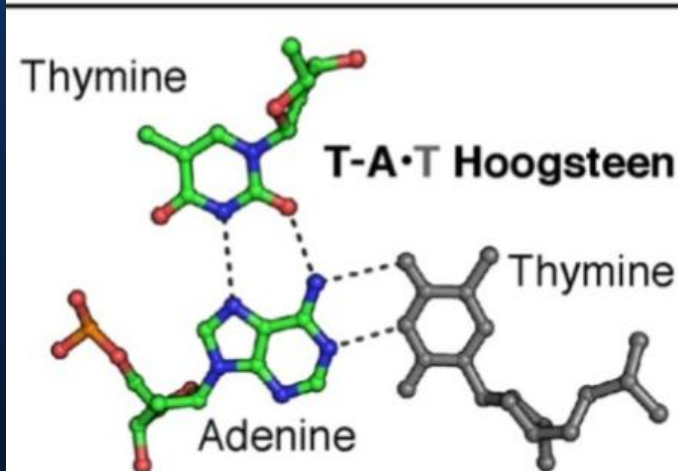
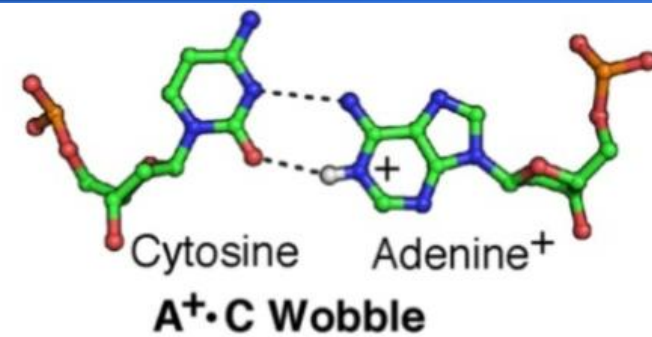
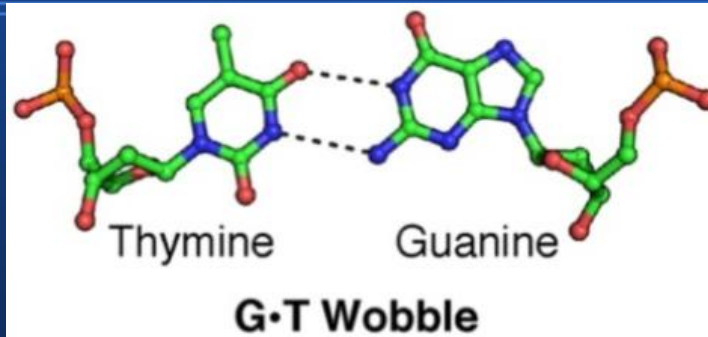
“KODON” “ANTİKODON” “WOBBLE”



		İKİNCİ BAZ				3. BAZ
		U	C	A	G	
BİRİNCİ BAZ (1)	U	UUU (Phe/F) FENİLALANİN	UCU (Ser/S) SERİN	UAU (Tyr/Y) TİROSİN	UGU (Cys/C) SİSTEİN	U
		UUC (Phe/F) FENİLALANİN	UCC (Ser/S) SERİN	UAC (Tyr/Y) TİROSİN	UGC (Cys/C) SİSTEİN	C
		UUA (Leu/L) LÖSİN	UCA (Ser/S) SERİN	UAA OCHRE (STOP)	UGA OPAL (STOP)	A
		UUG (Leu/L) LÖSİN	UCG (Ser/S) SERİN	UAG AMBER (STOP)	UGG (Trp/W) TRİPTOFAN	G
	C	CUU (Leu/L) LÖSİN	CCU (Pro/P) PROLİN	CAU (His/H) HİSTİDİN	CGU (Arg/R) ARGİNİN	U
		CUC (Leu/L) LÖSİN	CCC (Pro/P) PROLİN	CAC (His/H) HİSTİDİN	CGC (Arg/R) ARGİNİN	C
		CUA (Leu/L) LÖSİN	CCA (Pro/P) PROLİN	CAA (Gln/Q) GLUTAMİN	CGA (Arg/R) ARGİNİN	A
		CUG (Leu/L) LÖSİN	CCG (Pro/P) PROLİN	CAG (Gln/Q) GLUTAMİN	CGG (Arg/R) ARGİNİN	G
	A	AUU (Ile/I) İZOLÖSİN	ACU (Thr/T) TREONİN	AAU (Asn/N) ASPARAGİN	AGU (Ser/S) SERİN	U
		AUC (Ile/I) İZOLÖSİN	ACC (Thr/T) TREONİN	AAC (Asn/N) ASPARAGİN	AGC (Ser/S) SERİN	C
		AUA (Ile/I) İZOLÖSİN	ACA (Thr/T) TREONİN	AAA (Lys/K) LİSİN	AGA (Arg/R) ARGİNİN	A
		AUG (Met/M) METİONİN	ACG (Thr/T) TREONİN	AAG (Lys/K) LİSİN	AGG (Arg/R) ARGİNİN	G
	G	GUU (Val/V) VALİN	GCU (Ala/A) ALANİN	GAU (Asp/D) ASPARTİK ASİT	GGU (Gly/G) GLİSİN	U
		GUC (Val/V) VALİN	GCC (Ala/A) ALANİN	GAC (Asp/D) ASPARTİK ASİT	GGC (Gly/G) GLİSİN	C
		GUA (Val/V) VALİN	GCA (Ala/A) ALANİN	GAA (Glu/E) GLUTAMİK ASİT	GGA (Gly/G) GLİSİN	A
		GUG (Val/V) VALİN	GCG (Ala/A) ALANİN	GAG (Glu/E) GLUTAMİK ASİT	GGG (Gly/G) GLİSİN	G

Bir kodonun hangi amino asiti sentezlediğini gösteren tablo **GENETİK KOD TABLOSU** olarak adlandırılmaktadır

BAZ EŞLEME TİPLERİ: WATSON-CRICK/HOOGSTEN/WOBBLE



PROTEİN SENTEZİ İNHİBİSYONU

Puromisin: Ökaryot ve prokaryotlarda kalıcı zincir sonlandırmasına neden olur. Aminoasil-tRNA analogudur.

Eritromisin: 50S üniteye bağlanarak translokasyonu engeller (prokaryotlarda).

Saykloheksimit: 60S ribozom ünitesinin peptidil transferaz aktivitesini engeller (ökaryotlarda).

Tetrasayklin: 30S alt üniteye bağlanır ve amino-asil tRNA'nın bağlanmasını önler.

Streptomisin: inisasyon kompleksinin oluşumu engellenir. mRNA'nın yanlış okunmasına neden olur.

