

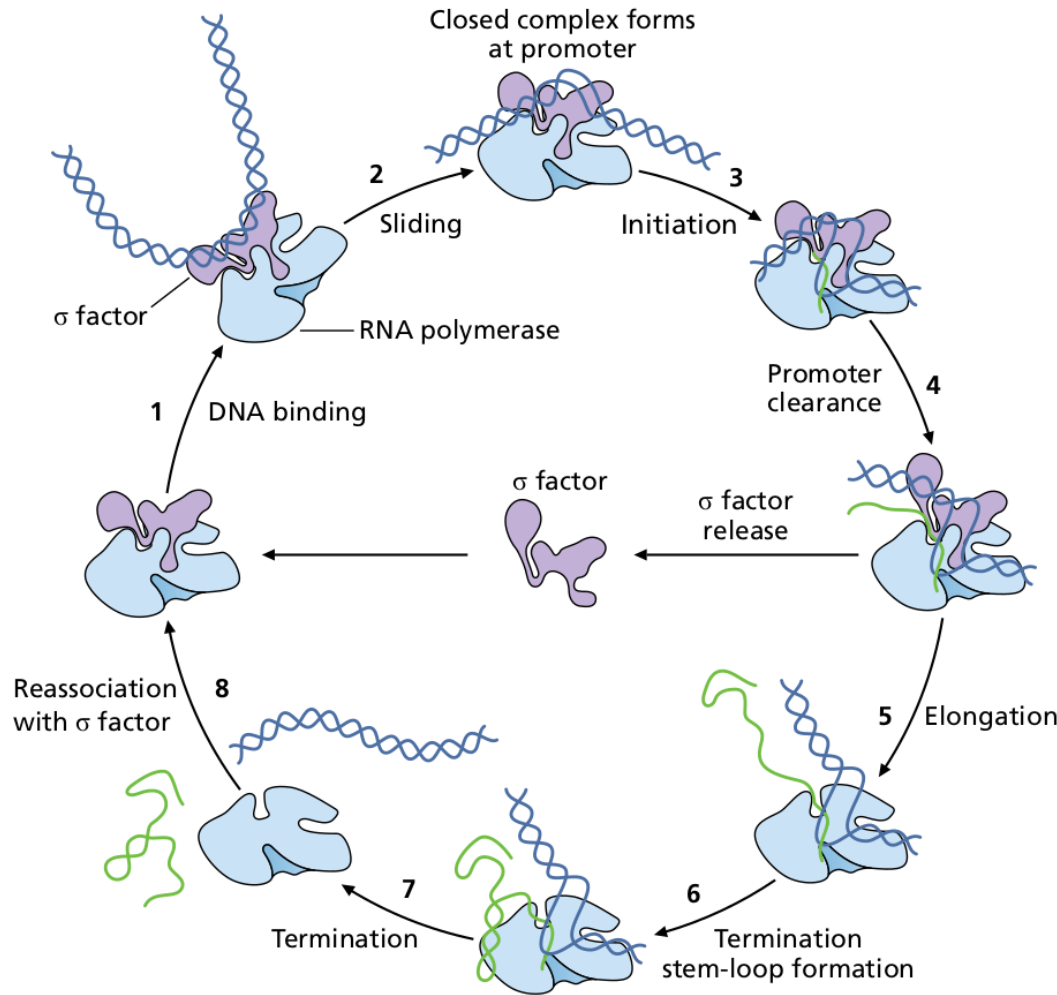
Ders3: Fajlar

MBG4222 - Doç.Dr.Alper YILMAZ - *15 Mart 2024*

Özet

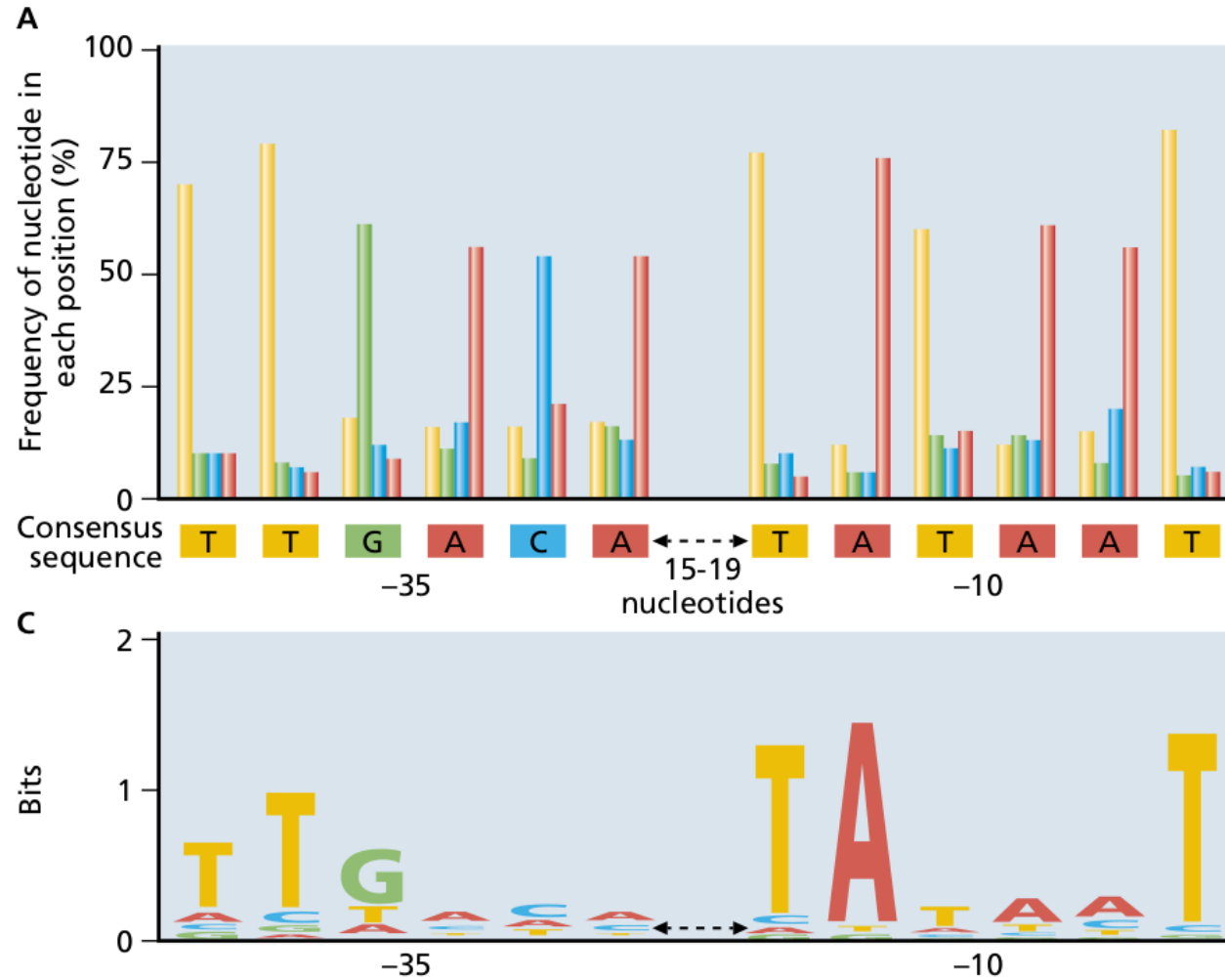
- Bakteriyel transkripsiyon
- T7 faj
- Lambda faj

