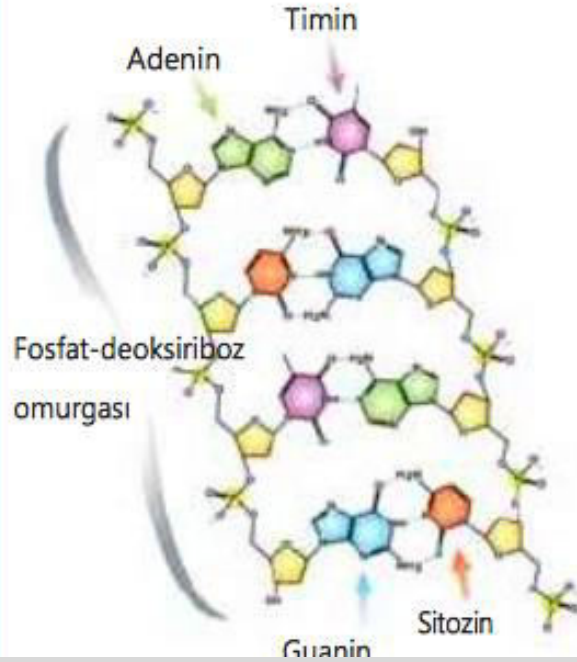
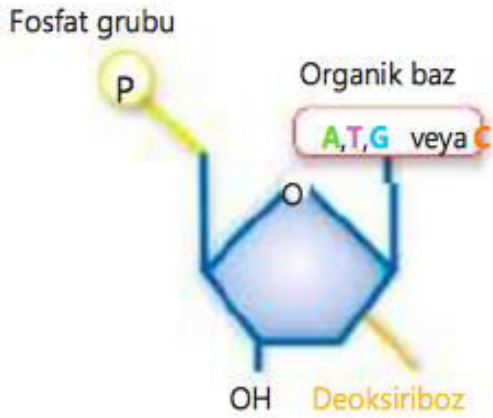
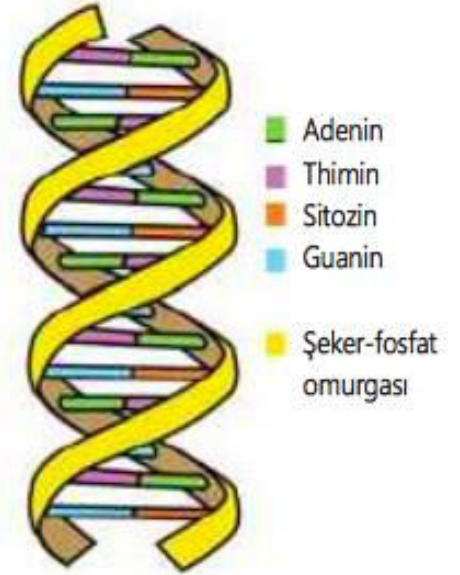


Neden DNA'da Timin neden RNA'da Urasil???

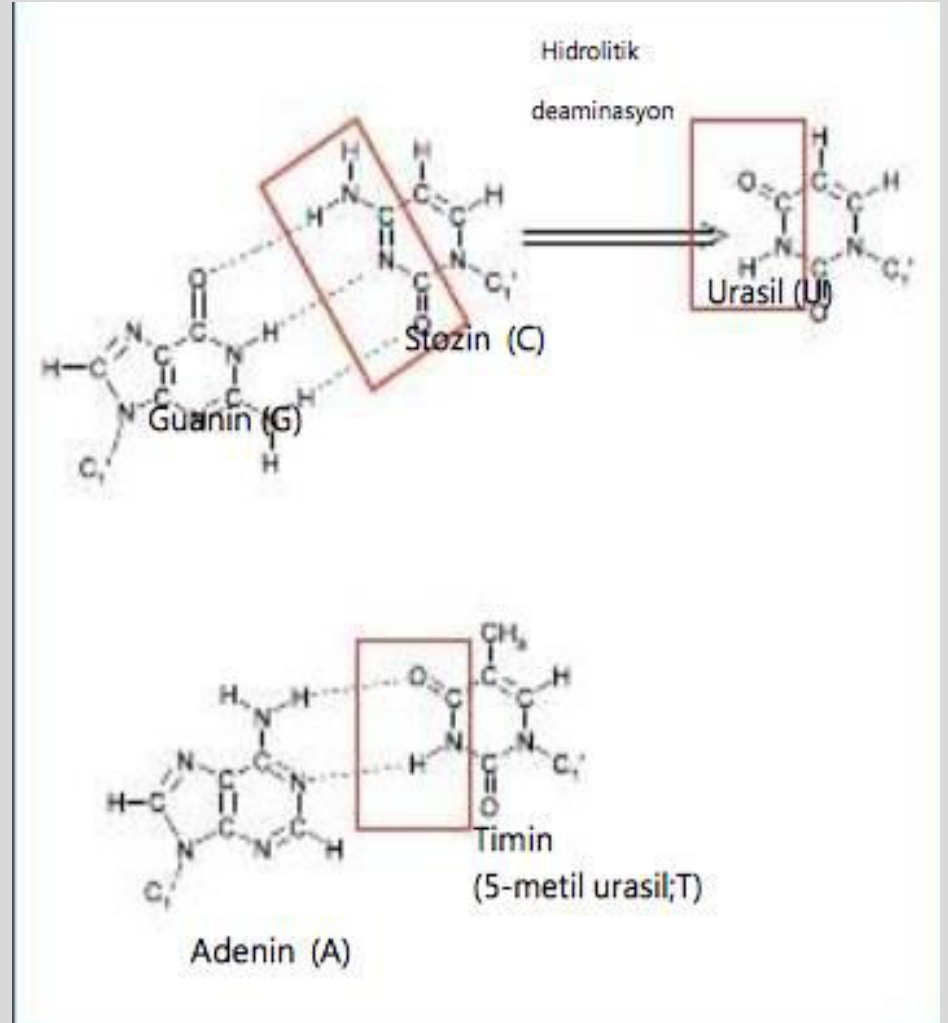


Imagecourtesy: yqf4orluvo/f; image source: Wikimedia Commons



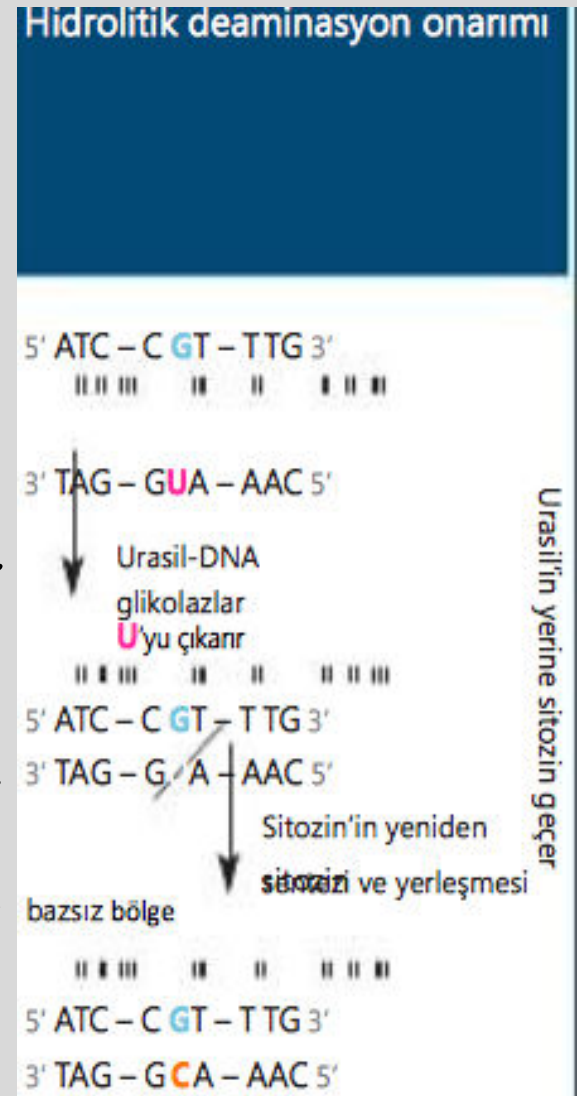
Neden DNA'da Timin neden RNA'da Urasil???

- Kimyasal olarak **timin**, fazladan bir metil grubu eklenmiş bir urasil molekülüdür.
- **Sitozin** kendiliğinden hidrolitik deaminasyon adlı bir işlem geçirerek **urasile** dönüşebilir.



Neden DNA'da Timin neden RNA'da Urasil???

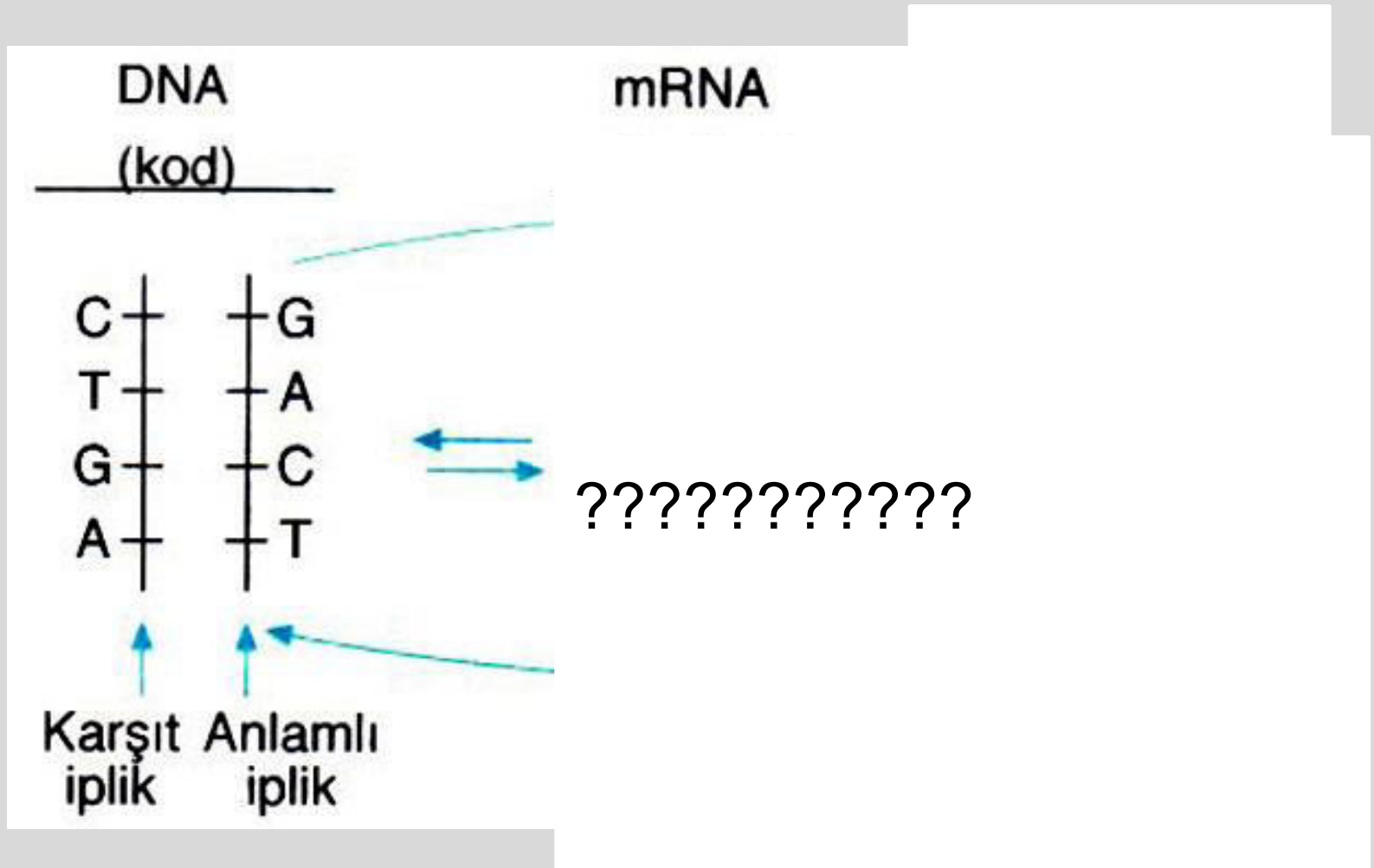
- Başlangıçta sitoze bağlı olan guanin karşı taraftaki urasile karşı gelir.
- Hücre, daha sonra DNA'sını kopyalarken, bu urasil molekülünün karşısındaki guanin olması gereken yere bir adenin yerleştirilebilir .
- Bu bölgedeki DNA mesajı değişebilir.
- Sitozin deaminasyonu en iyi bilinen DNA hasar çeşitlerinden biridir, ama normolde etkin biçimde düzeltilir.
- Hücre bunu nasıl yapar?
- Hücre bu yanlış bulabilen onarım sistemine sahiptir.
- Bu bölge kopyalanıp geçilmeden önce bu yanlış düzeltilir.



Niçin Urasil RNA'da tutulur?

- RNA, DNA'dan daha kısa ömürlüdür ve genetik bilgiyi uzun süre saklayamaz.
- RNA'da kendiliğinden urasillere dönüşen sitozin molekülleri hücre için büyük bir sorun yaratmazlar.
- Bu şekilde, hücre düzenegİ bir urasil bulursa, onu keser ve onarır.
- Ancak, hücredeki aynı mekanizma metil grubu taşıyan bir urasil (timin) bulursa ona karışmaz.
- Urasilin DNA'da yer alması mutasyonların oranında artışa sebep olacaktır.
- Eğer DNA'da Urasil olsaydı, tamir enzimleri DNA da bulunan normal Urasil ile deaminasyon sonucu oluşan urasili ayırt edemezdi.***
- DNA'da timinin bulunması hayat kurtarır. ***

???