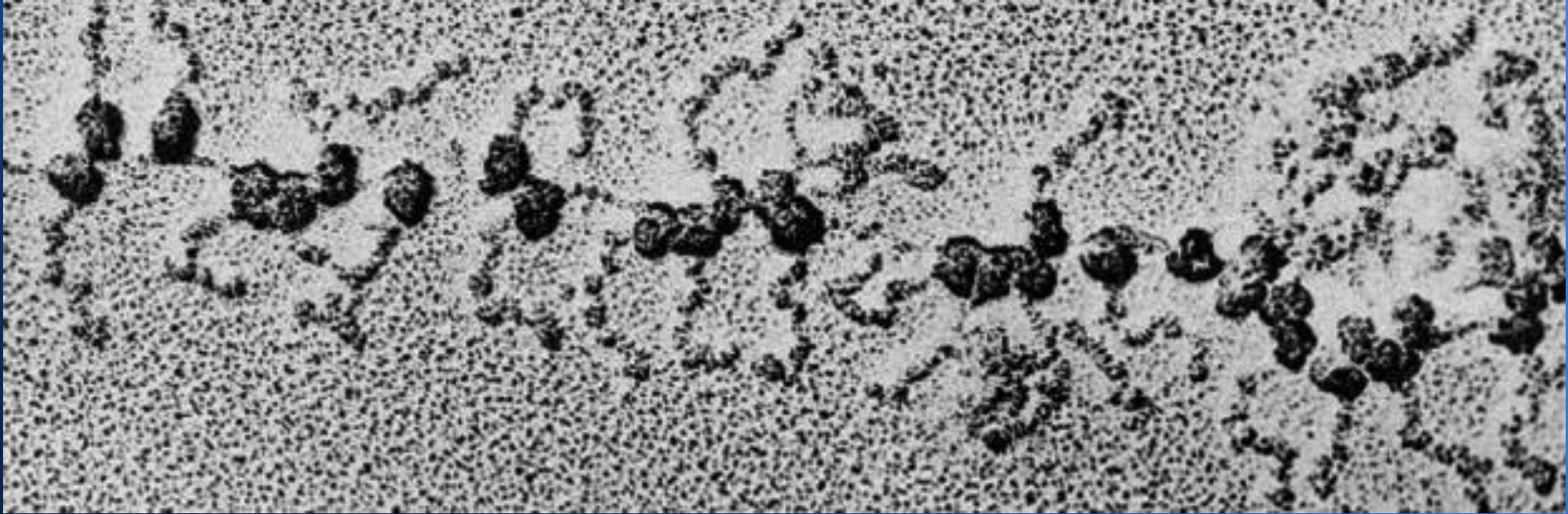
TRANSLASYON

mRNA üzerinde bulunan “KODONLARIN” “AMİNO-ASİL-TRASNSFER RNA” ve “RİBOZOMLARDA” “POLİPEPTİT ZİNCİRİNE” getirilmesidir.

Translasyon Görevlileri:

Ribozomlar (rRNA), tRNA, Amino Asil-tRNA Sentetaz, mRNA İniasyon Faktörleri (İF), Elongasyon Faktörleri (EF) ve Ayırma Faktörleri

POLİRİBOZOM OLUŞUMU



10-20 ribozomon tek bir mRNA üzerinde bulunması

BAKTERİDE TRANSLASYON

Bakteride translasyon özel bir amino asitle başlatılır. Bu amino asit metionin amino asitinin modifiye (formil eklenmiş) edilmiş hali olup “**N-FORMİL METİONİNİN**” olarak adlandırılır ve “**fMet-tRNA** veya **tRNA_f^{Met}**” olarak yazılır.

Metionin amino asitinin amino ucuna bir formil'in (HC=O) eklenmesiyle ve bu molekülün tRNA ile birleştirilmesi ile fMet-tRNA oluşur. Bu işlem yani fMet-tRNA'nın oluşumu “**FORMİL METİONİN TRANSFERAZ**” enzimi ile gerçekleştirilir.

BAKTERİDE TRANSLASYON

fMet-tRNA sadece translasyonun başlatımında kullanılmakta olup 10-15 peptit bağı oluşturulduktan (elongasyon) sonra “Formil” amino asitinin N ucundan uzaklaştırılır. Bu işlem “**DEFORMİLAZ ENZİMİ**” tarafından gerçekleştirilir.

Protein sentezinde çoğu polipeptitte bulunan başlama amino asiti (metionin) “**AMİNOPEPTİDAZ**” enzimi tarafından uzaklaştırılmaktadır.

Bu nedenle çoğu polipeptit zincirinde başlatıcı metionin bulunmamaktadır.

BAKTERİDE TRANSLASYON

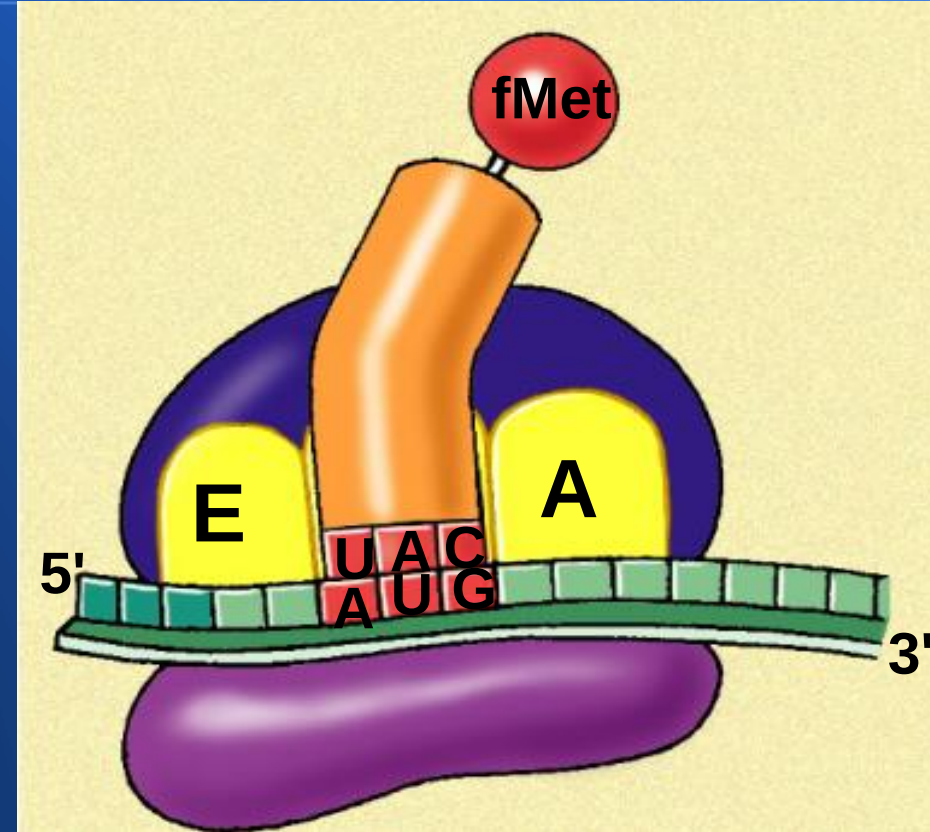
Bakteride protein sentezinin başlatılabilmesi için:

- 1) 30S Ribozomal alt ünite,
- 2) 50S Ribozomal alt ünite,
- 3) mRNA,
- 4) fMet-tRNA (fMet-tRNA^{fMet}) (başlangıç tRNA'sı ve şarzlı diğer tRNA molekülleri)
- 5) İniasyon faktörlerine (IF), translasyon elongasyon faktörleri (EF) ve ayırma faktörlerine (RF)