Bakteriyal Transkripsiyon



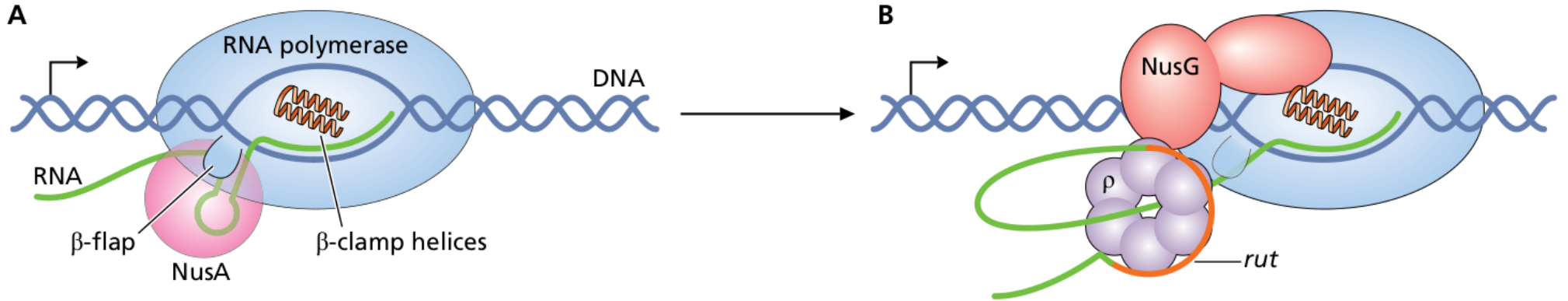
Fajlar, konak hücresi bakterilerin transkripsiyon mekanizması sayesinde genlerini ifade ederler. Sigma faktörü transkripsiyon başlangıcı için, Rho faktörü de transkripsiyon sonlandırmak için gereklidir.

Sigma bağılı promotor



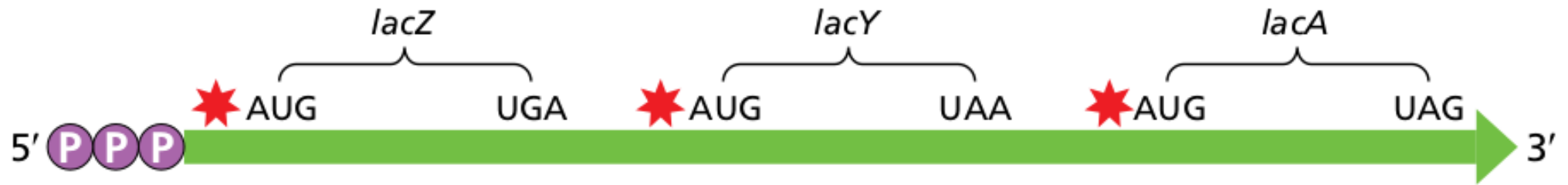
E. coli'de sigma faktörü kullanan promotor bölgelerindeki dizilerin özellikleri