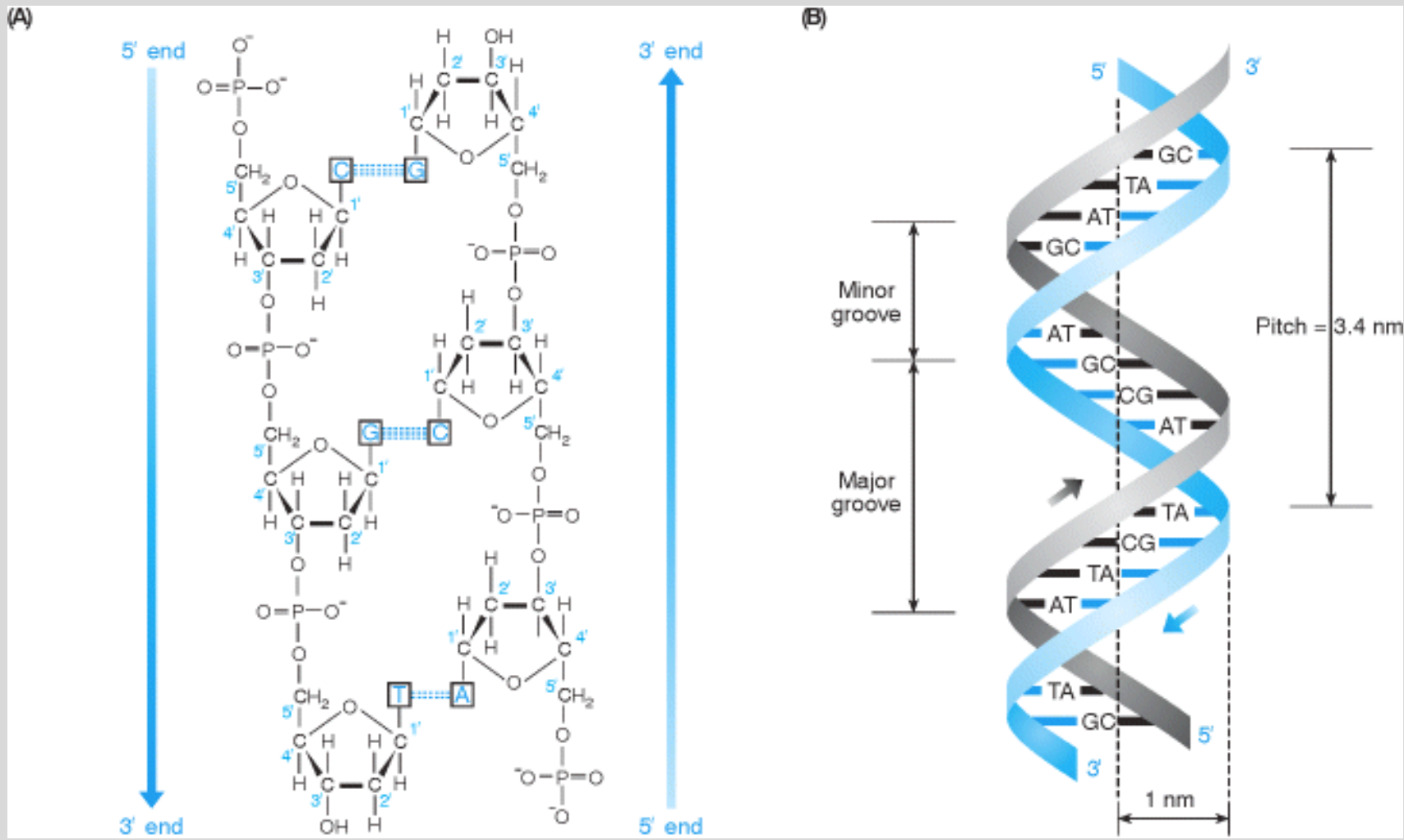


REPLİKASYON





- Watson ve Crick DNA modelini ortaya koyduktan sonra başka bir soru gündeme geliyor?
- **DNA molekülü kendini nasıl kopyalar (REPLİKASYON)???**
- **(Meselson ve Stahl)**



Replikasyon



DNA

Transkripsiyon

RNA

Translasyon

Protein

- **Replikasyon DNA ' nın temel bir işlevidir.***
- Hücre bölünmesi olduktan sonra hücrelerde genetik devamlılığın sağlanabilmesi için, bu olay öncesinde replikasyon** gerçekleşmelidir.
- **Mitoz bölünmeye girmeden önce DNA molekülü genetik bilgi miktarını 2 katına çıkarır.***
- Bölünme ile genetik bilgi yavru hücrelere eşit olarak dağılır.

- Ökaryotik hücrelerde DNA replikasyonu mitoz bölünmeye hazırlanan hücrelerin hücre siklusunun **sentez fazında (S)** gerçekleşir.

INTERFAZ

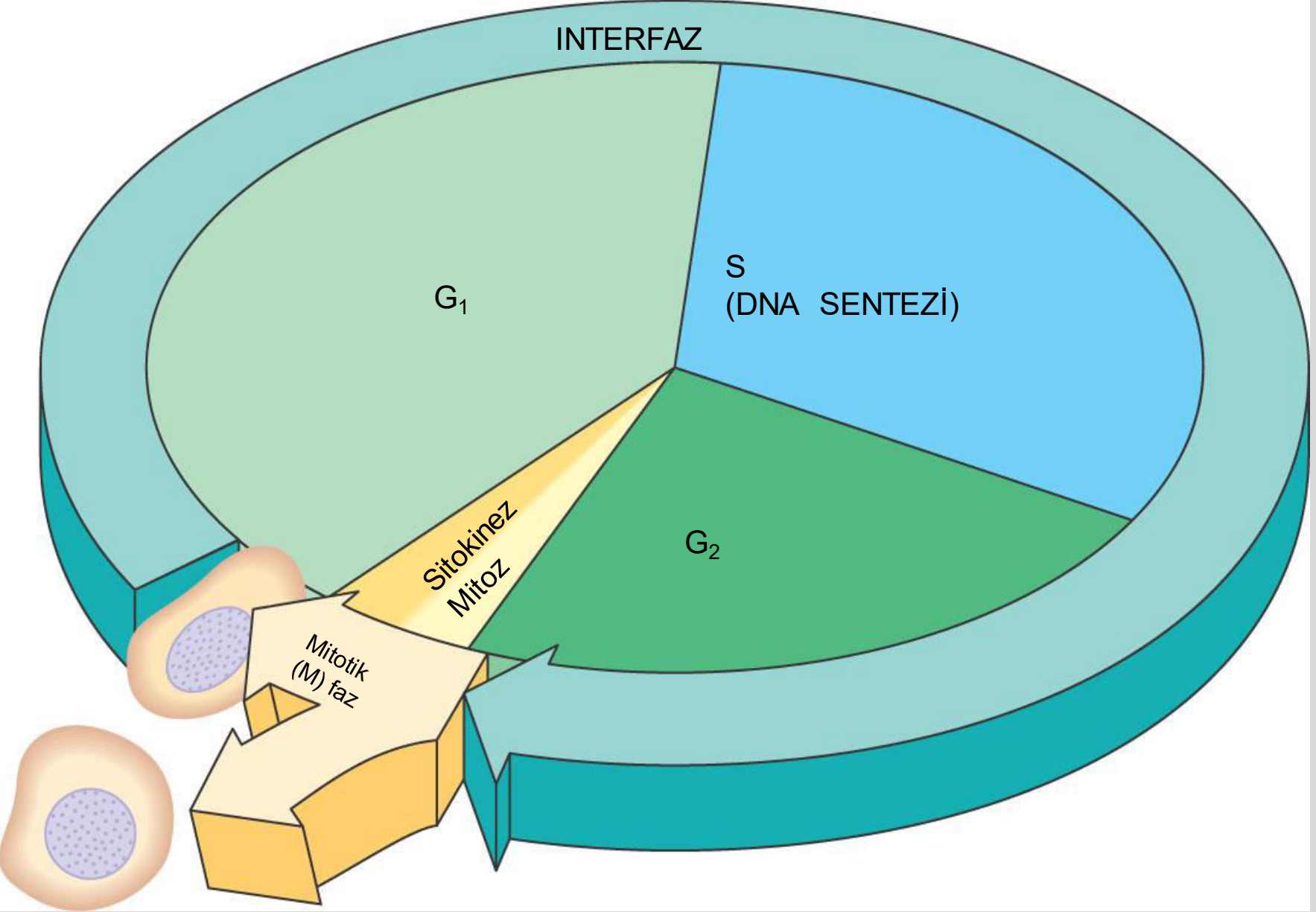
G₁

S
(DNA SENTEZİ)

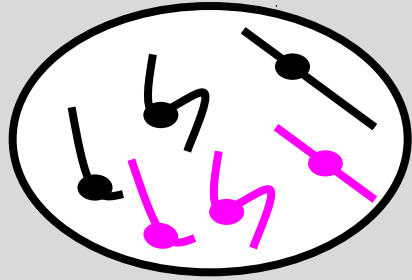
G₂

Sitokinez
Mitoz

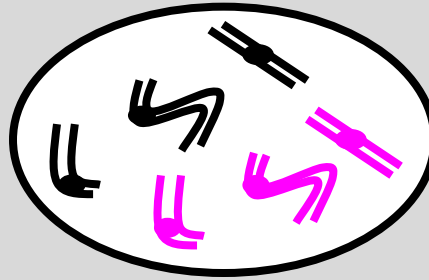
Mitotik
(M) faz



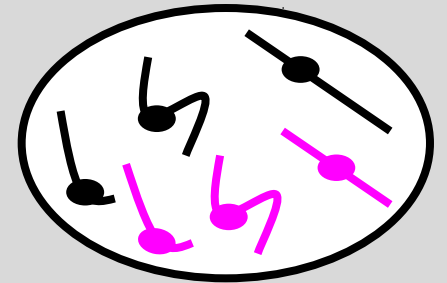
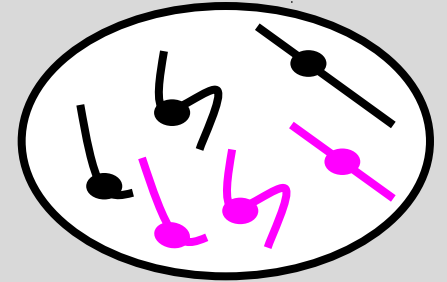
DNA replikasyonu



Diploid Hücre



Mitoz

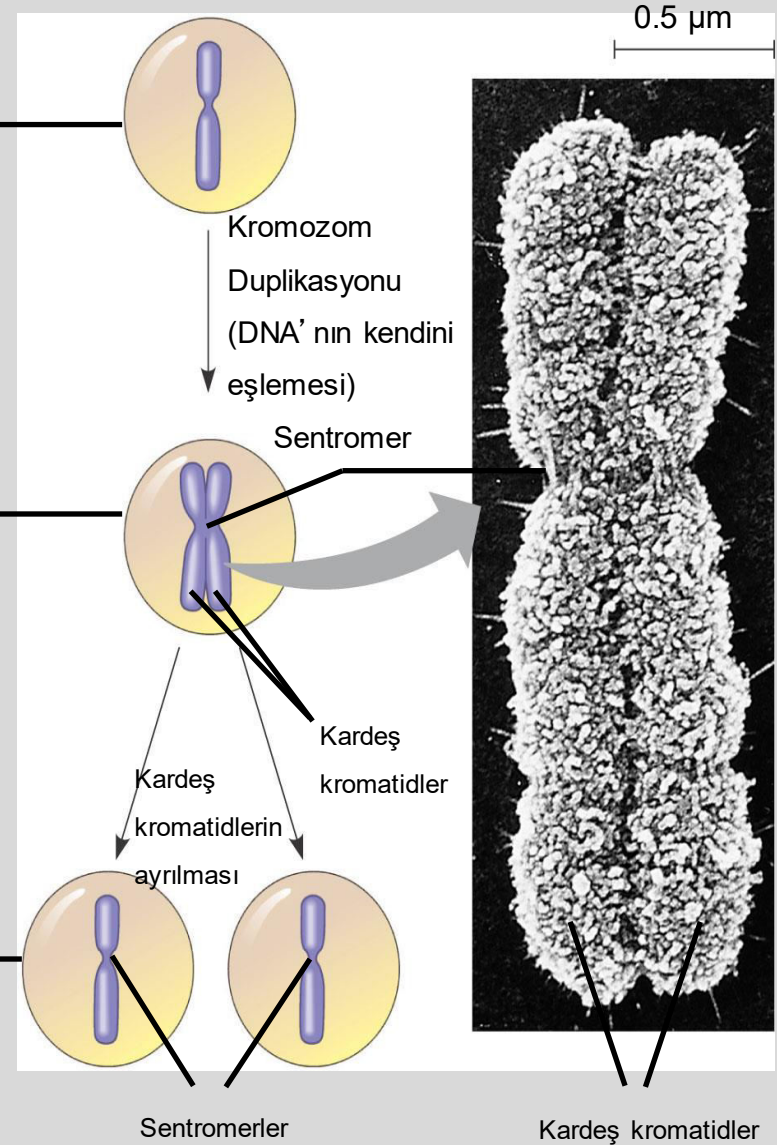


Kromozom duplikasyonu

Bir ökaryotik hücrede çok sayıda kromozom bulunmaktadır. Duplikasyon öncesinde, her kromozom tek bir DNA molekülüne sahiptir

Bir kromozom duplike olunca (kendini eşleyince) sentromerden birbirine bağlı iki kardeş kromatidden oluşur. Her bir kromatid DNA molekülünün bir kopyasını içermektedir

Mekanik olarak kardeş kromatidler iki kromozoma ayrılır ve her bir kromozom iki kardeş hücreye dağılır



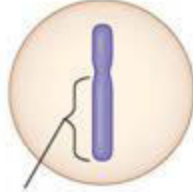
Şekil 8

0.5 μm



Kardeş kromatitler

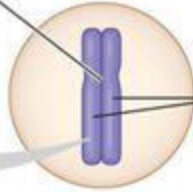
kromozomlar



kromozomun
kolu

kromozomun
dublikasyonu (DNA
sentezini içeren)

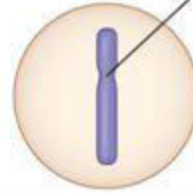
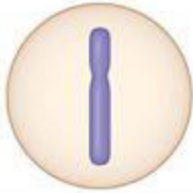
sentromer



Kardeş
kromatitler

Kardeş kromatitlerin
ayrılması

Sentromer



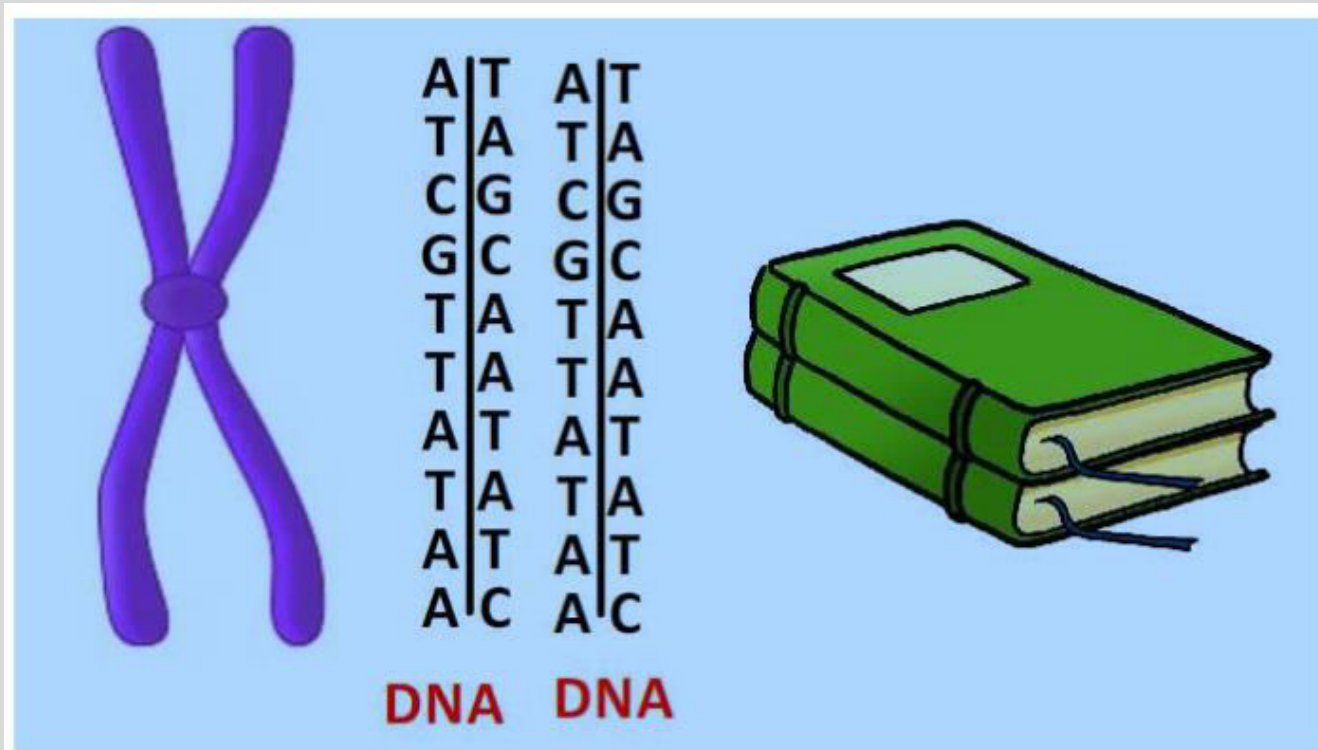
DNA molekülleri



• **KROMATİT
(EŞ)
KROMOZOM**

• **Kromozom eşlenmesi sonucunda oluşan ipliklerdir. Kromatitler sentromer ile birbirine bağlıdır. İki kromatit bir kromozomu oluşturur.**

- Kardeş kromatitler, kromozom'un sentromer bölgesinden birbirlerine bağlıdır.
- Bu kromatitlerin her biri özdeş bir DNA molekülü taşır.
- Yani bir kromozomda 2 DNA molekülü vardır.