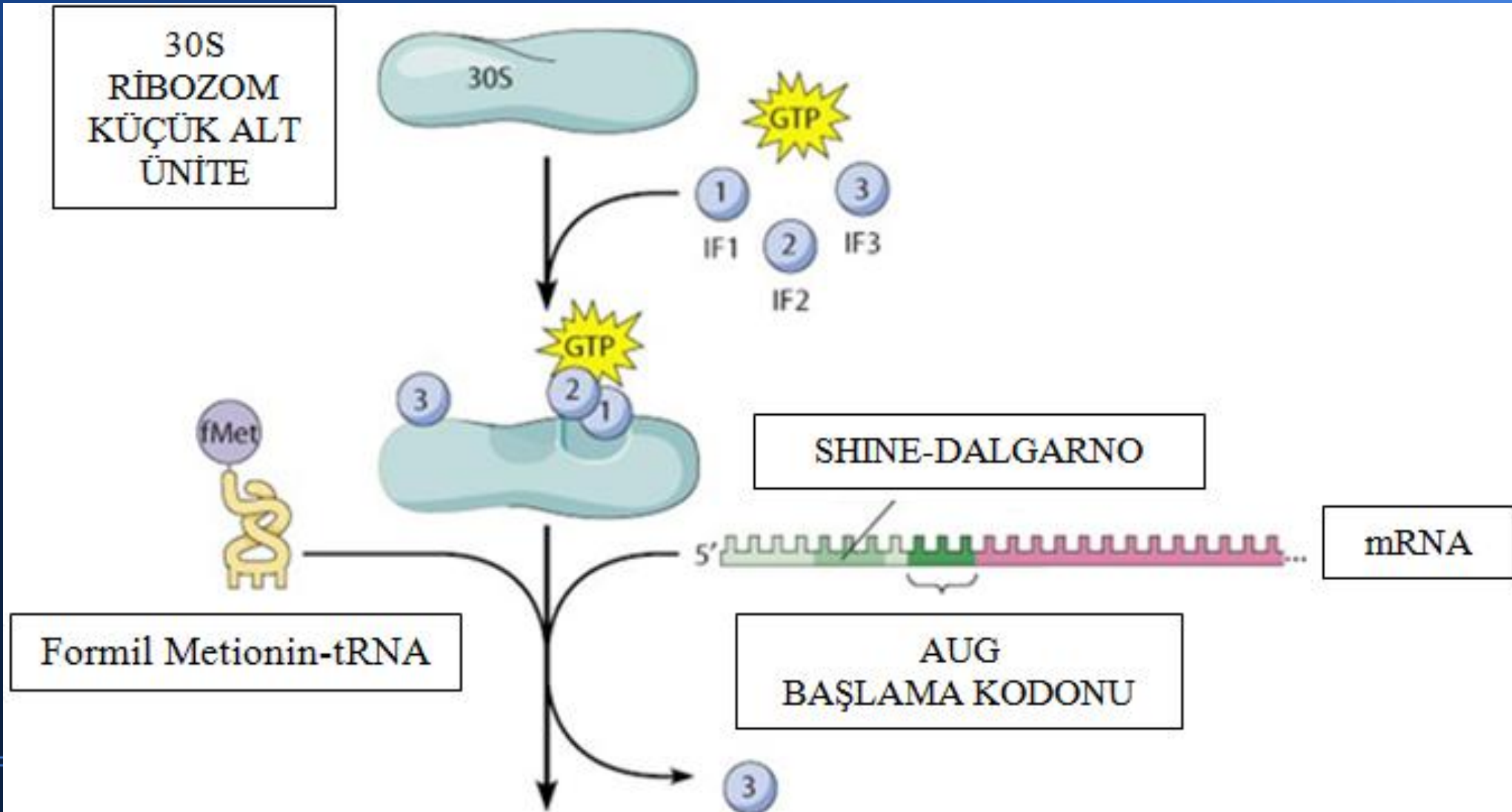
BAKTERİDE TRANSLASYON İNİSASYONU

Ribozomal alt üniteyle mRNA birleşir, antikodonu UAC olan başlatıcı tRNA mRNA üzerindeki başlama kodonu olan 5'-AUG-3' baz çifti yaparak birleşir.

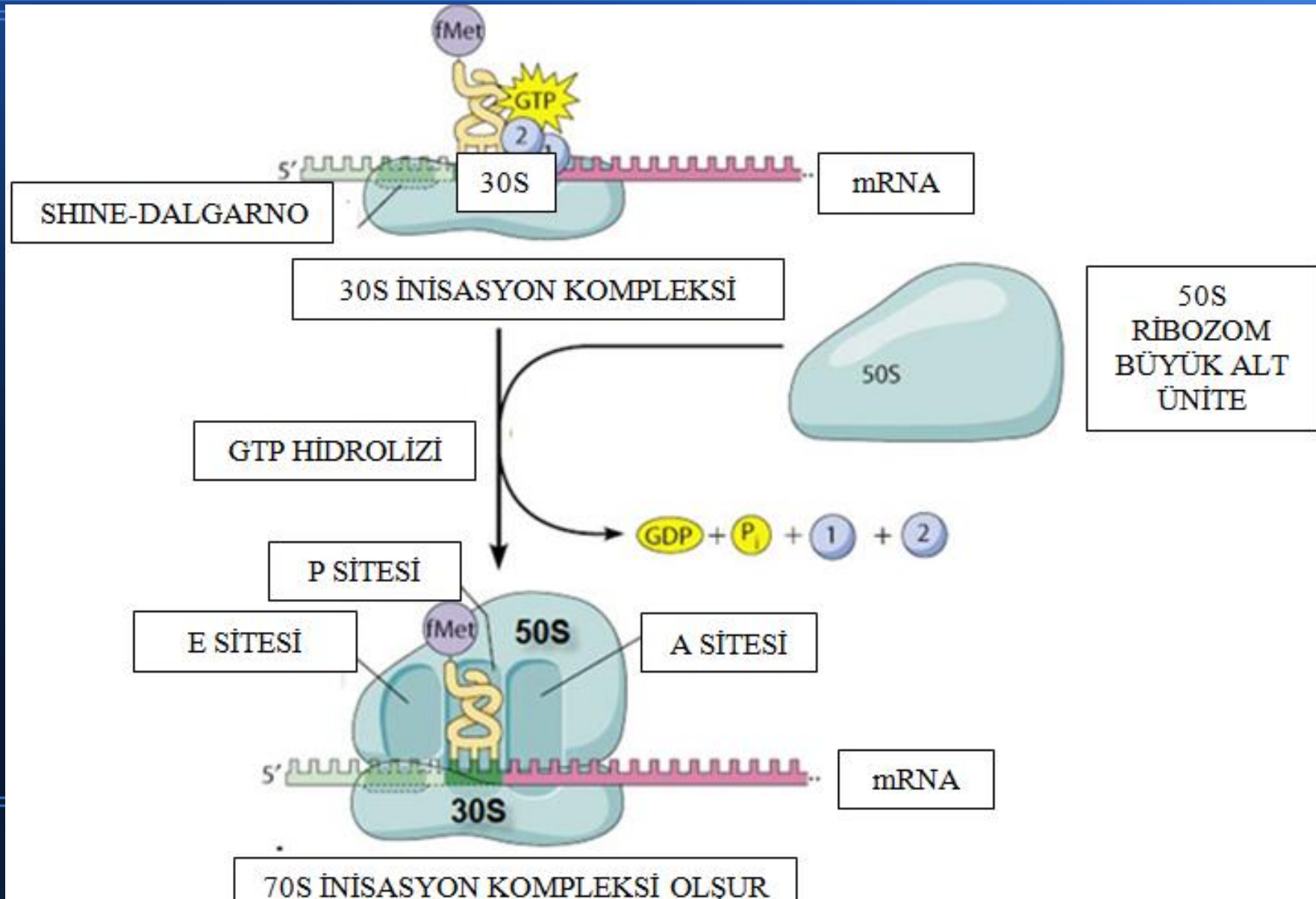
Daha sonra ribozomun büyük altünitesi bağlanarak aktif ribozom oluşturulur. Başlatıcı tRNA ribozomun P noktasındadır. Ribozomun A ve E bağlanma noktası boştur.