Transkripsiyon sonlandırma



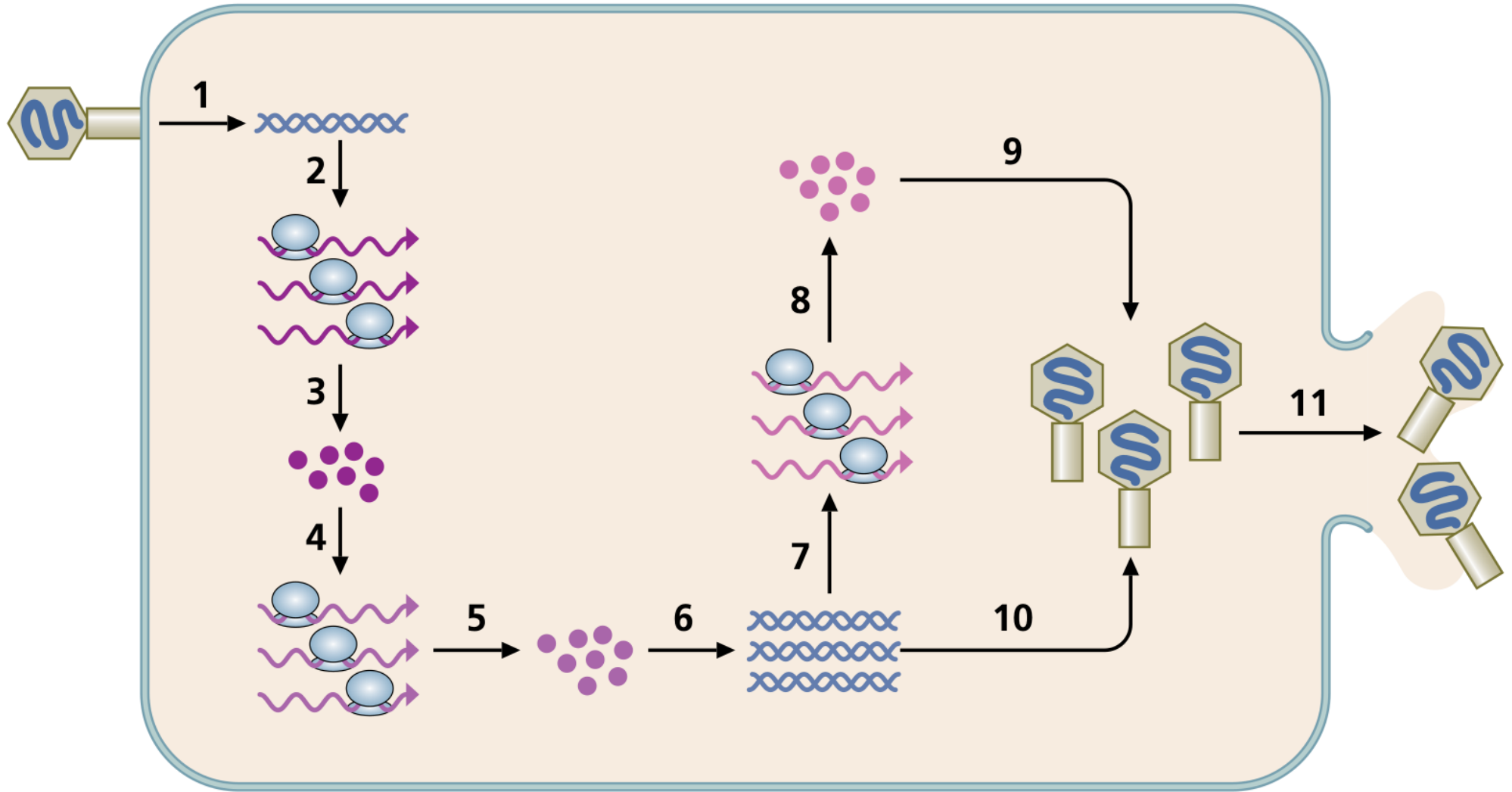
Rho bağımsız sonlandırmada, RNA stem-loop yapısı NusA proteini ile etkileşir ve transkripsiyon kompleksinin ayrılmasını sağlar. Rho-bağlı sonlandırmada Rho proteini belirli bir bölgeye bağlanır ve böylelikle RNA polimerazı engeller.

Bakteriyel RNA polycistronic'tir



Bakteriyel RNA üzerinde birden fazla protein kodlayan bölge bulunabilir ve ribozom bir bölgenin translasyonunu bitirdikten sonra RNA'da ayrılmaz ve bir sonraki başlangıç kodonuna kadar tarama yapar. Ökaryot mRNA monocistronic'tir, sadece tek bir translasyon yapılabilir.

dsDNA faj replikasyonu



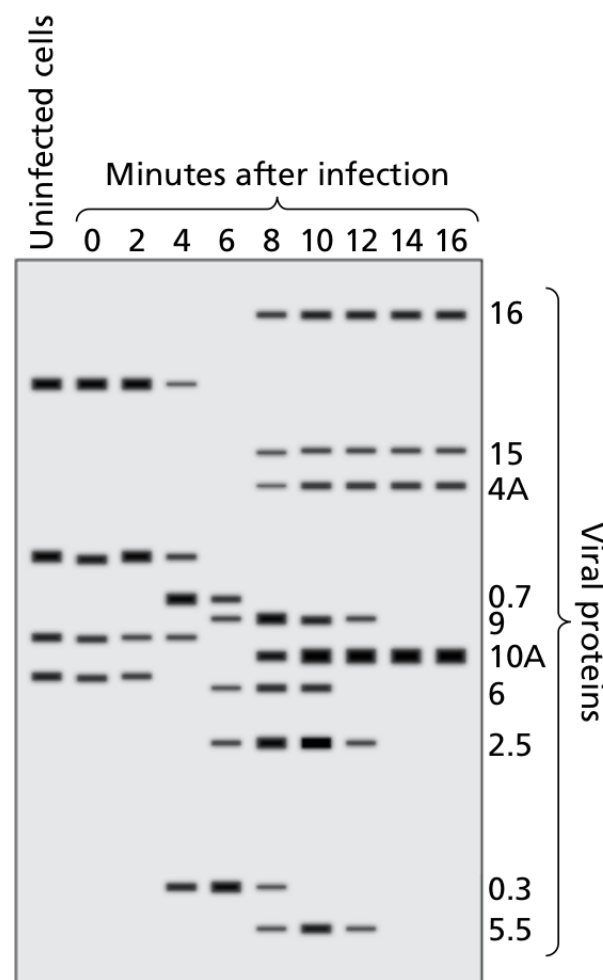
Genom serbest kaldıktan sonra (1) ileri-erken proteinler transkribe edilir (2) ve proteine çevrilir (3). İleri erken proteinler, erken mRNA'nın (4) ve proteinlerin (5) üretimine neden olur. Erken proteinler, yeni genomların üretimine yol açar (6) ki bu, geç proteinlerin transkripsiyonunu (7) ve translasyonunu (8) takip eder. Geç proteinler ve genomlar, yeni fajlar halinde bir araya gelir (9, 10) ve konak hücre patlayarak yavru fajları serbest bırakır (11).