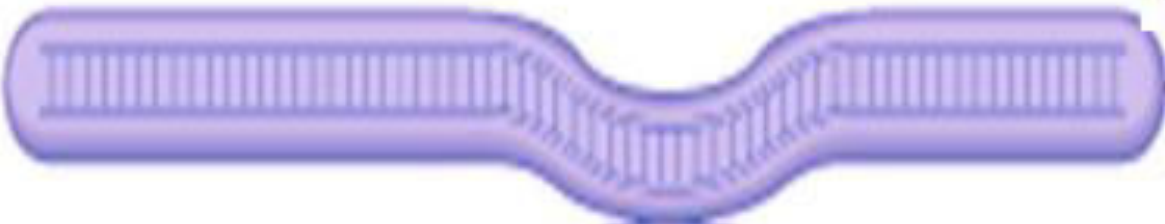


- Bu kadar büyük miktardaki DNA'nın replikasyonu ve yavru hücrelere dağıtılması, kromozomlar halinde paketlenmiş olmasından dolayı mümkündür.
- Her ökaryotik tür kendine özgü kromozom sayısına sahiptir.
- İnsan somatik hücreleri 46 kromozom içerirken, gamet hücreleri için bu sayı 23'tür.
- Her ökaryotik kromozom bir tane çok uzun ve doğrusal bir DNA molekülüne sahiptir.

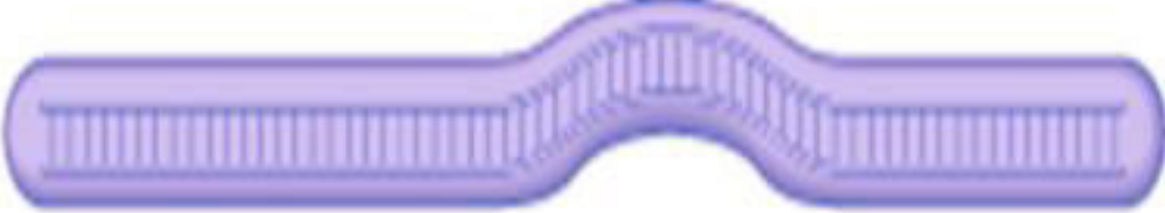
- DNA-protein kompleksine=KROMATIN* adı verilir.
- **Kromatinler**, ince-uzun bir iplik halinde organize olmuştur.
- Bölünmeye hazırlanan bir hücrenin **kromatinleri** kısalıp kalınlaşarak **KROMOZOM*** halini alır.



Bir Kromozom(eşlenmemiş)



Bir kromatit



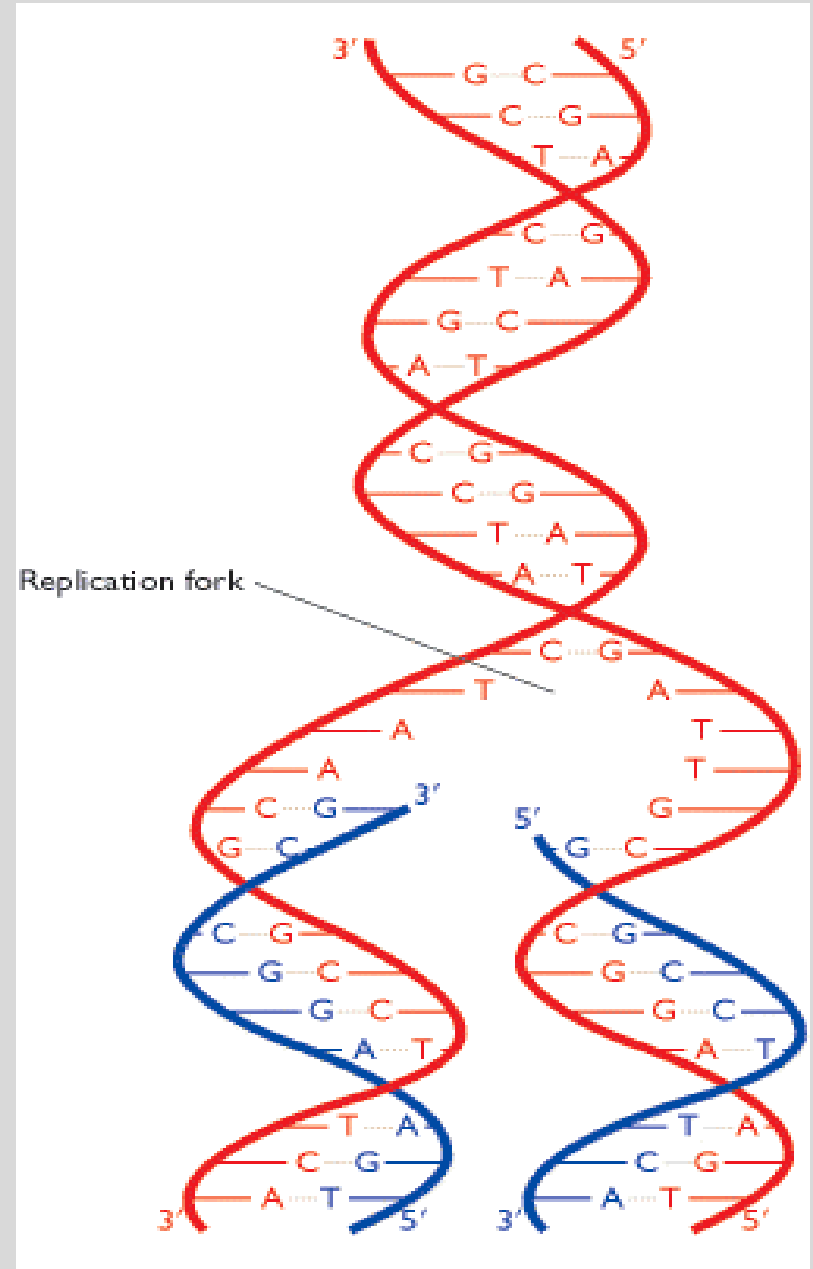
Onun kardeş kromatit'i

Bir Kromozom(eşlenmiş)

DNA REPLİKASYONU

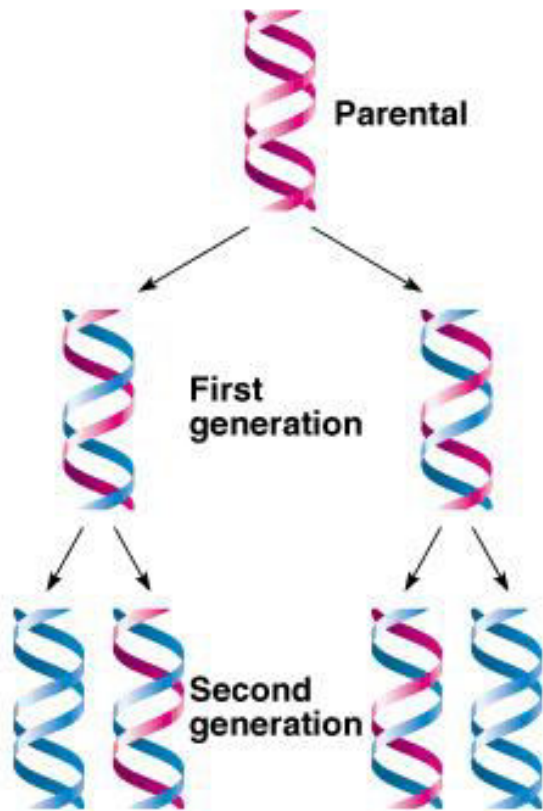
- Replikasyon genetik materyelin tamamen kendi benzeri yeni bir molekül oluşturma işlemidir.*
- DNA kendini eşleyebilen tek biyomoleküldür.*
- DNA da taşınan genetik bilgi her replikasyon olayı ile dölden döle aktarılır.*

- **DNA replikasyonu yarı koruyucu (semikonservatif) bir model ile açıklanır;**
- Bu model iki zincirli sarmal DNA'nın her bir ipliğinin kalıp görevi yaparak kendine yeni bir eş (komplementer) DNA ipliği oluşturması işlemidir.

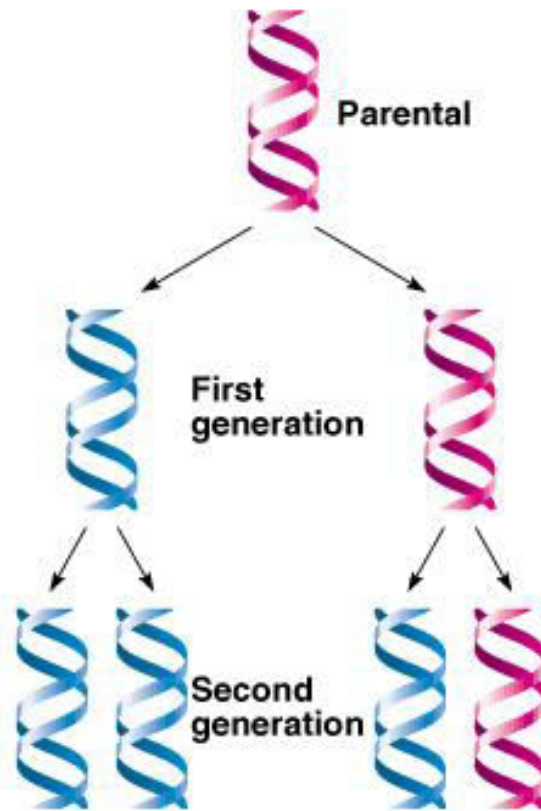


- İlk kez **Meselson ve Stahl (1958)** deneyleri ile DNA'nın yarı koruyucu* tipte bir replikasyon gerçekleştirdiğini kanıtlamışlardır.

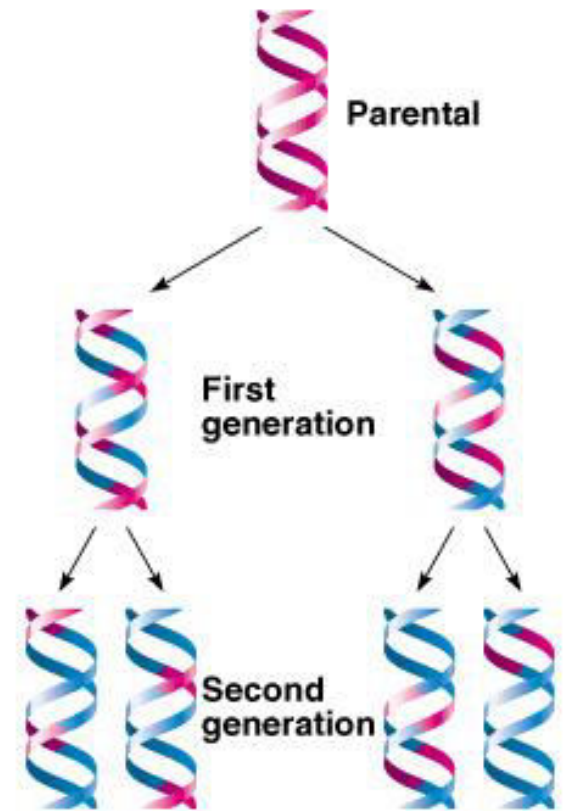
a) The semiconservative model



b) The conservative model



c) The dispersive model

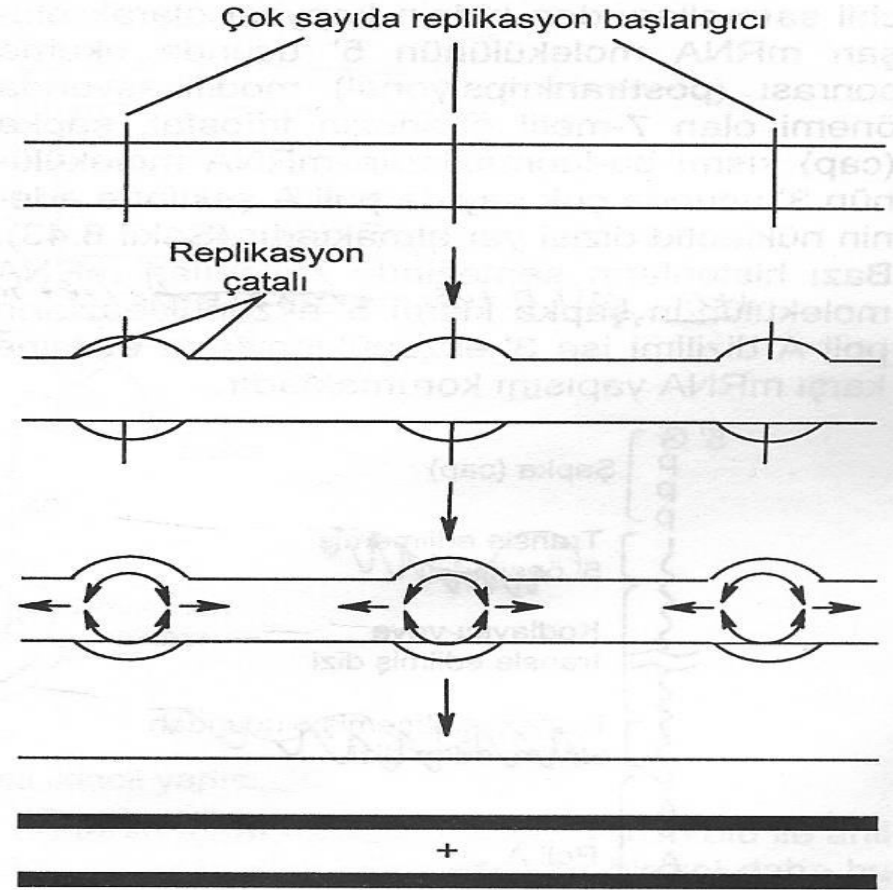
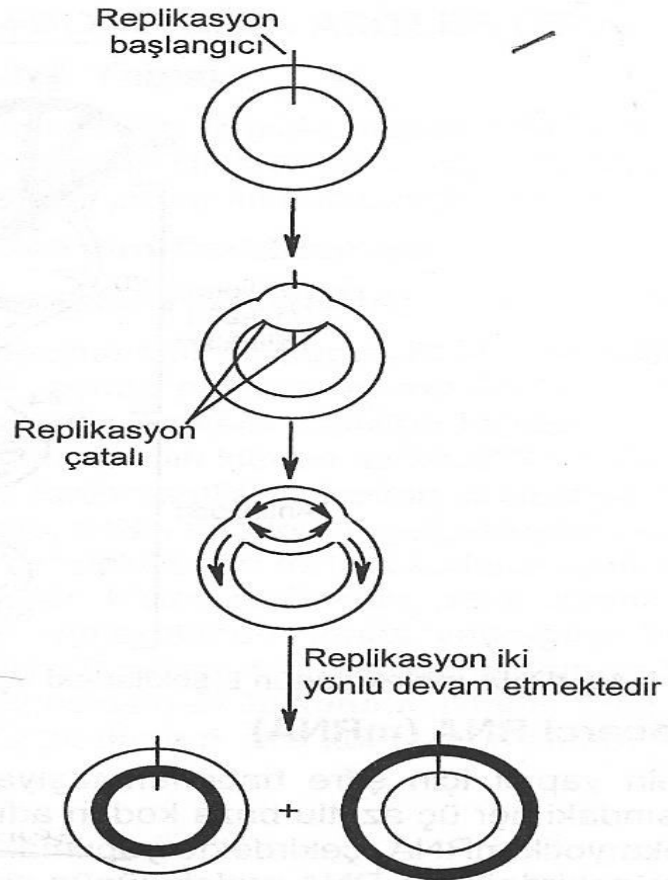


- DNA'nın replikasyonu nerden başlar?
- 1 ya da birden fazla noktadan mı başlar?
- Başlangıç noktası rastgele mi yoksa özel bir bölgeden mi başlar?
- Başladıktan sonra tek bir yönde mi yoksa her iki yönde de mi ilerler?