ÖN İNİSASYONU KOMPLEKSİ

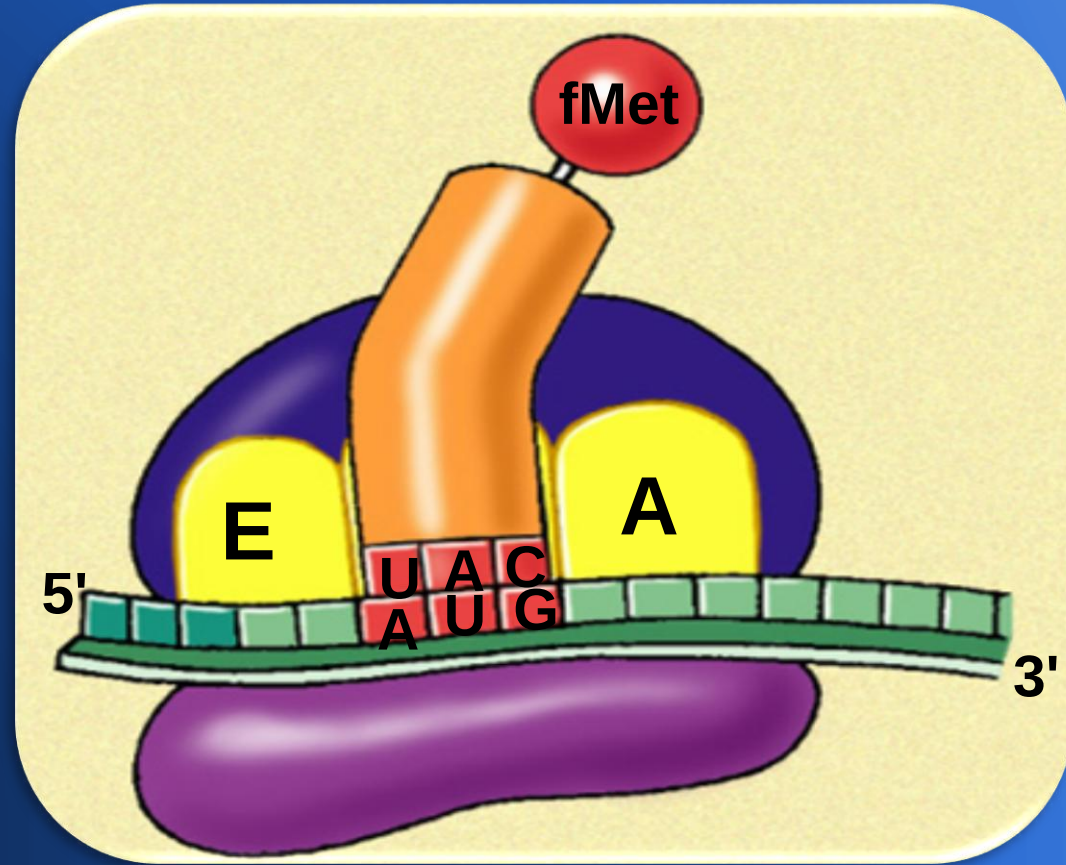


İNİSASYONU (30S ve 70S) KOMPLEKSLERİNİN OLUŞUMU



BAKTERİDE TRANSLASYON ELONGASYONU

İnisasyon kompleksinin tamamlanmasının ardından ribozomun mRNA'nın üzerinde 5'→3' yönünde ilerlemesi yeni amino asit zincirinin mRNA' dizisine göre oluşturulması ve terminasyona kadar süren süreç "elongasyon" veya ilerleme (uzama) olarak bilinmektedir.



BAKTERİDE TRANSLASYON ELONGASYONU

Ribozomda boş olan amino asil bölgesini mRNA üzerinde başlangıç kodonundan sonraki 2. kodon bilgisi doğrultusunda uygun bir tRNA elongasyon faktörü Tu (EF-Tu) yardımı ile A bölgesine taşınır ve A bölgesinde hazır bulunan mRNA kodonu ile getirilen tRNA antikodonu arasında baz eşlemesi ile birleşir.

Bu durumda ribozom ve mRNA üzerinde birinci amino asit ribozomun P bölgesinde, A bölgesi ise ikinci amino asiti taşıyan EF-Tu-GTP bağlı durumdadır.

Ribozomun sadece E sitesi boştur

BAKTERİDE TRANSLASYON ELONGASYONU

Ribozomun A bölgesinde bulunan Amino asit ile P bölgesinde bulunan başlangıç amino asit arasında **PEPTİT BAĞI** oluşturulur. Bu işlemler ribozomda bulunan “**PEPTİDİL TRANSFERAZ**” merkezinde gerçekleştirilir.

Bundan sonra, P-bölgesindeki fMet-tRNA ile, A-bölgesinde tRNA'ya bağlı bulunan 2. amino asit arasında peptit bağı kurularak P bölgesindeki AA₁ (fMet) A bölgesine transfer edilir ve AA₁ ile AA₂ birleşir (“**TRANSPEPTİDASYON**”).

Bu suretle, P-bölgesinde tRNA'nın 3' -CCA ucunda iki amino asit oluşturulmuştur.