T7 genomu



İleri erken (Class I), erken (Class II) ve geç (Class III) genlerin T7 genomundaki yerleri

T7 gen ifadesi

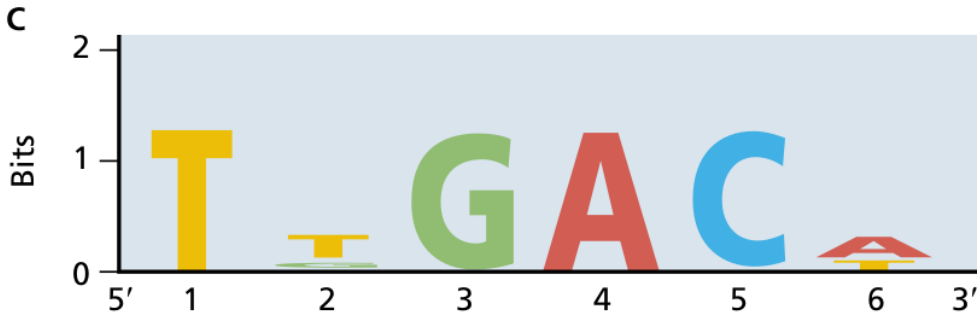
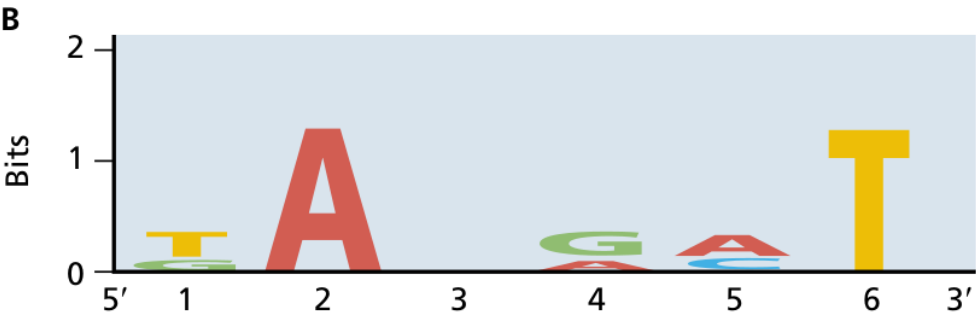


Farklı zamanlarda farklı fazdaki (erken, geç) proteinlerin ortaya çıkışı ve miktarları

T7 promotor bölgeleri

A **Class I promoters transcribed by host RNA polymerase**

Promoter	-40	-30	-20	-10	+1	+10
A1	AAAAGAGTA	TTGACT	TAAAGTCTAA	- CCTATAG	GATACT	TACAGCCATACGAGAGG
A2	AAACAGGTA	TTGACA	ACAAGAAGTAACATGGAG	TAAGAT	ACAAATCGCTAGGTAAC	
A3	ACAAAACGG	TGGACA	ACATGAAGTA	- AACACGG	TACGAT	GTACCACATGAAACGAC
Consensus	A A	TtGACa		tA aT		



Class I genlerinin promotor bölgeleri, sigma faktörü tarafından tanınır ve bakterial RNA pol tarafından transkribe edilir.

T7 promotor bölgeleri

Class II promoters transcribed by viral RNA polymerase

Promoter	-20	-10	+1	+10
Φ1.1A	AACGCCAAAT	<u>CAATACGACTCACTATAGAGGGACA</u>		
Φ1.1B	TTCTTCCGGT	<u>TAATACGACTCACTATAGGAGGACC</u>		
Φ1.3		<u>GGACTGTAATACGACTCAGTATAGGGAGAAT</u>		
Φ1.5		<u>GAAGTAATACGACTCACTAAAGGAGGTAC</u>		
Φ1.6	AGTTAACT	<u>GGTAATACGACTCACTAAAGGAGACAC</u>		
Φ2.5	TGGTCACGCT	<u>TAATACGACTCACTATTAGGAGAAGA</u>		
Φ3.8	AGCACCT	<u>TAATTGAACTCACTAAAGGGAGACC</u>		
Φ4c		<u>GAAGCAATCCGACTCACTAAAGAGAGAGA</u>		
Φ4.3	CGTGGAT	<u>TAATTAATACGACTCACTAAAGGAGACA</u>		
Φ4.7	CCGACTGAGA	<u>CTATTCGACTCACTATAGGAGATAT</u>		
Consensus		taATacgactcAcTatagggaga		