DNA Replikasyonunun Temel Mekanizmaları:

- ✓ ***Hem **prokaryotik** hemde **ökaryotik** hücrelerde replikasyonun temel mekanizmaları aynıdır.
- Replikasyon başlangıç noktalarının (**orijin**) tayini
- **DNA çift ipliğinin çözünmesi**
- **Replikasyon çatalının oluşması**

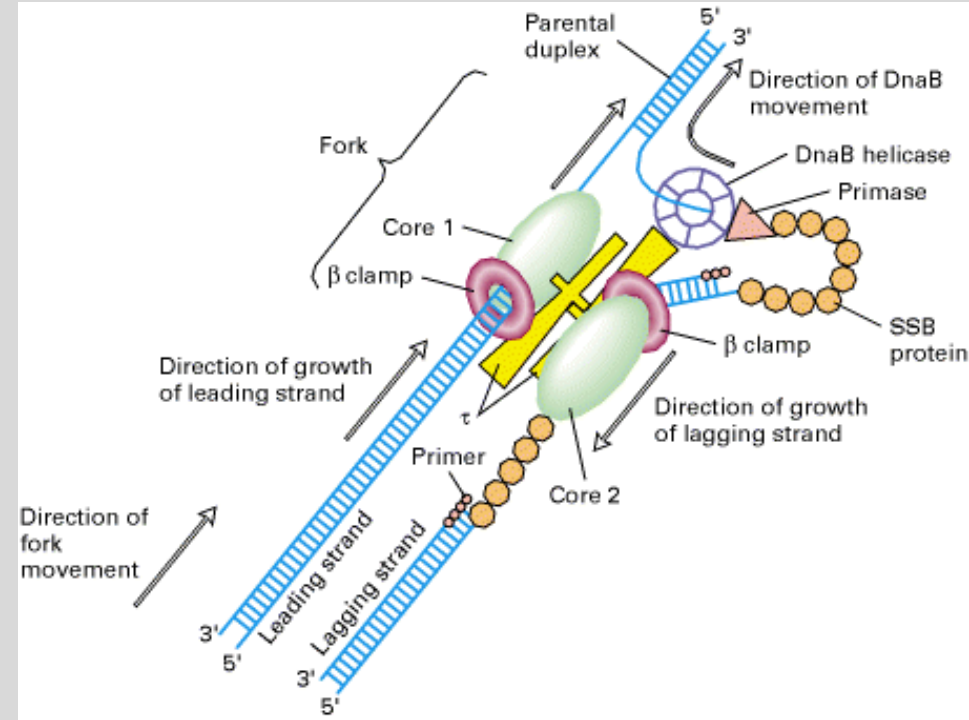
- **Replikasyon orijini:** Replikasyonun başlangıç noktası
- **Replikasyon çatalı:** Kromozom üzerinde replikasyonun olduğu noktada sarmala ait zincirlerin açılmasıyla ortaya çıkan bölgedir. Önce sentezin orijin noktasında meydana gelir ve replikasyon devam ettikçe ilerler.
- Replikasyon çift yönlü ise, orijinden itibaren zıt yöne doğru ilerleyen iki replikasyon çatalı oluşur.



- **Replikasyon mekanizmasında iş gören temel yapılar nelerdir?***
- **Replikasyon mekanizması nasıl gerçekleşir?***
- **Replikasyon prokaryot ve ökaryot canlılarda nasıl farklılık gösterir?***
- **Telomer-telomeras nedir? Ne işe yarar? Replikasyon ile arasındaki ilişki nedir?***
- **Mutasyon nedir? *****

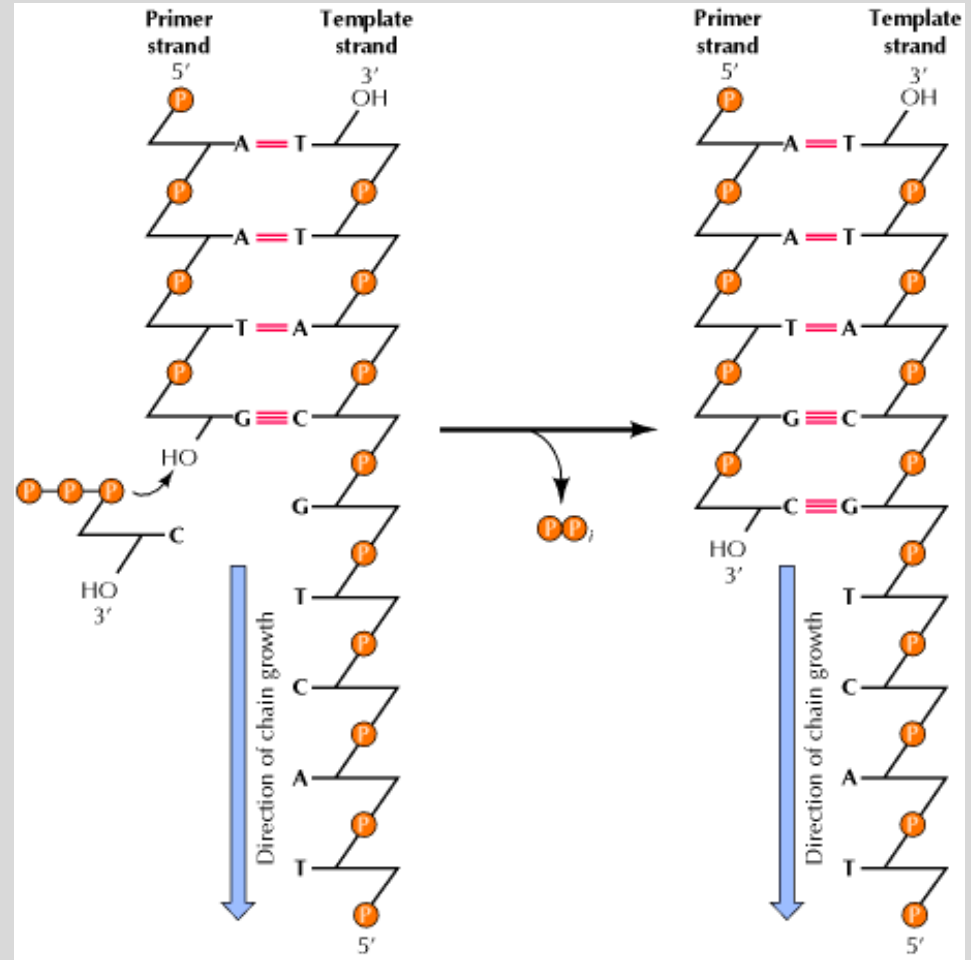
Replikasyon

- Replikasyonda herbirinin belirli bir fonksiyonu bulunan pekçok protein iş görmektedir.
- Replikasyon işleminde merkezi rol oynayan enzim “**DNA polimeraz***”dır.



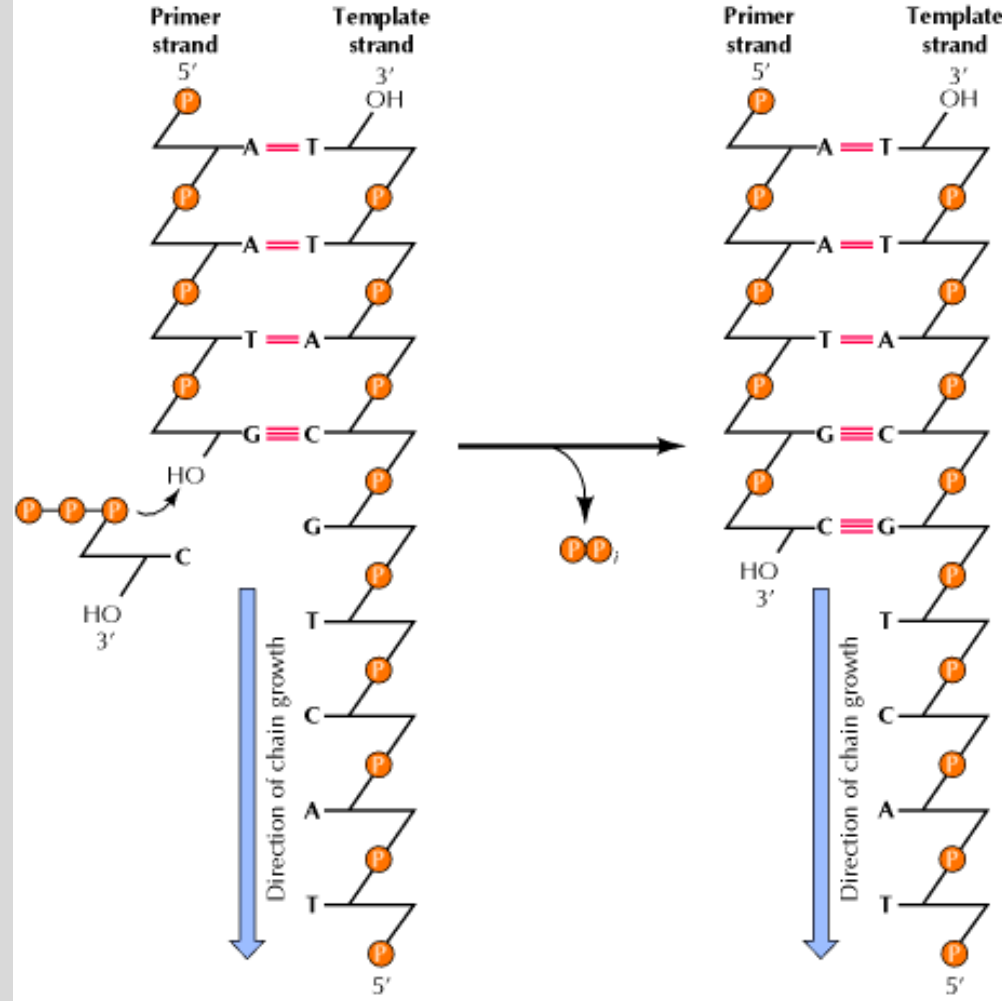
1. DNA polimeraz*

- DNA replikasyonu sırasında yeni sentezlenen zincirlerde uzayan iplikçiğe deoksinükleozidtrifosfat (dNTP) ların eklenmesini katalizler.
- Prokaryotlarda pol I, II ve III; ökaryotlarda ise α , β , γ , δ ve ϵ olmak üzere farklı tipleri mevcuttur.



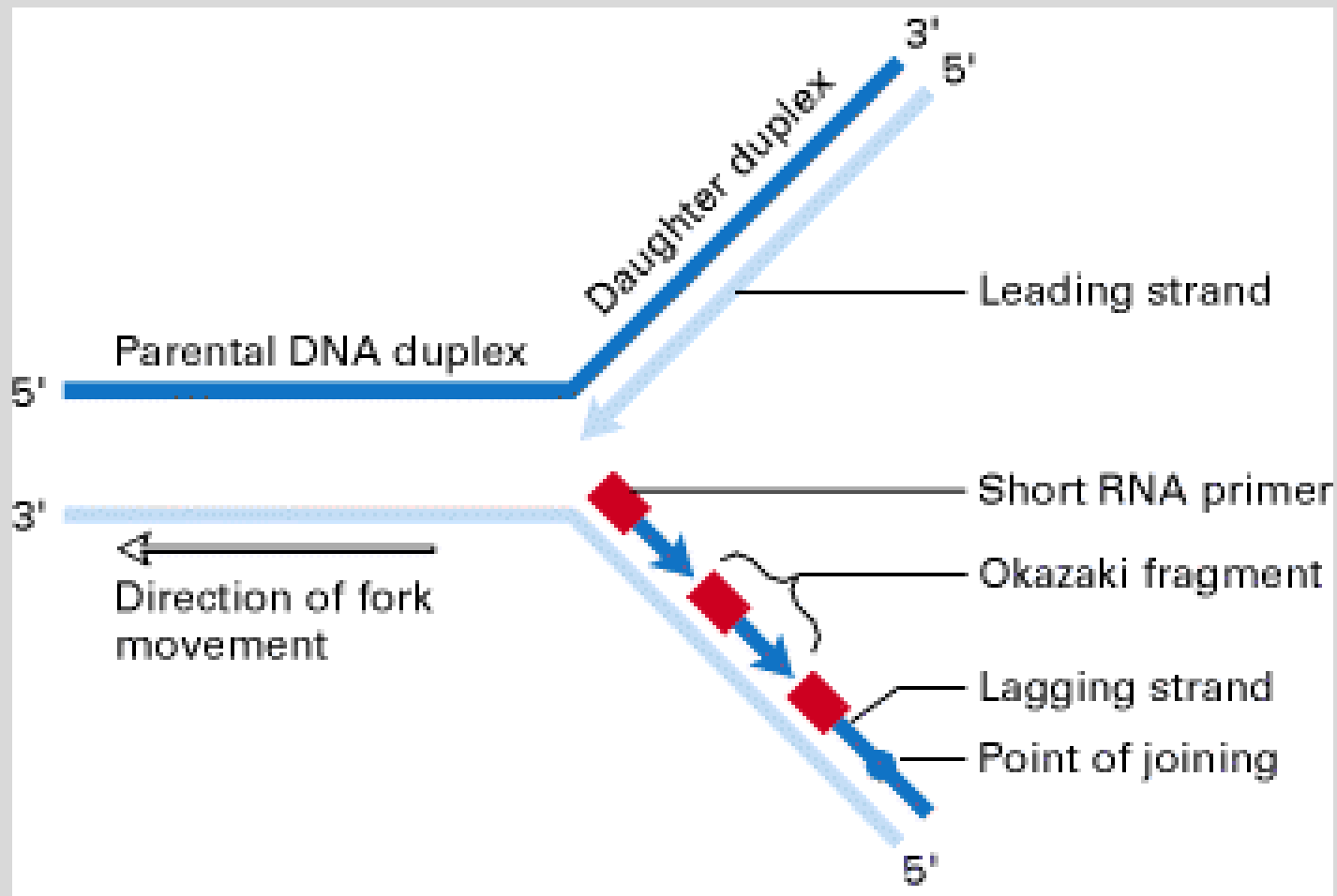
Replikasyon

- Nükleotidler hücre içerisinde dNTP* şeklinde sentezlenir, ancak DNA'nın yapısına dNMP* olarak katılırlar.
- Sentez her zaman $5' \rightarrow 3'$ * yönündedir (DNA Polimerazın $5' \rightarrow 3'$ sentez aktivitesi)*
- Sentez sırasında nadir de olsa DNA polimeraz enzimi kalıp iplikçığın karşısına yanlış nükleotid* takabilir.
- Ancak DNA polimerazın kendi özelliğinden kaynaklanan "**proof reading**"* aktivitesi ile takılan nükleotid kontrol edilir ve eğer yanlış ise çıkartılıp ($3' \rightarrow 5'$ **ekzonükleaz aktivitesi******) yerine tekrar doğrusu takılır ($5' \rightarrow 3'$ sentez aktivitesi).