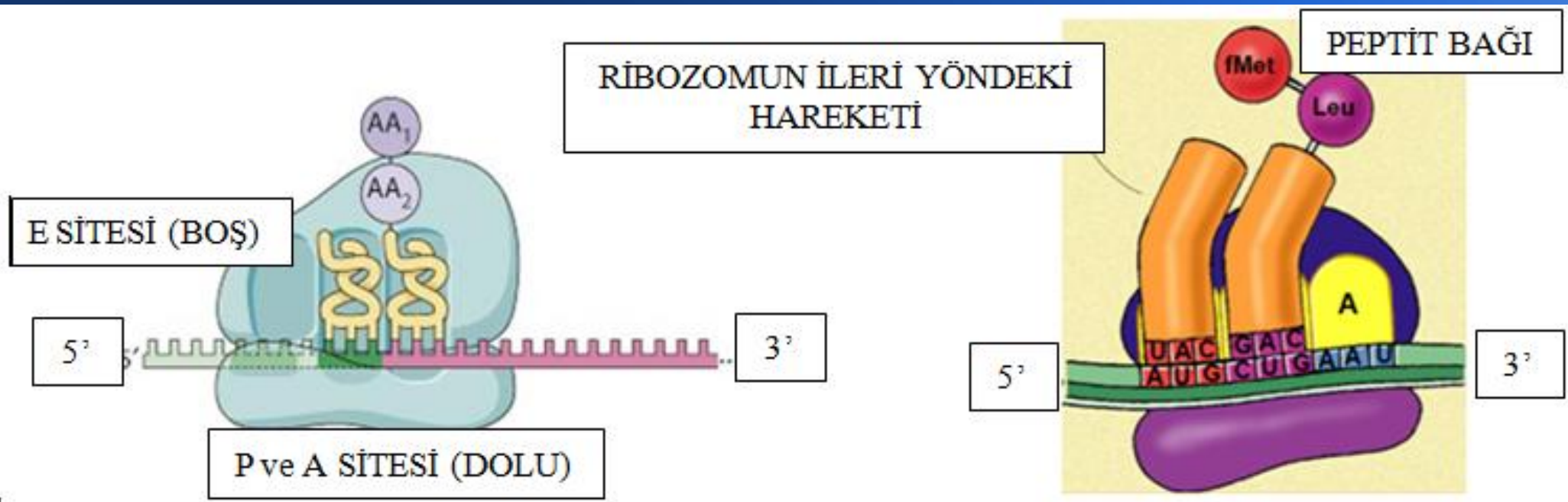
BAKTERİDE TRANSLASYON ELONGASYONU

Elongasyon faktör EF-G GTP'ye bağlı olarak ribozomda boş bulunan A bölgesine bağlanır. mRNA bir kodon ilerlerken peptidil tRNA A sitesinden P sitesine transfer edilir ve E sitesi şarjı alınmış tRNA tarafından doldurulur. Bu işlemler GTP'nin hidrolizi ile gerçekleştirilir ve **TRANSLOKASYON** olarak adlandırılır.

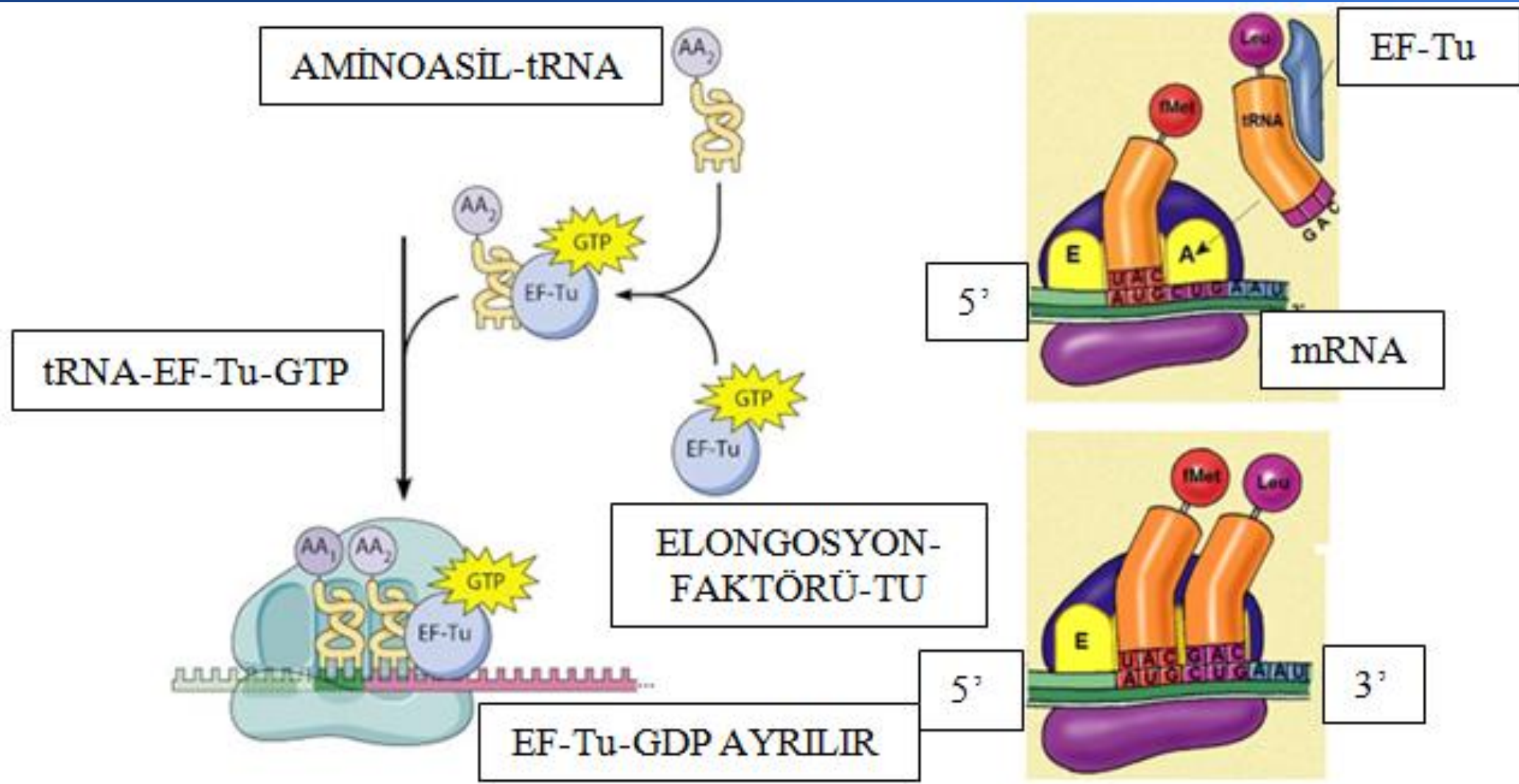
Translokasyonda başlıca 2 faktör önemlidir. Bunlardan biri, EF-Tu-GTP hidrolize olunca, EF-Tu-GDP sitoplâzmada tekrar fosforilizasyona alınarak EF-Tu-GTP kompleksi oluşturulur. Bu kompleks ise ribozomun hareketiyle oluşan ribozomun A bölgesine tekrar doldurur.