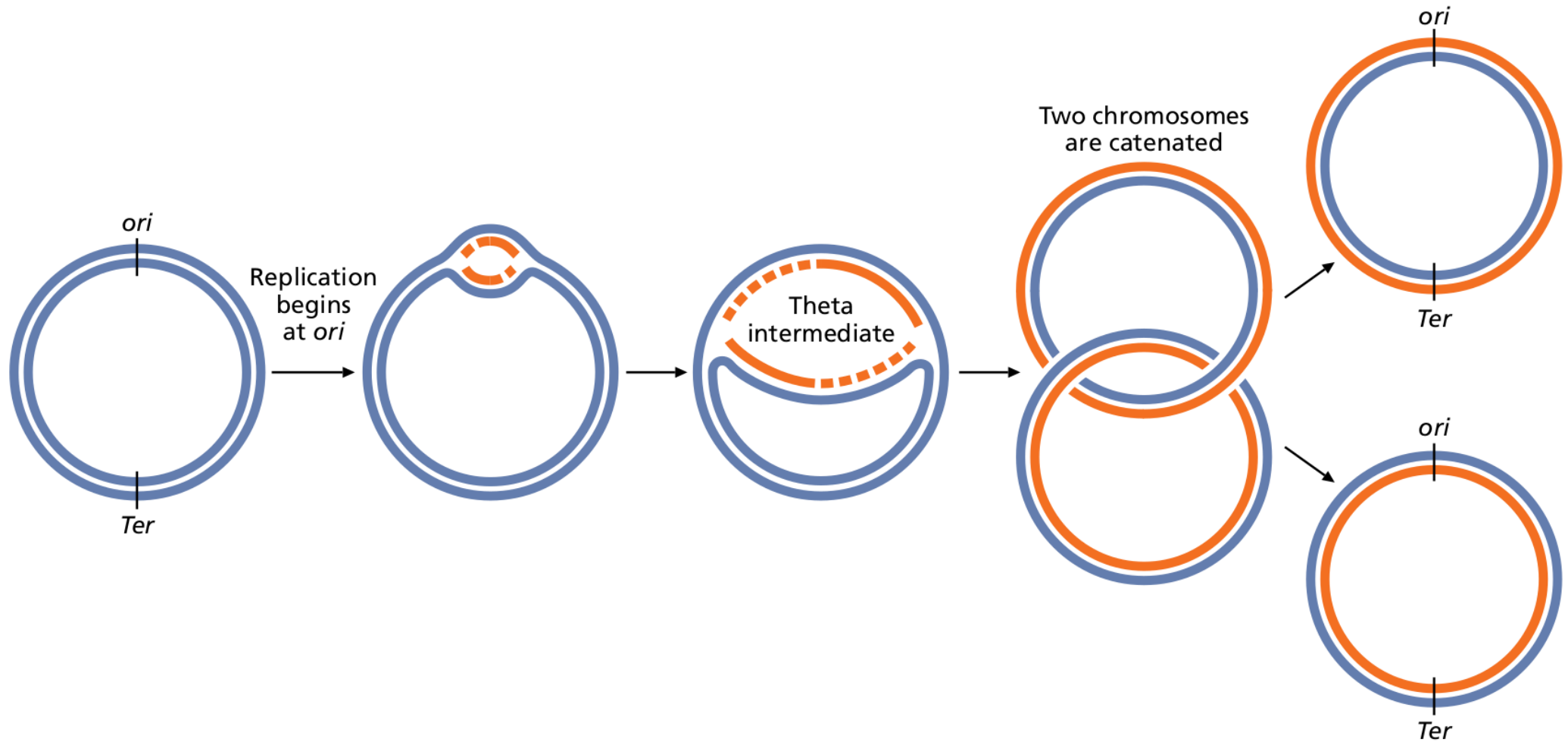
Class III promoters transcribed by viral RNA polymerase

Promoter	-20	-10	+1	+10
Φ6.5	GTCCCTAAAT	<u>TAATACGACTCACTATAGGGAGATA</u>		
Φ9	GCCGGGAATT	<u>TAATACGACTCACTATAGGGAGACC</u>		
Φ10	ACTTCGAAAT	<u>TAATACGACTCACTATAGGGAGACC</u>		
Φ13	GGCTCGAAAT	<u>TAATACGACTCACTATAGGGAGAAC</u>		
Φ17	GCGTAGGAAA	<u>TAATACGACTCACTATAGGGAGAGG</u>		
Consensus		TAATACGACTCACTATAGGGAGA		