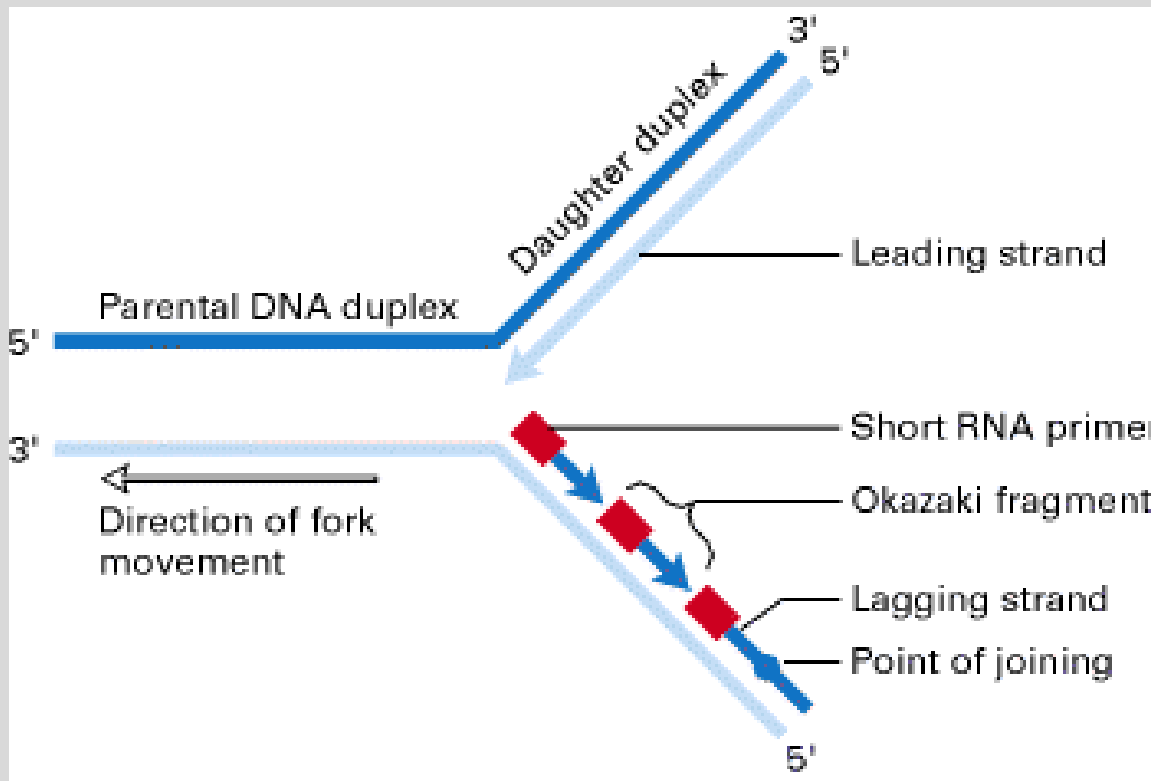


Bütün DNA polimeraz'ların 2 ortak özelliği vardır:*****

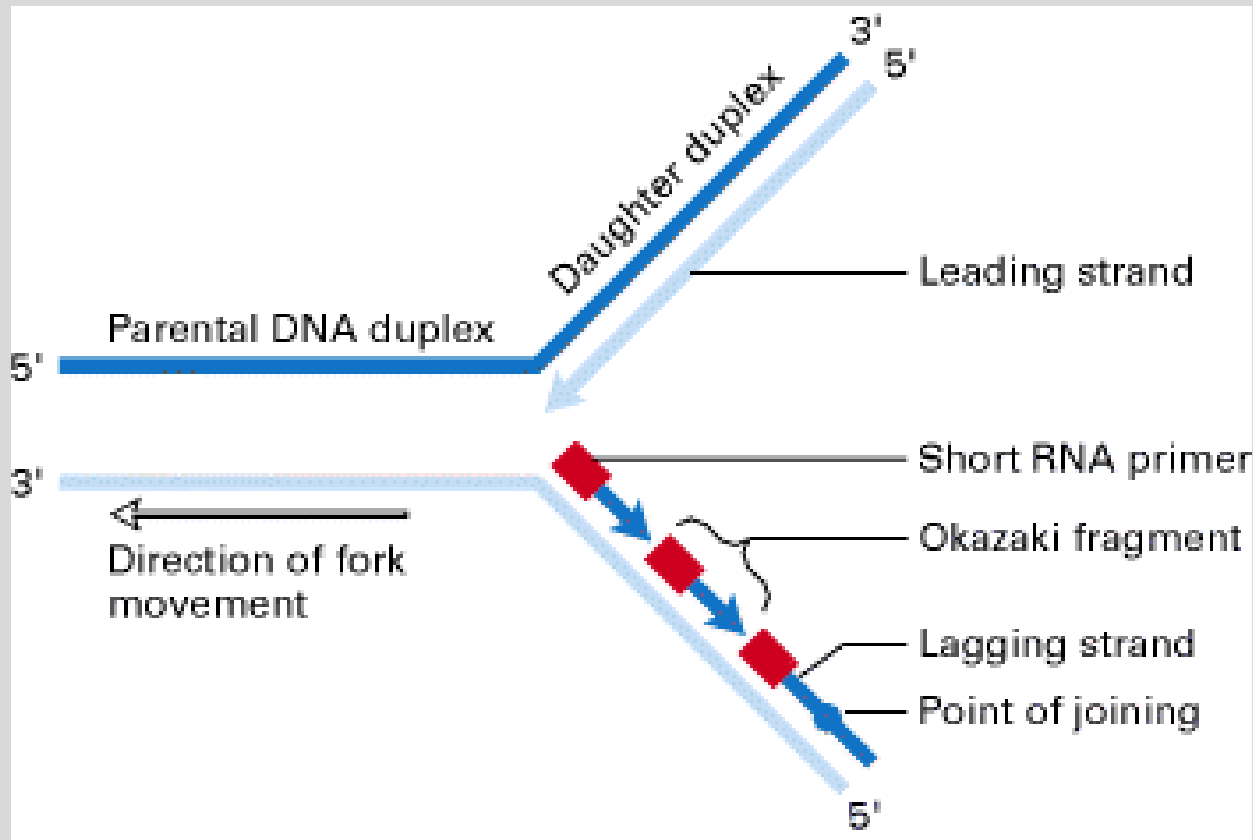
- 5' → 3' yönünde sentez yaparlar.
- Yeni bir nükleotidi zincire ekleyebilmeleri için mutlaka serbest 3' OH*** grubuna ihtiyaç duyarlar. Bu uç, 2. **RNA primeri*** tarafından sağlanır.



- DNA molekülü çift zincirli olduğundan replikasyonun gerçekleşebilmesi için mutlaka bu iki zincirin birbirinden ayrılması gerekir.
- Bunu gerçekleştiren enzim 3. **“HELİKAZ”** dır.



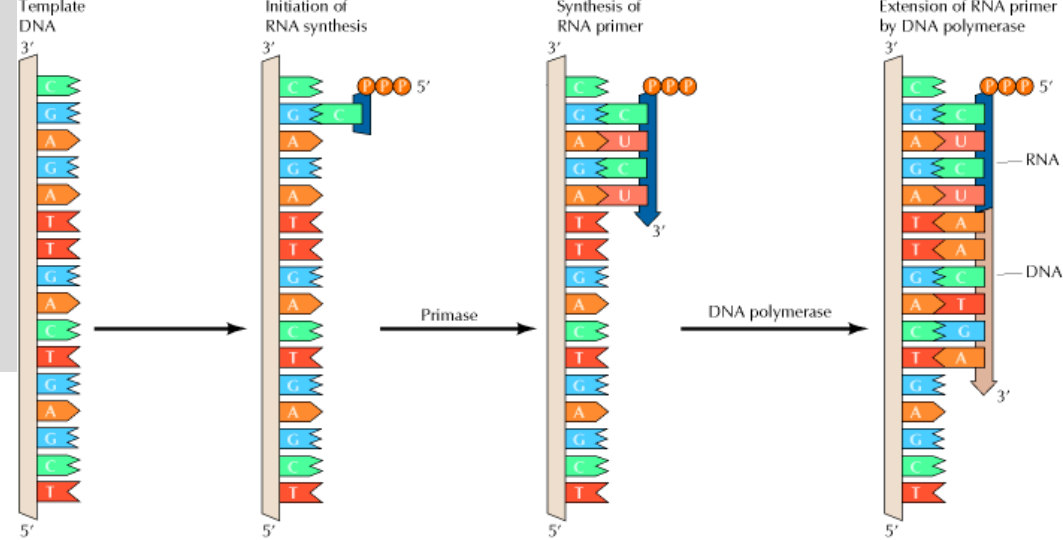
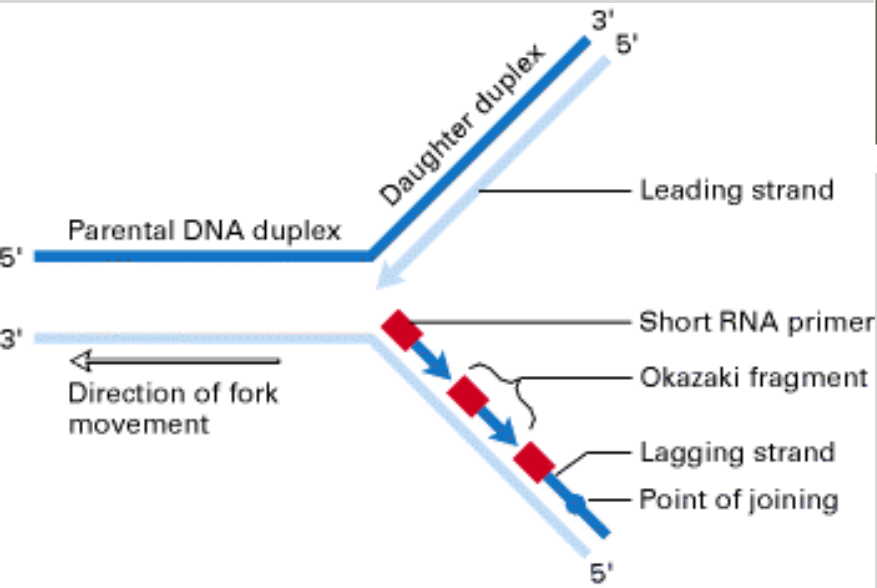
- DNA' nın helikaz tarafından açılması molekülün geri kalan kısmında heliksin sıkılaşmasına ve bu bölgede stresin artmasına neden olur.
- Sıkışan bu bölgenin gevşetilmesi için iş gören enzimler ise 4. **“Topoizomerazlar”** dır.



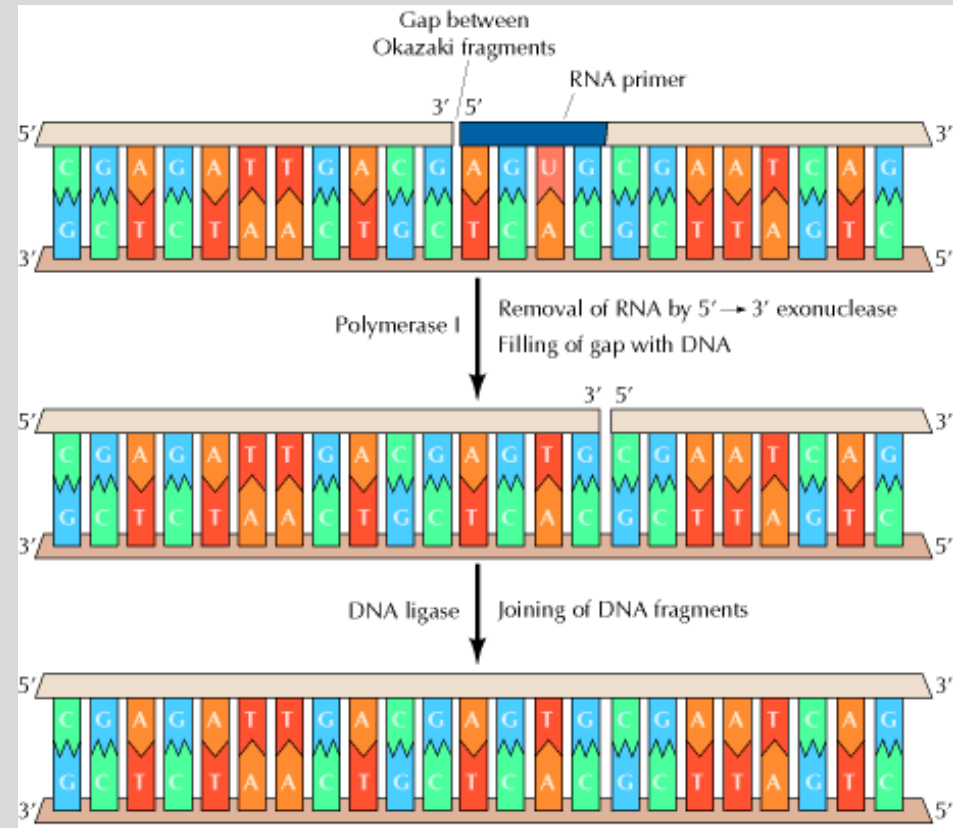
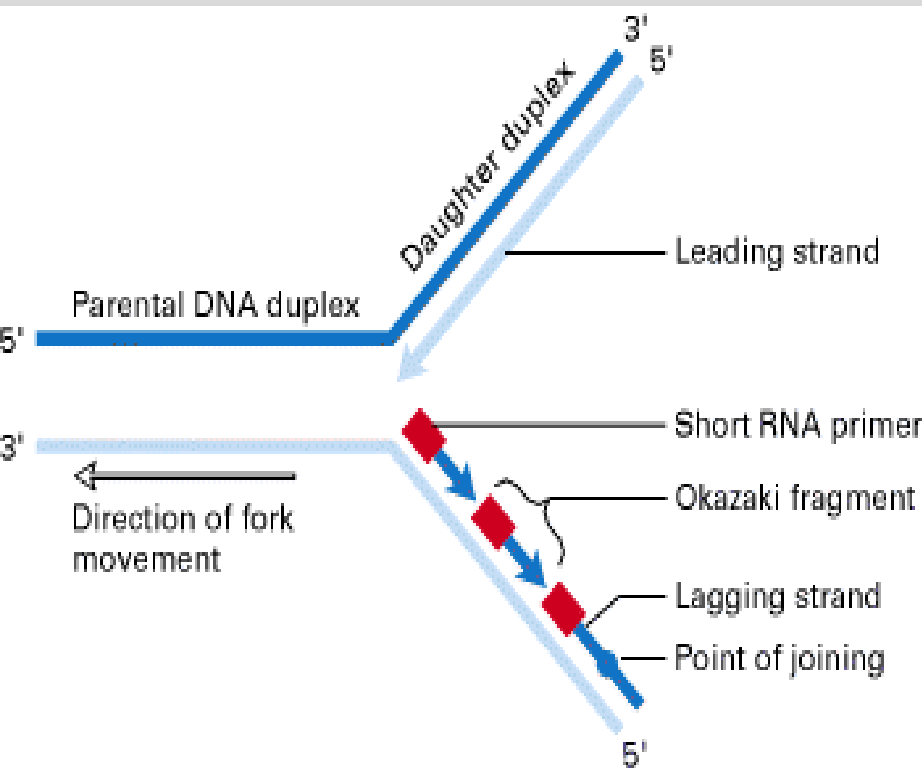
- Helikaz ve topoizomerazların iş görmesi sonucu oluşan özel DNA bölgesi “**replikasyon çatalı (replication fork)**” olarak adlandırılır.
- Ancak bu bölgede DNA polimeraz nükleotid eklemesini gerçekleştirebilir.
- Replikasyon çatalında açılan bölgede bulunan kalıp DNA'lar tek zincirlidir ve endonükleazlara karşı hassastır.
- Bu tek zincirli bölgeleri endonükleazlardan koruyan bu bölgelere bağlanan **5. SSB (single strand binding) proteinleri** dir.