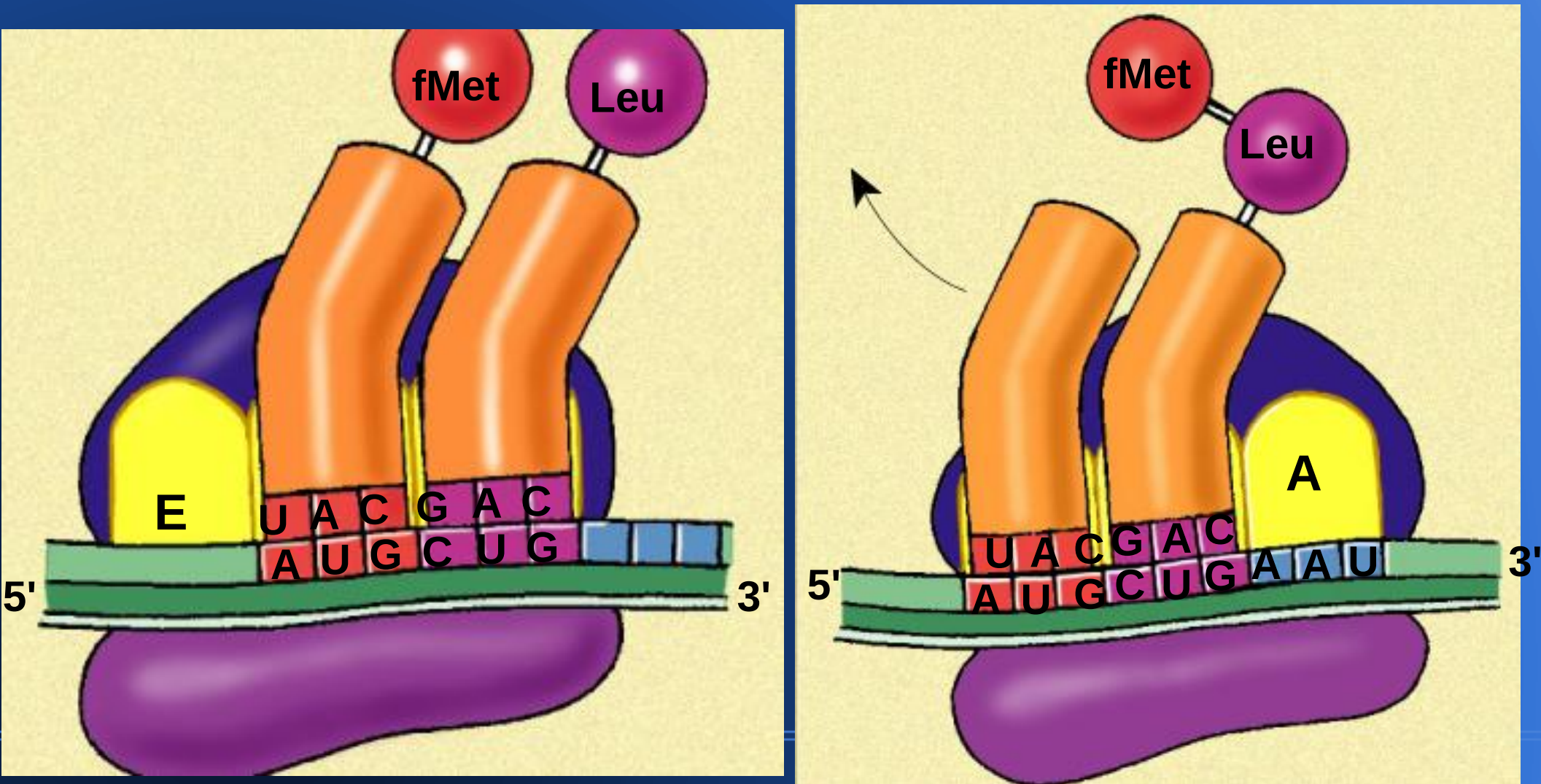
TRANSPEPTİDASYON & TRANSLOKASYON



TRANSPEPTİDASYON & TRANSLOKASYON



BAKTERİDE TRANSLASYON ELONGASYONU



BAKTERİDE TRANSLASYON TERMİNASYONU

Protein sentezi sonlandırmada mRNA üzerinde bulunan 3 “kodon” etkili olur ve bunlara terminasyon kodonları (durdurma/stop kodonları) adı verilir (UAA, UAG ve UGA). Bazen bu kodonlar “nonsens” kodonları olarakta adlandırılır çünkü bunların özel tRNA molekülleri yoktur.

Bakteriler en fazla UAA terminasyon kodonu olarak kullanırlar. Diğer terminasyon kodonlarından ise daha az yararlanılır.

UAG ve UGA bazı prokaryotlarda selanosistein ve pirolisin adında iki amino asiti kodlar.

BAKTERİDE TRANSLASYON TERMİNASYONU

mRNA üzerinde bulunan bu kodonlardan biri A-bölgesine geldiği zaman polipeptid zincirine herhangi bir amino asit ilave edilemez. Bu durumda ribozom yerinde patinaj yapmaya başlar. Çünkü, bu kodonların karşılığı olan spesifik bir amino asit ve tRNA yoktur.

Böylece sentez durur. Fakat, polipeptit henüz mRNA'dan ayrılmış değildir. *E. coli* 'de zincirinin ayrılmasında 2 proteinin rolü bulunmaktadır. Bu proteinler ribozomun patinajlamasıyla tetiklenebilir.

BAKTERİDE TRANSLASYON TERMİNASYONU

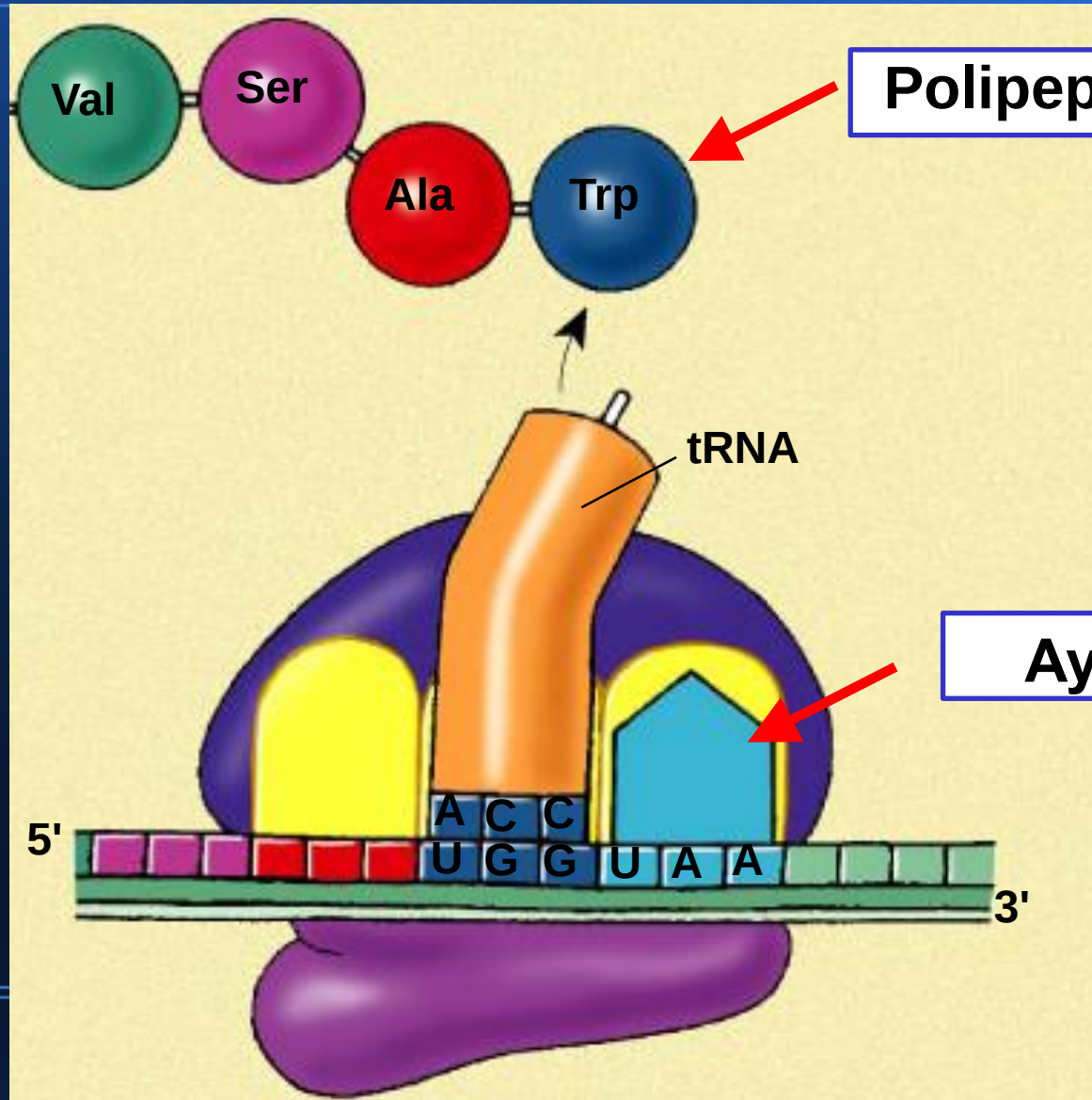
Bu proteinlerden biri, serbest bırakma veya **AYRILMA FAKTÖRÜ**-1 (RF-1) ve diğeri de RF-2'dir. RF-1 faktörü stop kodonlarından UAA ve UAG'yı tanırken, RF-2 faktörü UGA ve UAA'yı tanımaktadır. RF-3 ise RF-1 ve -2 aktivitesini kuvvetlendirdiği bildirilmektedir.