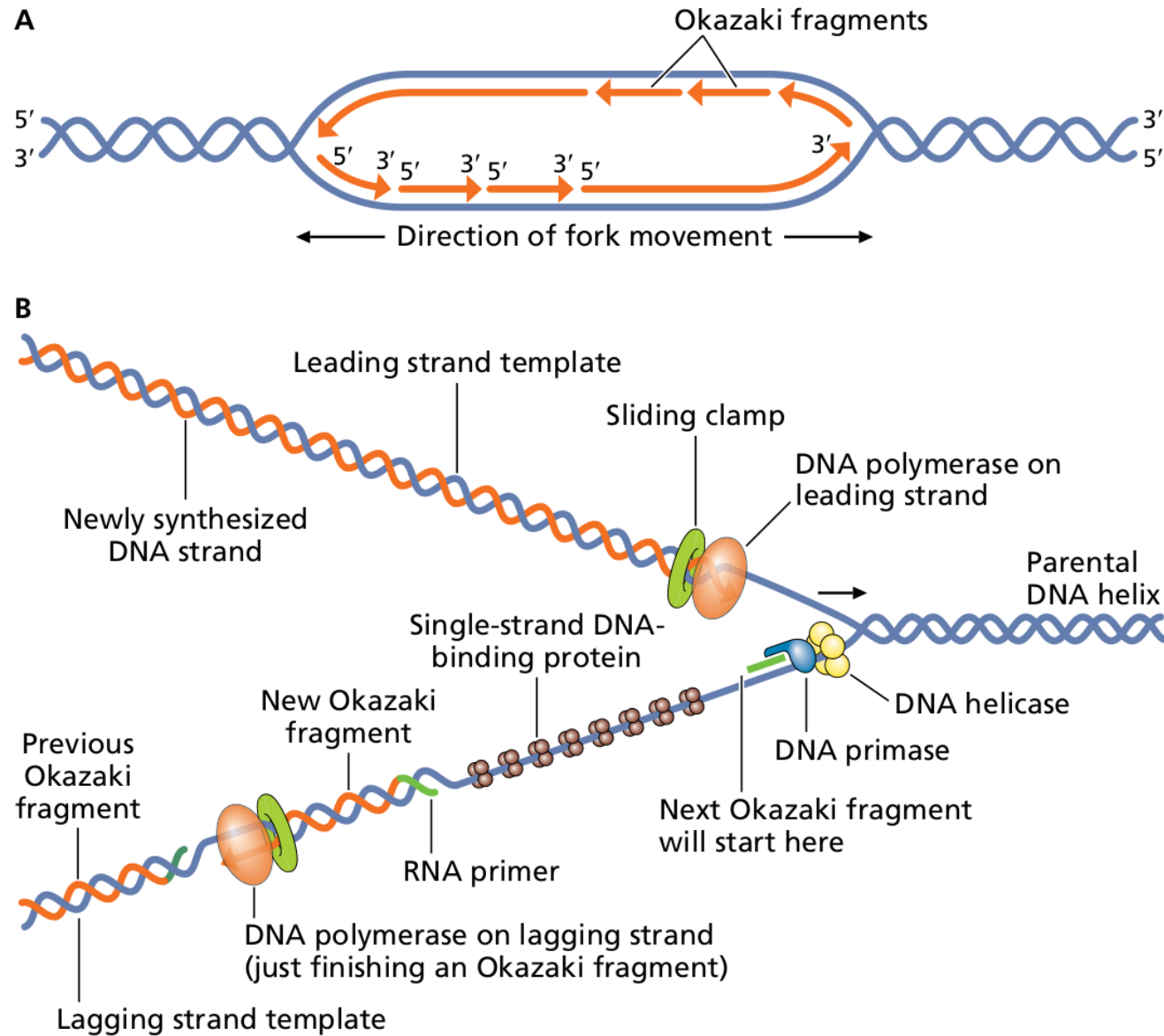
Class II ve III genlerine ait promotor bölgeleri çok daha farklı örüntüler içerir ve faj RNA pol tarafından transkribe edilir.

Bakteriyel DNA replikasyonu

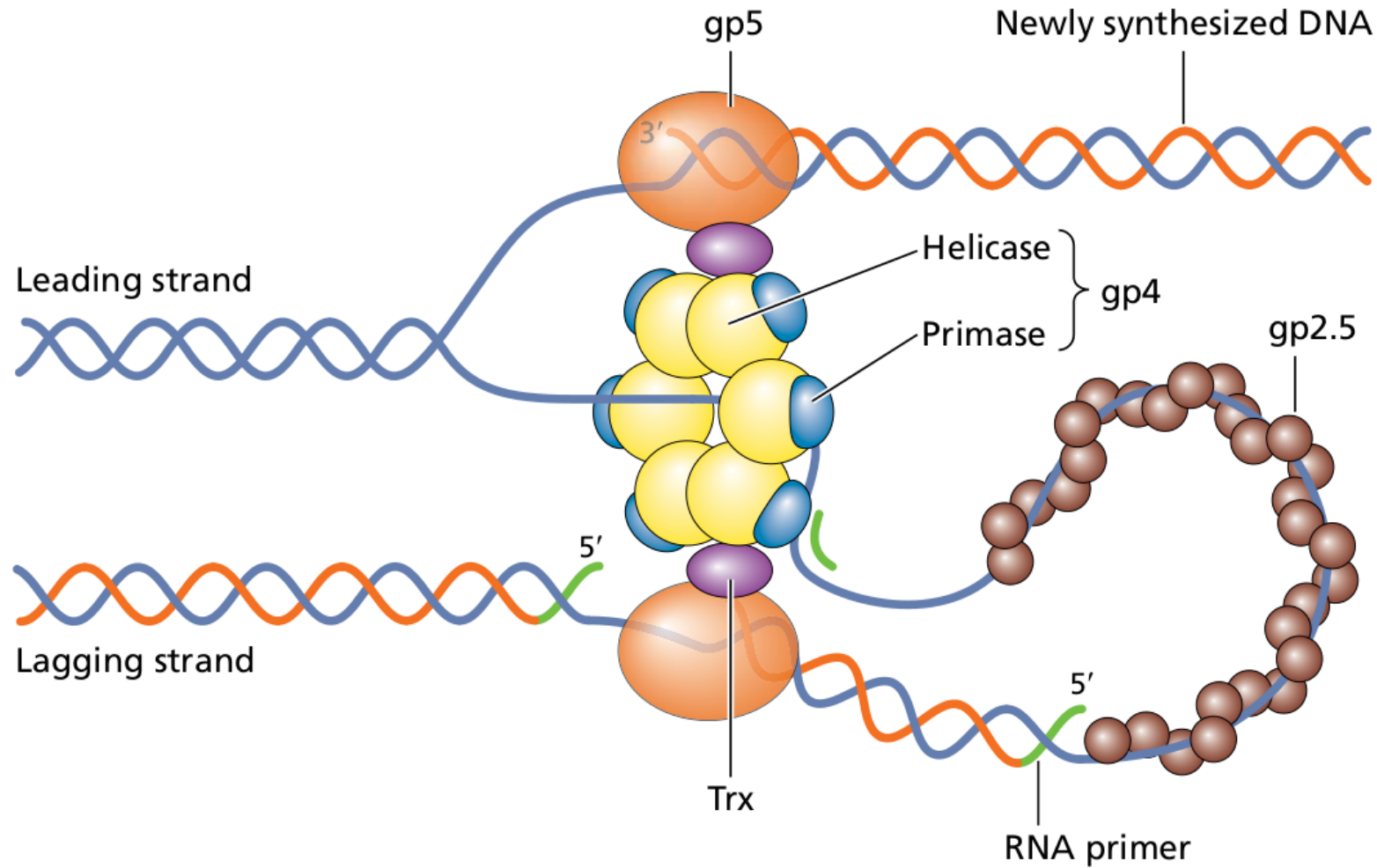
Halkasal bakteri DNA'sına ait theta (θ) replikasyonu