- 1. DNA polimeraz
- 2. RNA primeri/serbest 3'OH
- 3. Helikaz
- 4. Topoizomeraz
- 5. SSB



- Replikasyon çatalı açıldığında DNA polimerazın sentez yapabilmesi için bir primere ihtiyacı vardır.
- Bu primer, **6. primaz** enzimi tarafından sentezlenen RNA primeridir.
- DNA molekülünde bir zincirin sentezi **sürekli** (leading) diğeri ise **kesiklidir** (lagging).



- Kesikli sentez sırasında her 1000 bazda bir RNA primeri sentezlenmek zorundadır. Her primer 5' → 3' yönünde uzatılır.
- Oluşan kesikli parçalara “Okazaki fragmanları” adı verilir.
- Replikasyon sona erdiğinde tüm RNA primerlerinin çıkartılması ve yerine DNA'nın sentezlenmesi gereklidir.
- RNA primerlerini çıkartan ve yerine DNA sentezleyen enzim DNA pol I' dir.
- Arada kalan boşluklar “7. DNA ligaz” enzimi ile bağlanır.

*****Replikasyon çatasında replikasyonda iş gören temel yapılar;**

- ****DNA helikaz**, DNA sarmalını çözen enzim
- ****Primaz**, DNA sentezinin başlayabilmesi için gerekli olan RNA primerlerini (RNA öncül molekül) sentezleyen enzim
- ****Primer**
- ****DNA Polimerazlar**, kalıp zincire komplementer yeni DNA zincirini sentezleyen enzim
- ****Tek zincire bağlanan (SSB) proteinler**, replikasyon çatasının sürekliliğini sağlayan ,tek DNA ipliğine bağlanarak katlanmayı önleyen proteinler
- ****4 tip nükleotid trifosfat (dATP, dCTP, dGTP, dTTP= deoksinükleotittrifosfat)**
- ****DNA kalıbı**
- ****Topoizomeraz** İki ipliğin açılması sırasında sıkışmayı önleyen enzim

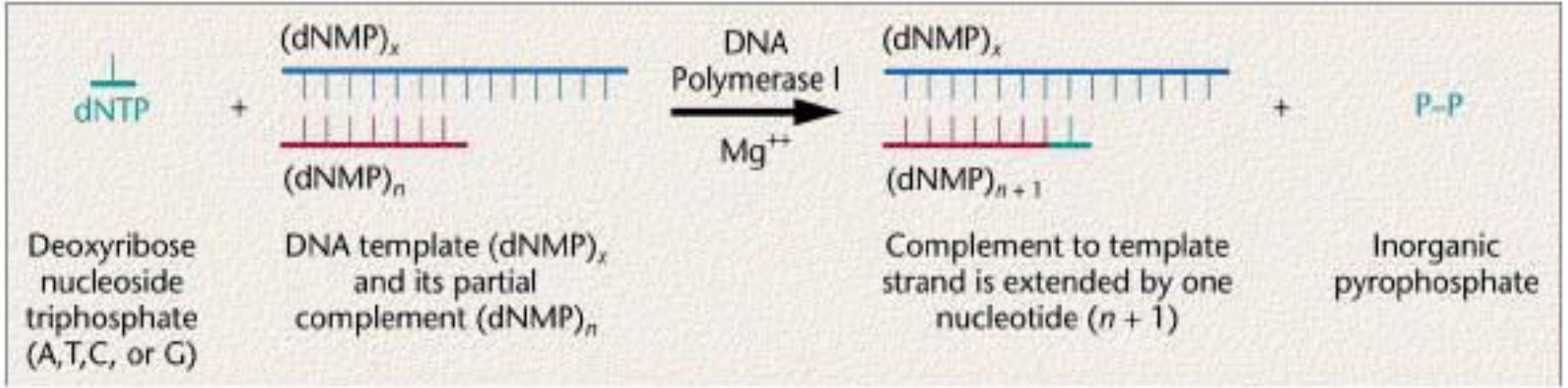
Prokaryotlarda Replikasyon

- 1957, Kornberg ve ark. E. coli'den in vitro olarak DNA sentezini yönlendiren bir enzim saflaştırmış ve DNA polimeraz I olarak isimlendirmiştir.

In vitro DNA sentezi için enzimin ihtiyaçları;

- 1. 4 tip nükleotid trifosfat (dATP, dCTP, dGTP, dTTP=dNTP)**
- 2. DNA kalıbı**

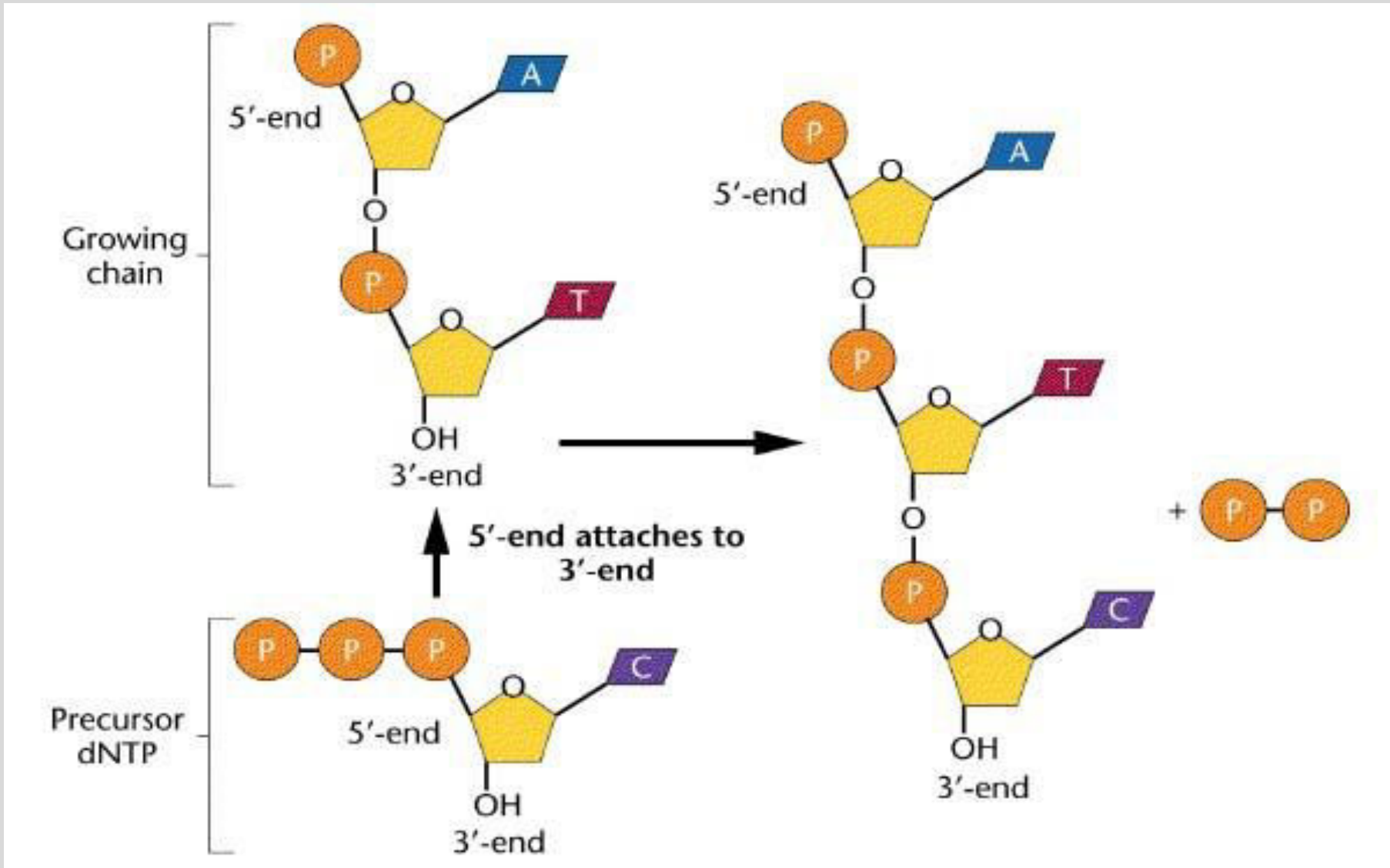
DNA polimeraz I'in katalizlediği kimyasal reaksiyonun Her basamağında dNTP'ler yapıya eklenir.



Uzayan DNA zincirine her bir nükleotidin katılım şekli DNA pol I'in özgüllüğüne bağlıdır.

Öncü dNTP'de d-ribozun 5' karbonuna bağlı fosfat grubu, ekleneceği d-ribozun 3'-OH grubuna kovalent bağla bağlanır. Böylece zincir uzaması 5'→3' yönünde devam eder.

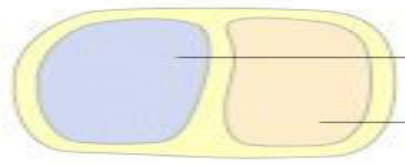
DNA ZİNCİRİNİN UZAMASI



***DNA pol I, II ve III

- DNA pol I, II ve III kalıptan DNA sentezi başlatamaz ve ancak **primer** adı verilen, var olan bir DNA zincirini kalıp boyunca uzatabilirler.
- **3'→5' ekzonükleaz aktivitesi:** enzimin polimerizasyonu tek yönde gerçekleştirme, bir an duraksayıp, geri dönerek ilave edilen nt'leri çıkarabilme özelliğidir.
- ***Pol I** → primeri uzaklaştırır ve oluşan boşlukları doldurur. **
- ***Pol II** → U.V hasarı nedeniyle oluşan mutasyonların tamirinde rol aldığı düşünülmektedir. **
- ***Pol III** → polimerizasyondan aslı sorumlu olan enzimdir. **

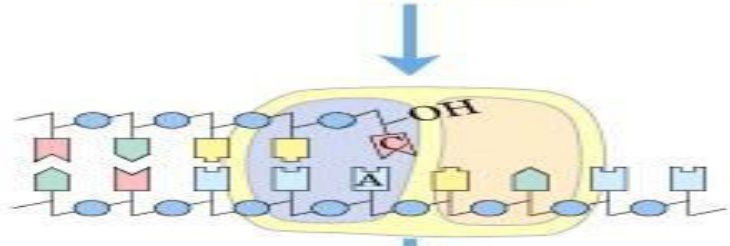
Properties	DNA Pol I	DNA Pol II	DNA Pol III
Initiation of chain synthesis	-	-	-
5'-3' polymerization	+	+	+
3'-5' exonuclease activity	+	+	+
5'-3' exonuclease activity	+	-	-
Molecules of polymerase/cell	400	?	15



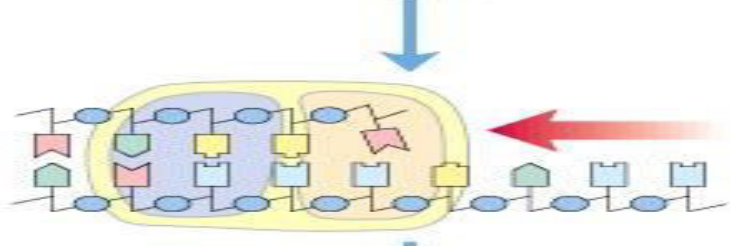
DNA polymerase I
 DNA polymerase active site
 3' → 5' (proofreading) exonuclease active site



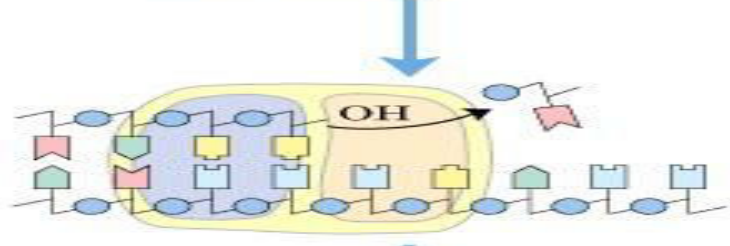
C is a rare tautomeric form of cytosine (C*) that pairs with A and is incorporated into the growing strand.



Before the polymerase moves on, the cytosine undergoes a tautomeric shift from C* to C. The new nucleotide is now mismatched.



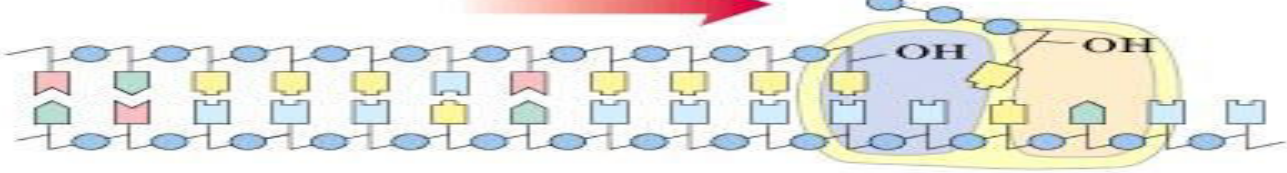
The mismatched 3'-OH end of the growing strand blocks further elongation. DNA polymerase slides back to position the mismatched base in the 3' → 5' exonuclease active site.



The mismatched nucleotide is removed.



DNA polymerase slides forward and resumes its polymerization activity.