Bu faktörlerden birisi terminasyon kodonuna geldiğinde translokasyonla ilerleyen ribozomda transpeptidasyon gerçekleşmez ancak polipeptit zinciri tRNA'dan serbest bırakılır. Polipeptidin tRNA'dan ayrılması, moleküle suyun ilavesi ile (hidrolizasyon) gerçekleştirilir.

BAKTERİDE TRANSLASYON TERMİNASYONU

Protein sentezi sona erdikten ve protein serbest kaldıktan sonra iki alt ünite de (30S ve 50S) birbirinden ayrılarak başka bir mRNA'yı taramaya başlar. mRNA ise sitoplâzmada yıkıma tabi tutulur. Ancak bazı mRNA'lar vardır ki bunlar translasyon sonucu oluşturdukları proteinlerce korunur bazılar tekrar nükleusa gönderilir.

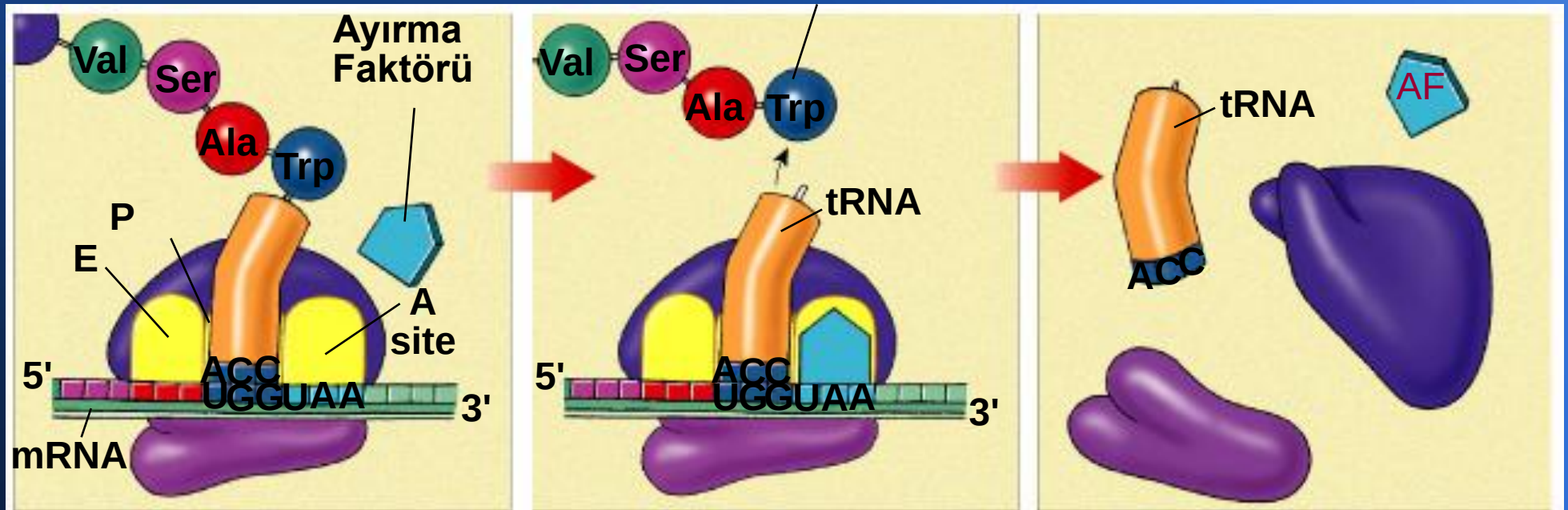
BAKTERİDE TRANSLASYON TERMİNASYONU



Polipeptit Zinciri Ayrılır

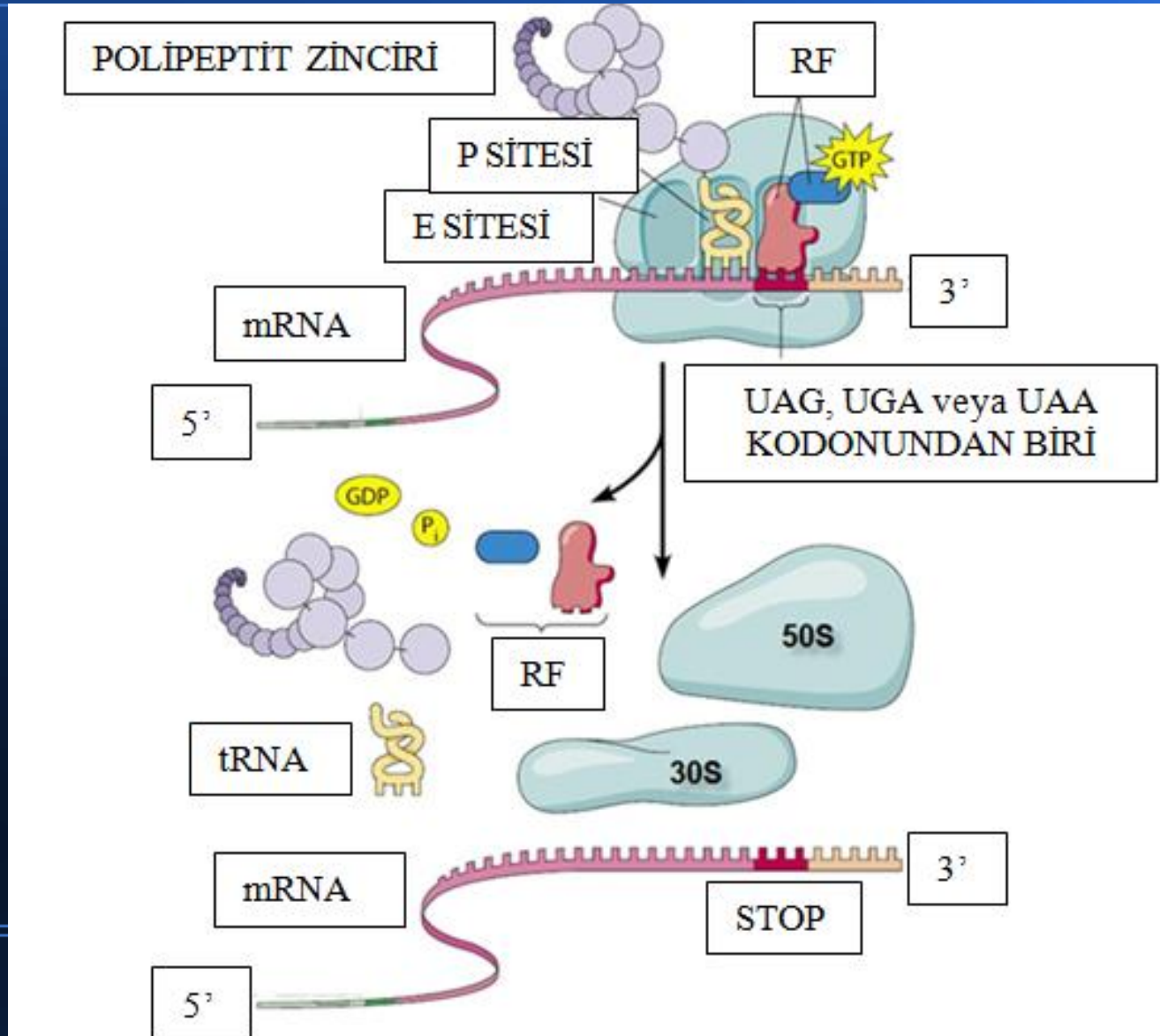
Ayırma Faktörü

BAKTERİDE TRANSLASYON TERMİNASYONU

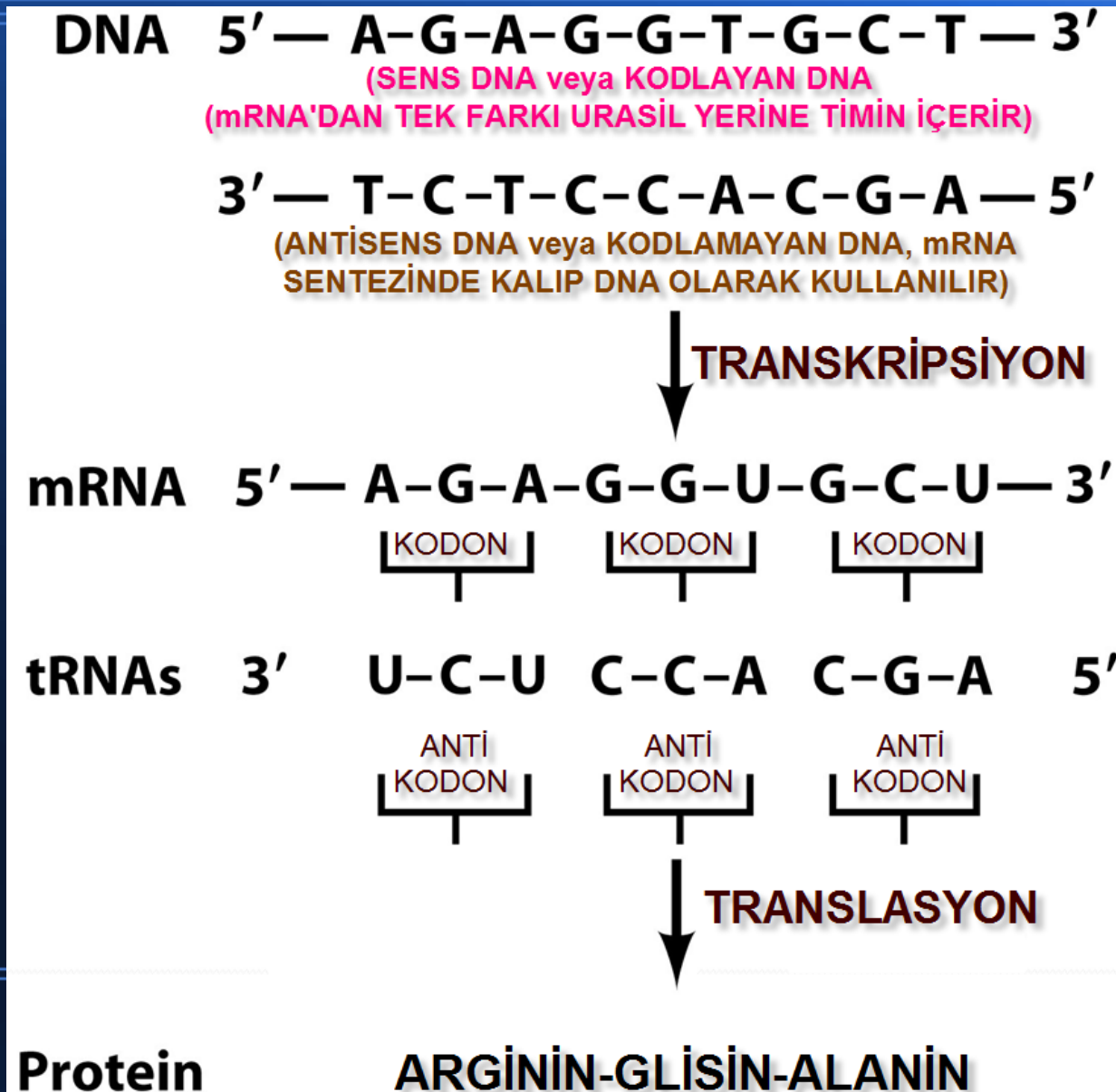


Kodonların okunmasının sonunda üç stop kodonundan birisi (UAA, UAG, UGA) ile translasyon durdurulur. Çünkü bu stop kodonlarına ait tRNA yoktur. tRNA yerine ayrılma (AF) faktörü bağlanır.