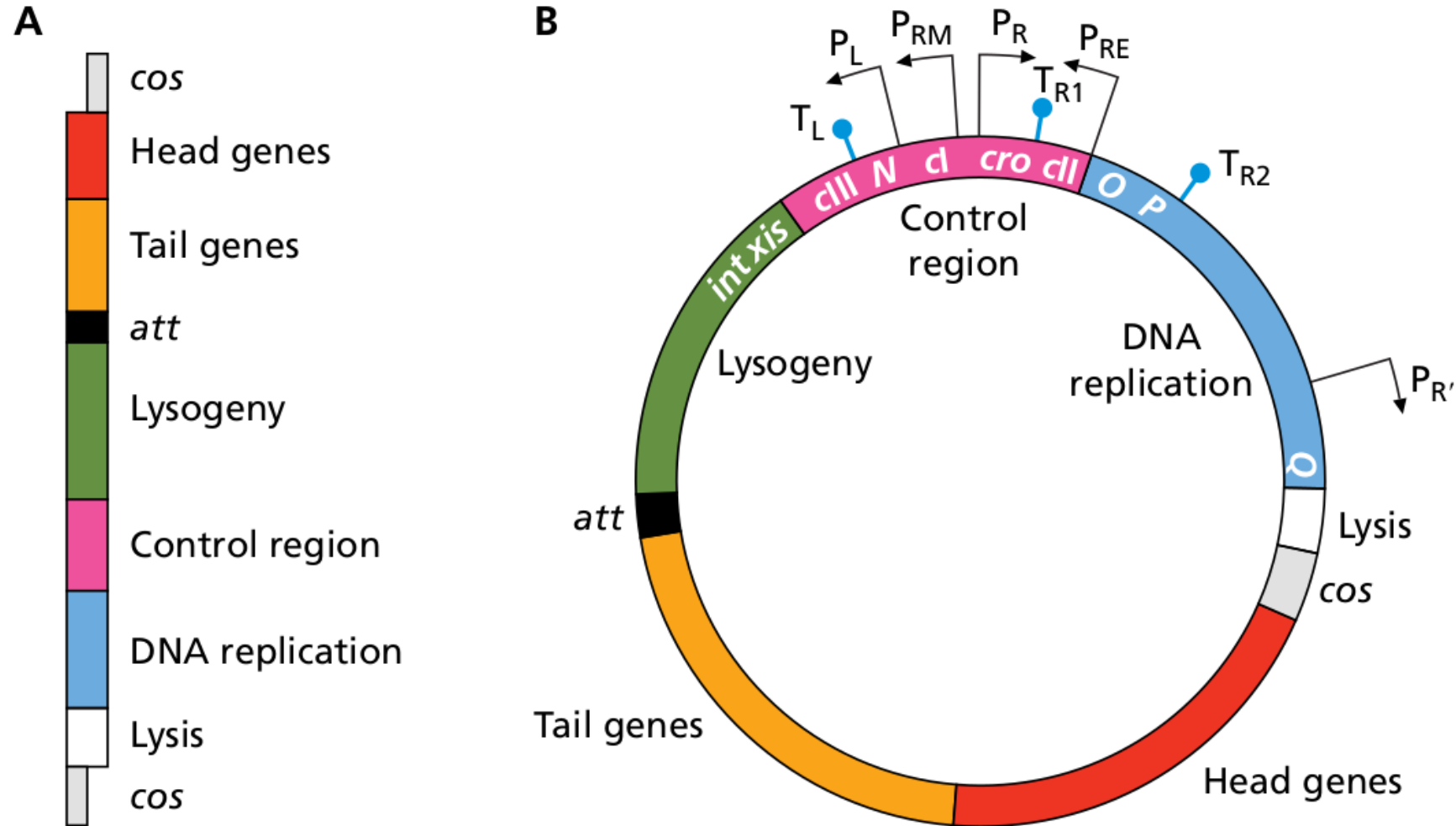
Replikasyon çatalları ve mekanizma

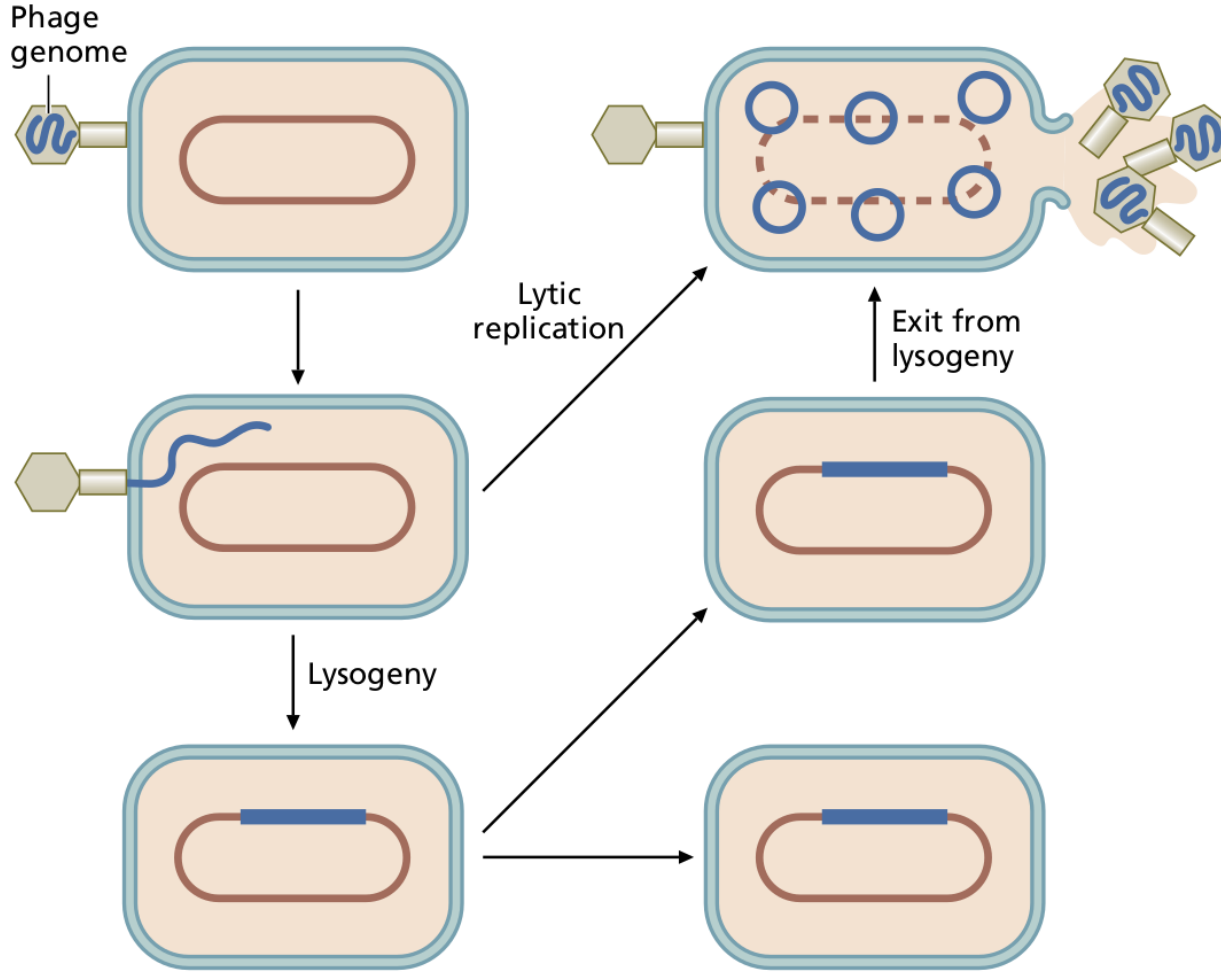


T7 replikasyon mekanizması



Lambda faj genomu

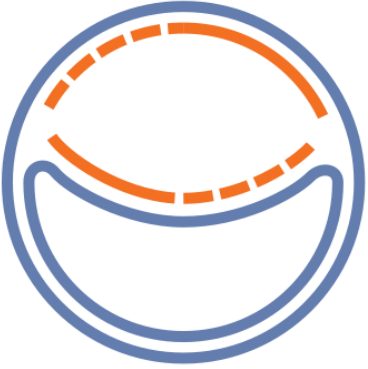




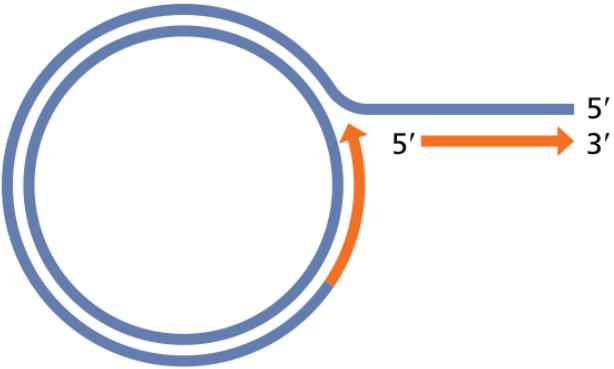
Lambda faj, litik olarak çoğalarak konak hücreyi hemen öldürebilir veya lisogenik olarak, inaktif olarak bekleyebilir. Lisogenik halde bir süre bekledikten sonra litik döngü aktif hale geldiğinde, çoğalarak konak hücreyi öldürebilir.

Lambda replikasyonu

Theta intermediate



Sigma intermediate



Öncelikle theta şeklinde çoğalma gerçekleşir daha sonra sigma (rolling circle) moduna geçilerek N kopya genom içeren konkatamerler oluşur.