*****Prokaryotik enzimler 3 çeşittir:**

Polymerase	Polymerization (5'-3')	Exonuclease (3'-5')	Exonuclease (5'-3')	#Copies
I	Yes	Yes	Yes	400
II	Yes	Yes	No	?
III	Yes	Yes	No	10-20

• **Polimeraz I & III 5'->3' yönünde replikasyon**

• **Polimeraz II rolü tam olarak bilinmiyor**

• **3' -> 5' exonükleaz aktivitesi = zincirin 3' ucundan nükleotidlerin uzaklaştırılması**

◦ **Önemli !! Proofreading yeteneği**

• **proofreading mekanizması olmadan hata oranı (mutasyon oranı) yaklaşık 1×10^{-6}**

• **Proofreading ile hata oranı yaklaşık 1×10^{-9}**

Ökaryotlarda Replikasyon

***6 farklı ökaryotik DNA polimeraz vardır

TABLE 12.5 Properties of Eukaryotic DNA Polymerases

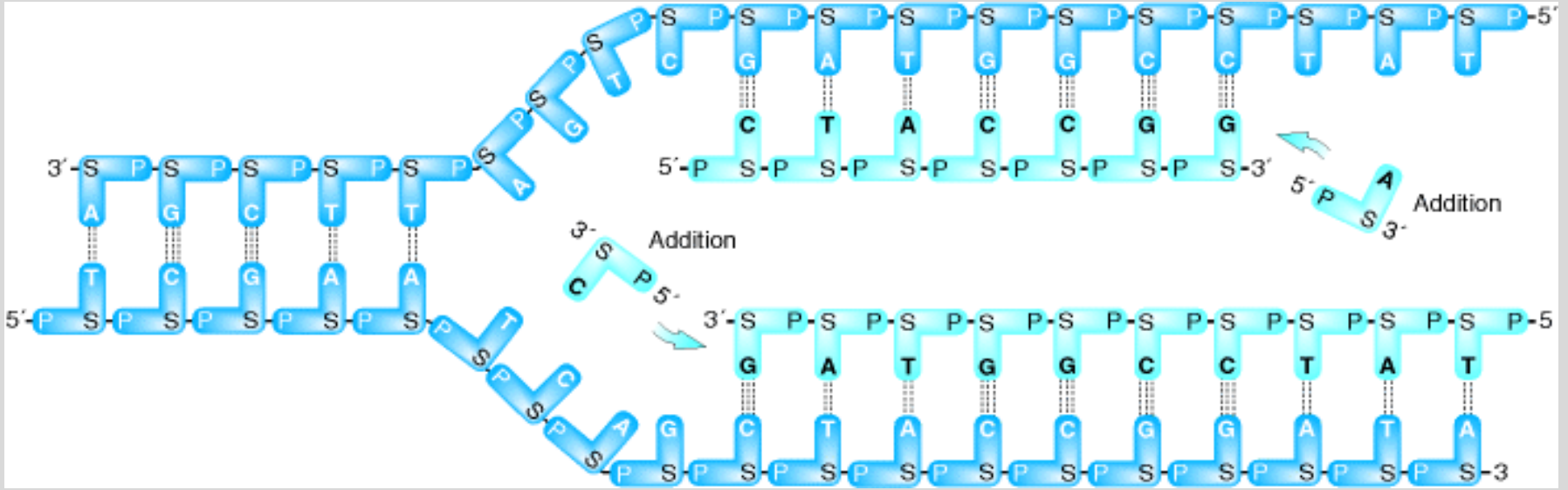
	Polymerase α	Polymerase β	Polymerase δ	Polymerase ϵ	Polymerase γ	Polymerase ζ
Location	Nucleus	Nucleus	Nucleus	Nucleus	Mitochondria	Nucleus
Mass of subunits (kDa)	180, 70, 58, 48	39	125, 53, 50	250, 55	125, 35	173, 29
3'-5' Exonuclease Activity	No	No	Yes	Yes	Yes	No
Essential to replication?	Yes	No	Yes	Yes	No	No

Ökaryotik DNA polimerazlar

- α , δ (delta) ve ϵ ökaryotik çekirdek DNA'sı replikasyonu için gereklidir.
- β ve ζ (zeta) DNA tamirinde rol aldığı düşünülüyor.
- DNA polimeraz γ (gama) mtDNA sentezinde rol alır.

• α : kesikli ipliğin sentezi.

• δ : devamlı ipliğin sentezi.



DNA replikasyon yönü (yeni sentezlenen zincirin yönü) 5' → 3' ucuna doğrudur.

DNA replikasyon yönü (yeni sentezlenen zincirin yönü) $5' \rightarrow 3'$ ucuna doğrudur.

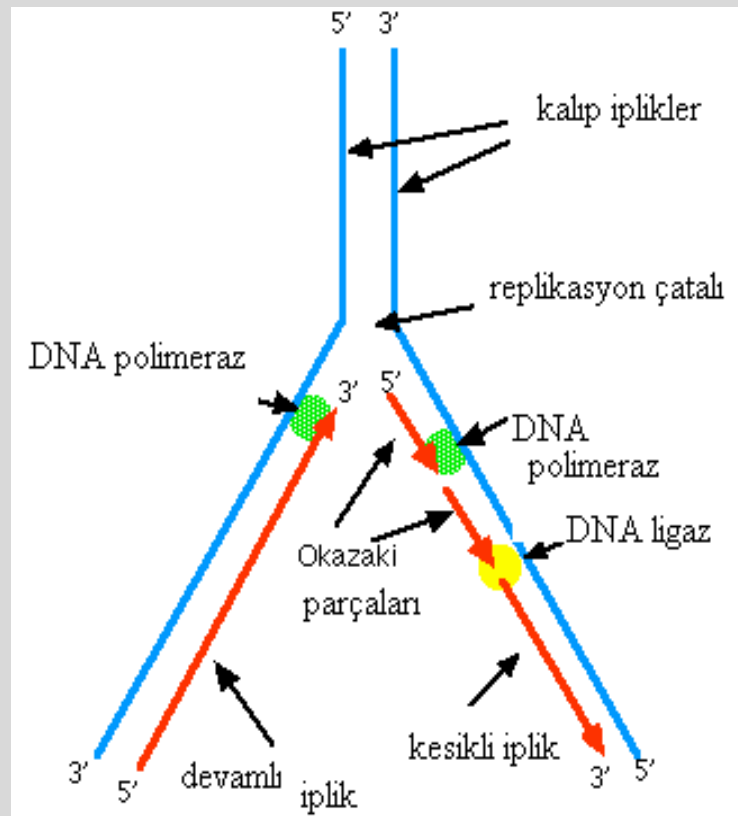
- DNA molekülü birbirize zıt yönde paralel iki zincir içerdiğinden (biri $5' \rightarrow 3'$ diğeri $3' \rightarrow 5'$) sentezin aynı anda ve devamlı olarak ilerlemesi mümkün değildir.
- Bu nedenle replikasyon çatallında iki farklı sentez tipi ortaya çıkar.

***1- Devamlı(Kesintisiz iplik (DNA) sentezi-Leading

($3' \rightarrow 5'$ kalıbına uygun sentez)

***2- Kesintili iplik (DNA) sentezi-Lagging?

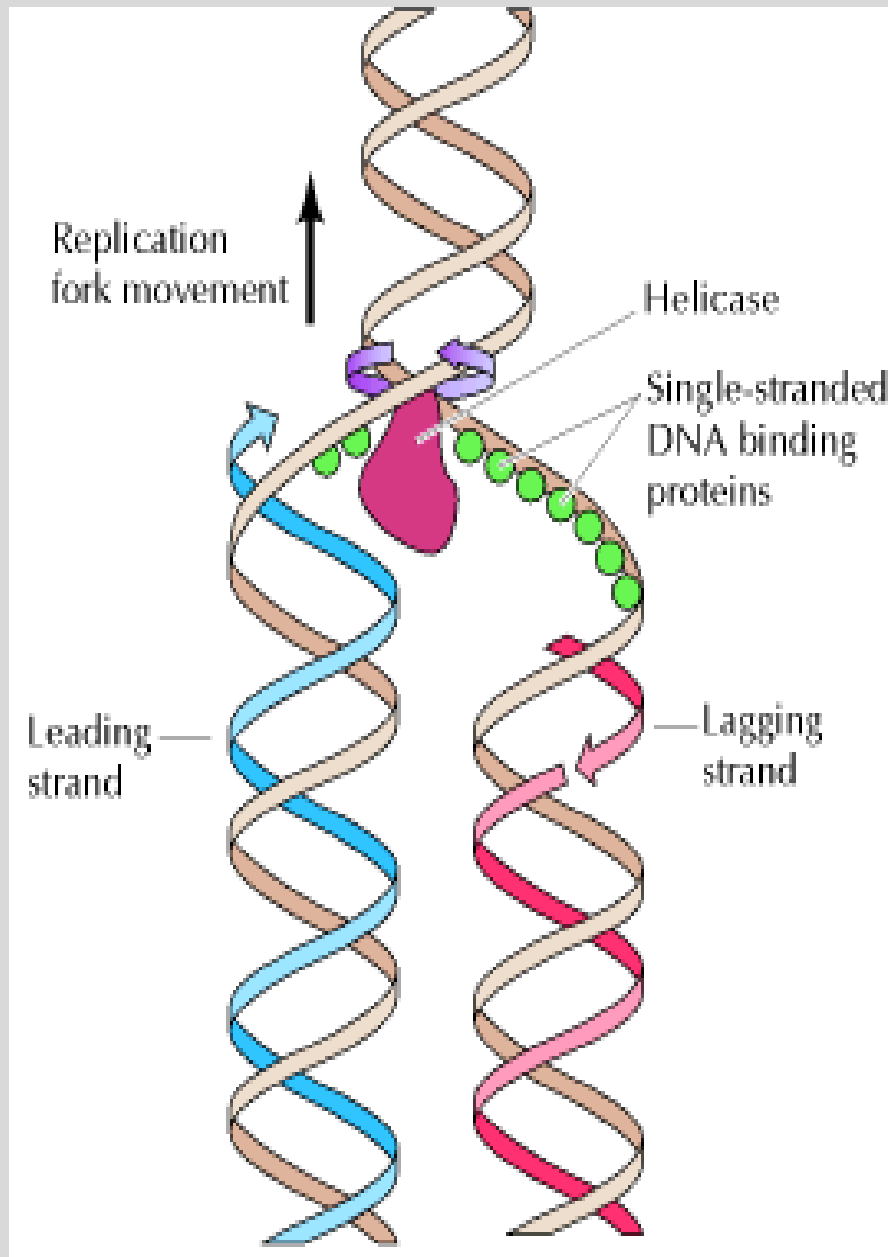
($5' \rightarrow 3'$ kalıbına göre yapılan sentez)

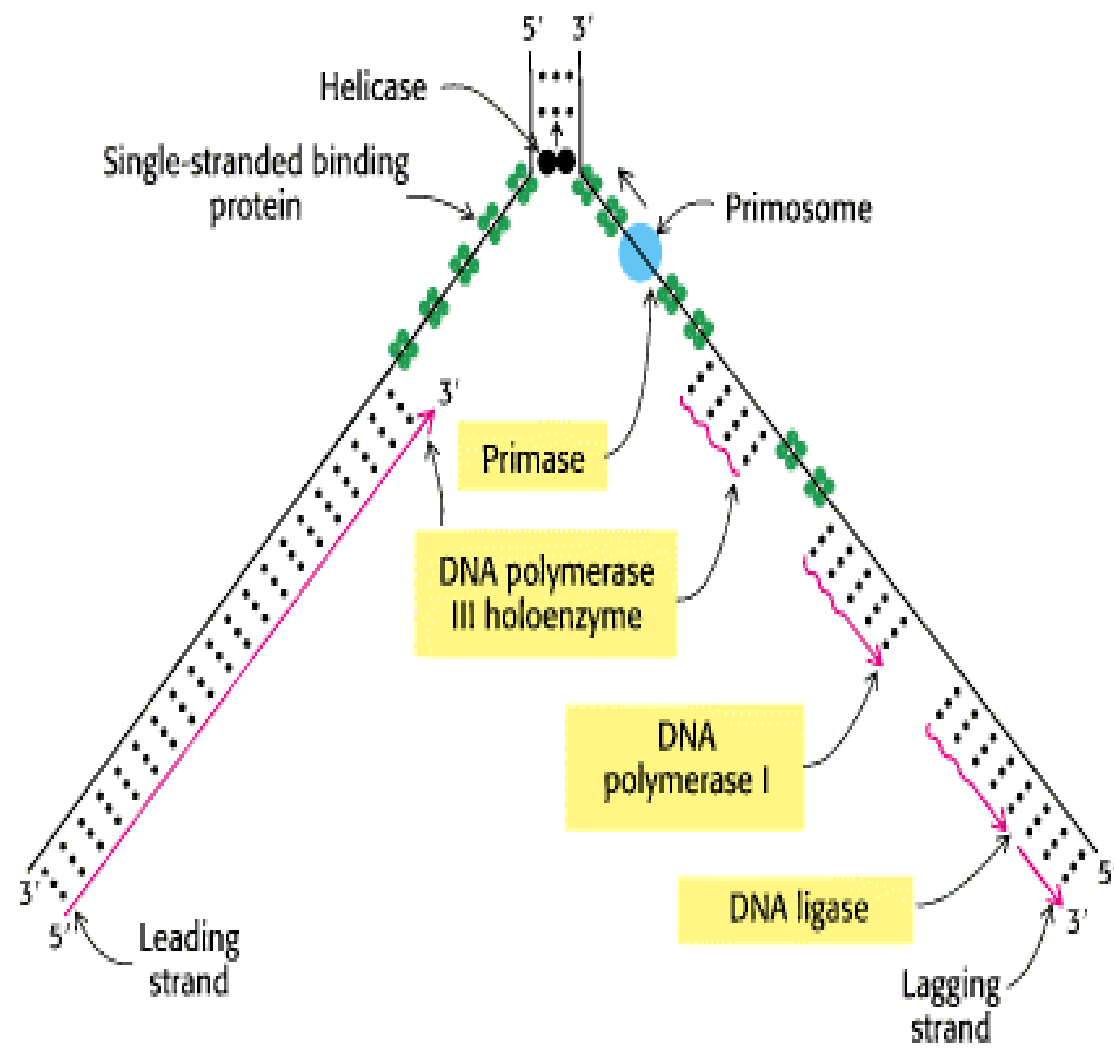


- Kesikli DNA zincirlerinin oluşumunu deneysel olarak gösteren Okazaki ve Ark.(1968) dan dolayı bunlara **Okazaki Parçaları*** adı verilmiştir.

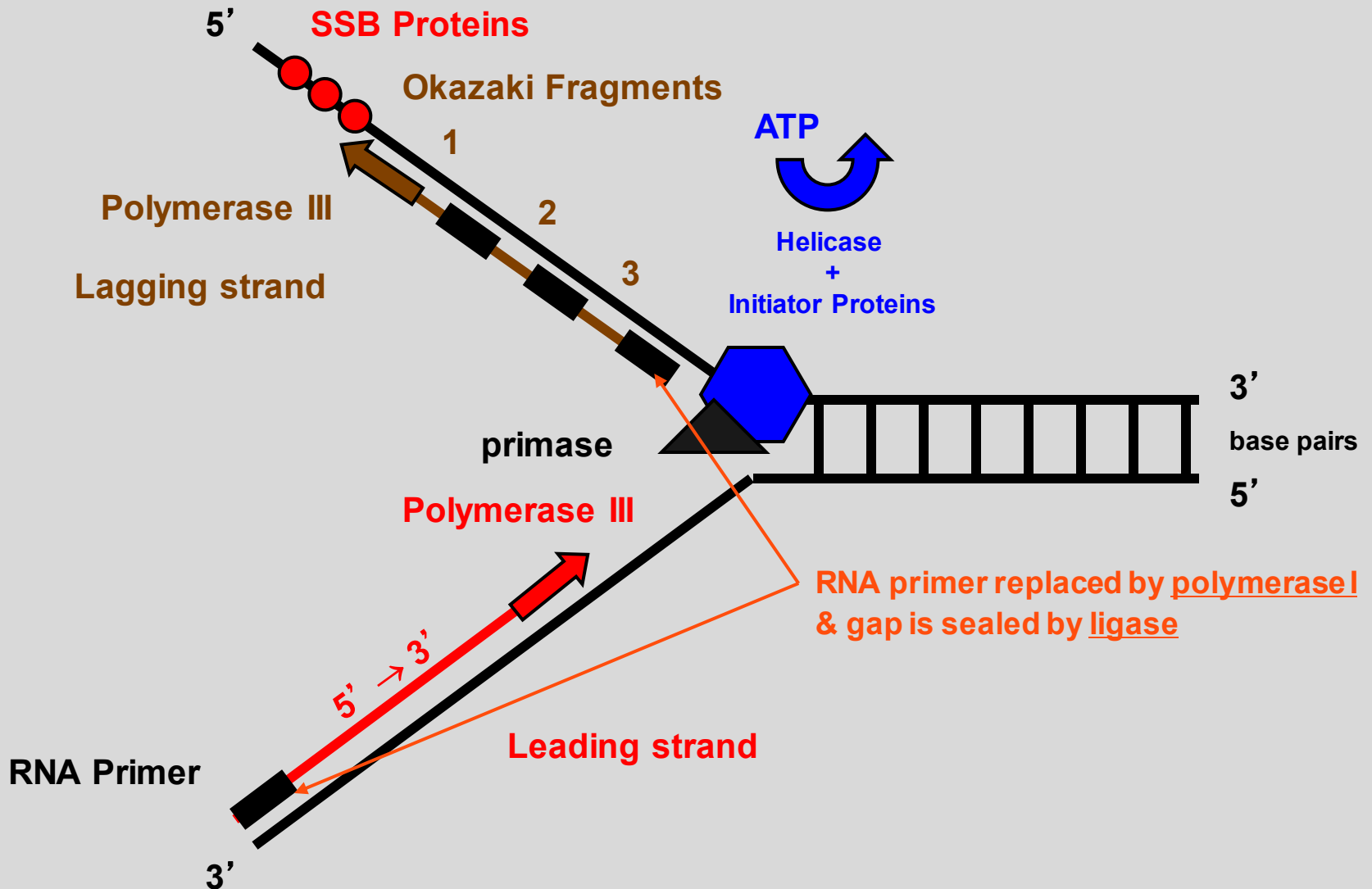
(ökaryotlarda 100-200 nukleotidlik parçalar.)