TRANSLASYONUN TERMİNASYONU



IN SILICO TRANSKRİPSİYON/TRANSLASYON



DNA → mRNA → Protein

TERMİNOLOJİ

TRANSPEPTİDASYON: Peptidil bölgesindeki (P) tRNA'ya bağlı amino asitler ile amino asit (A) bölgesindeki, yeni gelen, tRNA'daki amino asitin karboksil ve amino terminal uçları arasında peptit bağı kurulması olayıdır.

Bu reaksiyonu “**PEPTİDİL TRANSFERAZ**” enzimi katalize eder. Bu reaksiyon sonunda, P-bölgesindeki amino asitler, A-bölgesindeki yeni gelen amino asitle birleşirler bu işlem transpeptidizasyon olarak isimlendirilir.

Prokaryotlarda peptit bağı oluşumu 23S rRNA ökaryotlarda 28S rRNA veya denklikleri tarafından gerçekleştirilir.

TERMİNOLOJİ

TRANSLOKASYON: Ribozom, mRNA üzerinde her defasında bir kodon boyu ilerler. Translokasyon için başlıca 2 görüş bulunmaktadır.

Biricisi, önce 50S'lik alt ünite 5'→3' yönünde 30S'in üzerinde bir kodon boyu kayar ve sonra bunu 30S'lik alt ünite takip ederek 70 S'lik ünite tamamlanır.

İkinci görüşe göre ise, 70 S'lik ünite tümünden mRNA üzerinde bir kodon boyu ilerler.