- Her bir Okazaki parçasının başlangıcında **RNA primerleri** bulunmaktadır.





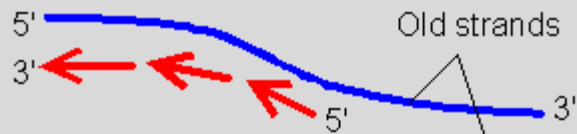
Supercoiled DNA relaxed by gyrase & unwound by helicase + proteins:



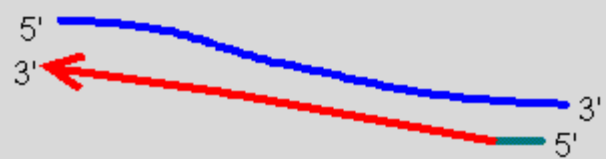
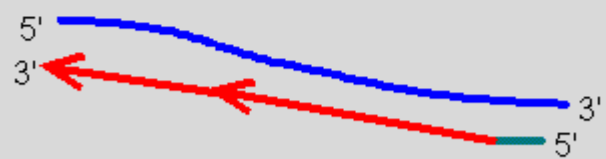
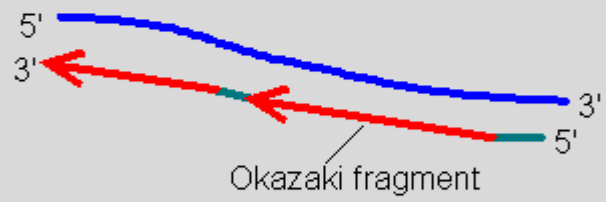
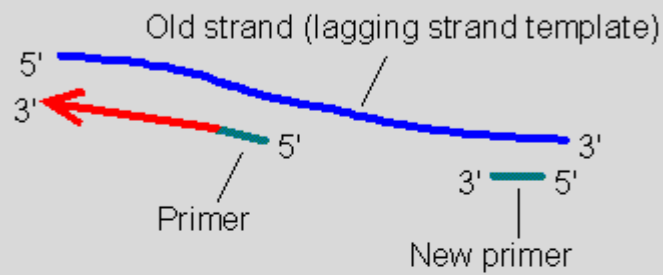
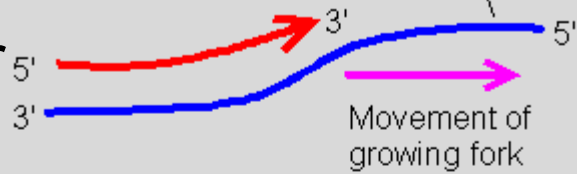
**DNA Replikasyonunda Topoizomerazlar

- Replikasyon çatalında ortaya çıkan Süperkıvrımların açılması-çözülmesinde iş görürler
- topoizomeraz I ; **Tip I** tek iplikli DNAyı keser
- topoizomeraz II ; **Tip II** çift iplikli DNAyı keser

Kesikli zincir



Devamlı zincir



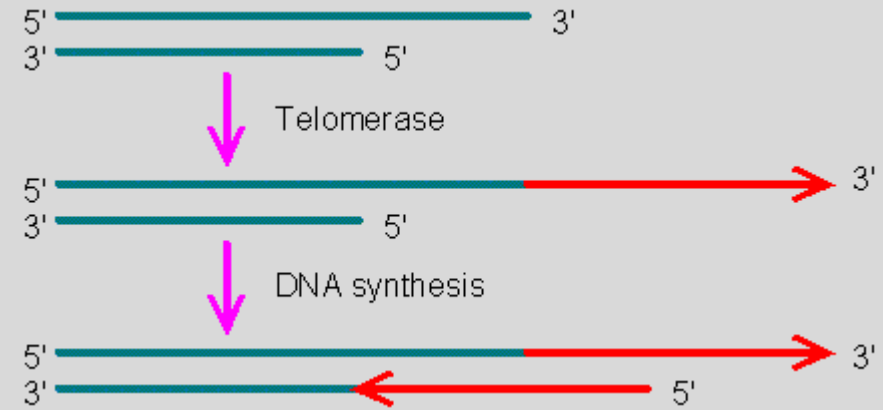
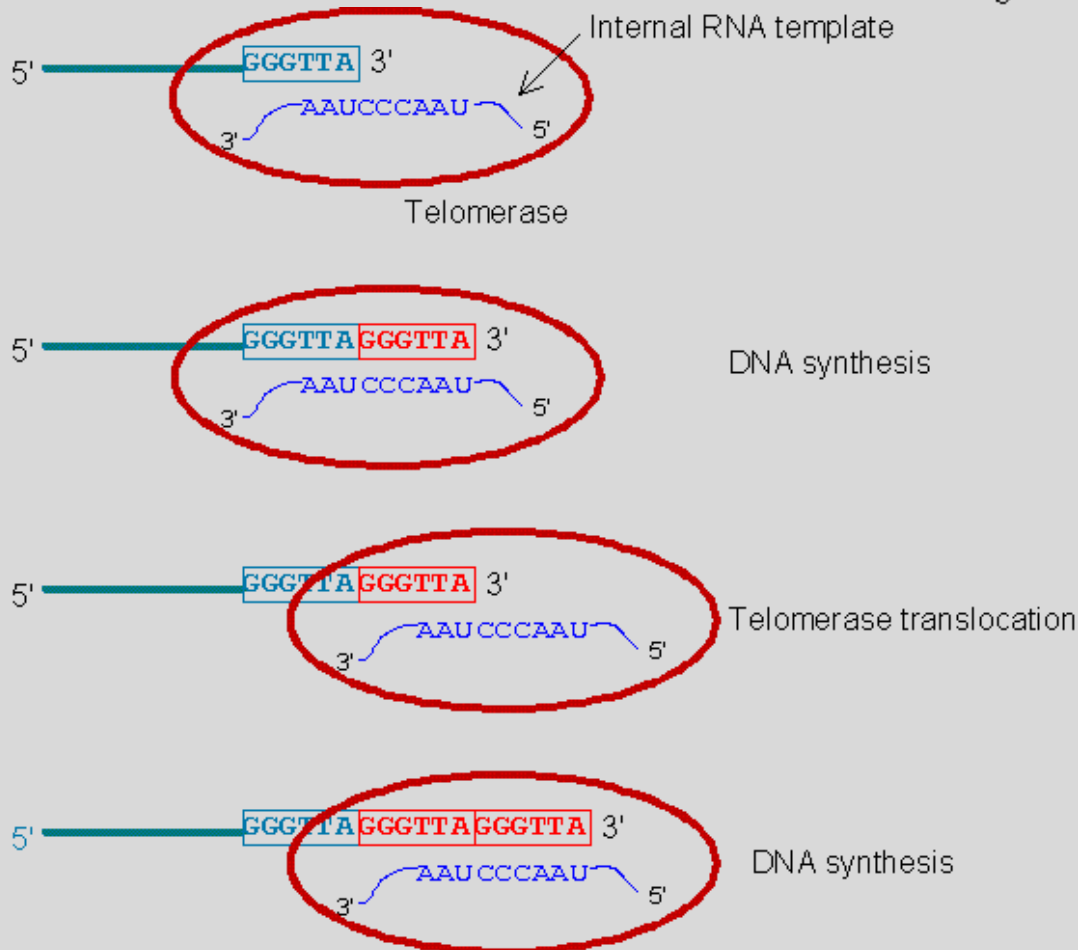
- Replikasyon ilerledikçe RNA primerleri kesilip çıkarılır.
- Ortaya çıkan boş alanlar DNA polimerazlar tarafından kalıp DNA ya uygun olarak sentezlenir.
- İki DNA ucu **ligaz** enzimi ile birleştirilerek bir bütün DNA ipliği oluşur.
-

- Ökaryotiklerde DNA molekülünün prokaryotlardan daha büyük olması ve histon proteinleri ile kromatin yapı oluşturmaları nedeniyle farklı sentez aşamaları gözlenir.

***Ökaryotlarda Kromozom uçlarının replikasyonu sorunludur!!!

- Ökaryotik kromozomlar, prokaryotik kromozomlardan farklı olarak **doğrusal** yapıdadır.
- Kromozomların ucu **telomer** olarak adlandırılan yapılar ile sonlanır.
- Normalde sentez sırasında 3'-OH grubuna nükleotid ilavesi yapılır.
- Kromozom ucunda, 3'-OH grubunu sağlayacak primer yoktur.
- Bu yüzden her DNA sentezi sonunda, kromozom RNA primeri kadar kısalacaktır.
- Bu problem **telomeraz** enzimi tarafından giderilir.

Replikasyon uç problemi Telomer-telomeraz



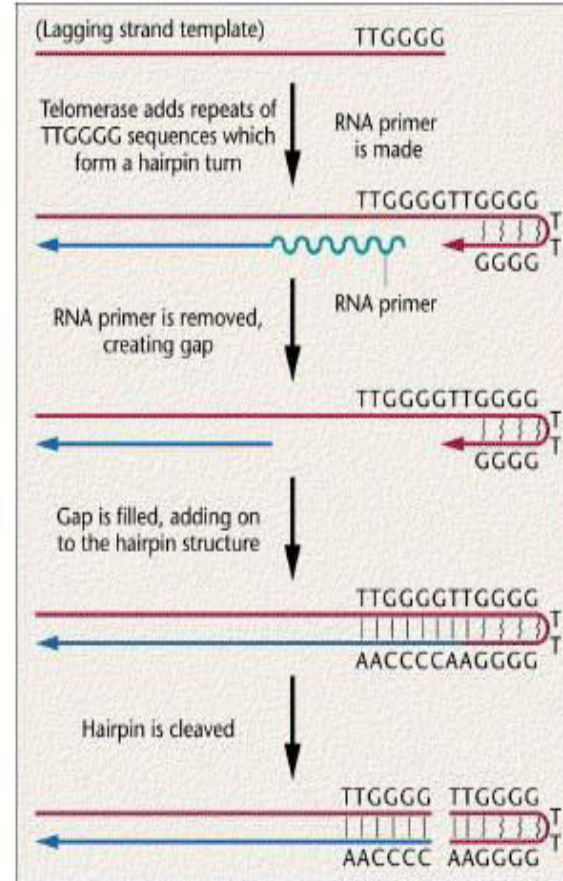
Çözüm: Telomer ve Telomeraz

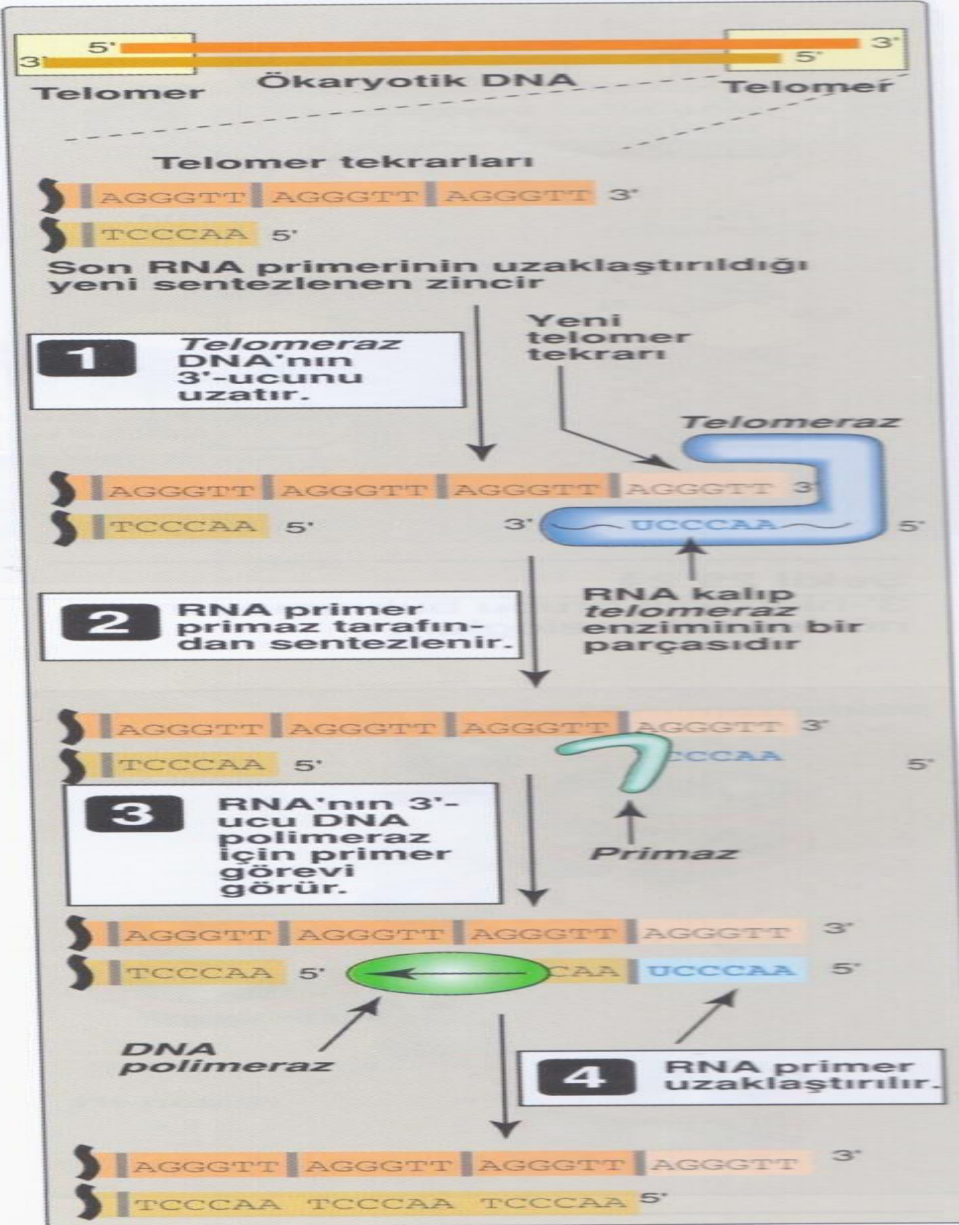
Telomerlerin çoğu 5'-TTGGG-3' dizisi ile sonlanmaktadır.

Telomeraz her replikasyonda telomerin ksalmasını önlemek için TTGGGG tekrar dizilerini kromozomun ucuna eklemektedir.

İlave edilen diziler "saç tokası" gibi kıvrılır ve karşı karşıya gelen G'ler arasında H bağı kurulur ve serbest 3'-OH grubu elde edilir.

DNA pol I boşluğu doldurur. Daha sonra saç tokası kırılır ve DNA kaybı engellenir.





Şekil 29.23 Telomerazın etki mekanizması.

ÖDEV: Mutasyonlar???

- Mutasyon nedir?
- Kaç tip mutasyon vardır?