

Moleküler Hücre Biyolojisi I

Hafta 4:

DNA, Kromozomlar ve Genomlar

Dr Arzu ATALAY

Hücrelerdeki kalıtsal bilgi bölünme ile nesilden nesile aktarılır

DNA'nın genetik madde olduğu deneysel olarak 1940larda gösterilmiştir

Bir DNA molekülü tamamlayıcı iki nükleotid zincirinden oluşur

Tamamlayıcı baz eşleşmesi baz çiftlerinin çift sarmal içinde enerji açısından en uygun düzende paketlenmelerine olanak verir:

Bazlar sadece kendilerini taşıyan iki polinükleotid zincirinin birbirine ters yönde (antiparalel) olması durumunda eşleşebilirler

DNA'nın her dönüşünde 10,4 nükleotid bulunur

DNA'nın yapısı kalıtım için bir mekanizma sağlar

Genetik kodun çözülmesi çift sarmalın keşfinden 10 yıllık süre almıştır. Bir organizmanın DNA'sındaki bilgilerin tümü genom olarak adlandırılır ve organizmanın her hangi bir zamanda sentezleyeceği bütün proteinler için gerekli bilgiye taşır. Tipik bir insan hücresi 2 metre DNA içerir.

Hücre her bölünmesinde yavru hücrelere aktarmak üzere genomunu kopyalamak zorundadır: DNA tıpkı yapımı

DNA ökaryotlarda hücre çekirdeğinin içindedir

Çekirdek zarfı iki zar içerir; biri ER zarıyla birleşir. İç ve dış zardaki lipit çift tabakalar çekirdek gözenekleri ile birbirine bağlıdır. Çekirdek laminası özel destek yapıları oluşturur.

Çekirdek zarı DNA üzerinde etkin olan birçok proteinin hücre içinde gereksinin duyulan yerde birikmesine olanak verir ve sitozol ve çekirdek enzimlerini ayırır

Ökaryot DNAsı kromozomlar halinde paketlenir

İnsan genomu (yaklaşık 3.2×10^9 nükleotid) 24 farklı kromozoma dağılmıştır

Her insan hücresi uçtan uca yaklaşık 2 mt DNA içerir, oysa çekirdeğin çapı sadece 6 mikrondur. Orantısal olarak 40 km uzunluğundaki çok ince bir ipliğin bir tenis topu içine sığdırılmasına denk gelmektedir.

Benzeşik kromozom (homolog kromozom) biri anneden diğeri babadan gelir. İstisnalar hariç her insan hücresi 46 adet kromozom içerir.

İnsan kromozomlarının bant şekilleri

Kromozomlar tam yoğunlaşmadıkları erken mitoz evresinde Giemsa ile boyanmıştır. Yatay yeşil çizgi sentromer konumunu, kromozom 13,14,15,21 ve 22 üzerindeki işaretler ise büyük ribozom RNalarını kodlayan genlerin konumlarını belirtmektedir.

Kromozom boyama tekniği daha hassas ve yüksek çözünürlükte iken giemsa boyamasını yapmak daha kolaydır.

Kromozomlar uzun gen dizgileri içerir

Genelde organizma ne kadar karmaşıksa genomu da o kadar büyük olur, ancak gereksiz dizilerin miktarlarındaki farklılıklar nedeni ile bu ilişki sistematik değildir. İnsan genomu mayadan 200 kat büyük, ancak bitki ve amfibilerinkinden 200 kat küçüktür.

16 kromozomu bulunan mayada 11. kromozomdan bir parça

Genomun kromozomlara paylaşılması bir ökaryotik türden diğerine farklılık gösterir:

İnsanda 46 , geyikte 6, sazanda 100den fazla kromozom vardır.

Kromozomlar bir hücrenin yaşamı boyunca farklı durumlarda bulunur

Doğrusal kromozom oluşturan her DNA molekülü bir sentromer, iki telomer ve tıpkıyapım başlangıç noktaları içermelidir.

Kromozomlarda DNA molekülleri yüksek derecede yoğunlaşmıştır

İnsan 22. kromozomu 48 milyon nükleotid çifti kapsar.

Bir uçtan diğerine gerildiğinde DNAsı yaklaşık 1.5 cm'ye kadar uzayabilir

Mitotik kromozom halinde iken uzunluğu sadece 2 mikrondur, yani uçtan uca 100000 kat kısalarak yoğunlaşmaktadır.

Mitotik kromozomdan daha az yoğunlaştığı halde interfaz kromozomundaki DNA da 1000 kat yoğunlaşmış olarak paketlenir.

Kromozom yapısı dinamikdir!

(Hücre döngüsü, tıpkıyapım, DNA onarımı, gen ifadesi....)

Nükleozomlar ökaryotik kromozom yapısının temel birimleridir

Kromozomal proteinler ikiye ayrılır:

1)Histonlar

2)Histon olmayan kromozom proteinleri

Kromozomal protein+DNA=kromatin

Nükleozom temel kromatin yapısıdır, 30 nm çapındaki bu lif deneysel olarak açıldığında sicim üzerinde dizilmiş boncuklar gibi görünür . Bu yapı kromozom paketlenmesinin ilk aşamasıdır.

Nükleozomlar ökaryotik kromozom yapısının temel birimleridir

Nükleozom nüve taneciğinin yapısı DNA'nın nasıl paketleniğini gösterir

Nükleozom nüve taneciği yapısı X ışın kristalografisi ile 1997de tanımlanmıştır

Nüve histonların ayrıntılı yapısı

Bütün nüve histonlar lizin ve argininden zengindir, bunların artı yükleri eksi yüklü DNA omurgasını nötrleştirir

H2A ve H2B “el sıkma” olarak bilinen bir etkileşimle dimer oluşturur.

Amino uçlardaki uzun amino asit kuyrukları kromatin yapısının birçok yönünü denetleyen kovalan değişikliklere maruz kalır

Histon oktamerinin yapılanması

Nükleozomların DNA üzerinde yerleşimi DNA'nın esnekliği ve DNA'ya bağlanan diğer proteinler tarafından belirlenir

Nükleozomlar dinamiktir, son derece hızlı açılıp kapanarak DNA dizisi diğer düzenleyici proteinler için ulaşılabilir olur

ATP bağımlı kromatin yeniden biçimlendirme düzenekleri nükleozom yapısını değiştirir

ATP-bağımlı kromatin düzenleyici komplekslerle nükleozomlar uzaklaştırılabilir veya değiştirilebilir

Nükleozomlar sıkı bir kromatin lifi halinde paketlenmektedir (zigzag modeli)

Nükleozomlar sıkı bir kromatin lifi halinde paketlenmektedir (solenoid model)

Histon kuyruklarının 30 nm'lik lif oluşumundaki rolü hakkında tahmini model

H1 linker histon 30 nm fiber stabilitesi için gereklidir

KROMATİN YAPISININ DÜZENLENMESİ: Genetik-epigenetik kalıtım

Heterokromatin dinamiktir, bir bölgeye yayılır, daha sonra o alandan çekilebilir.

Kromatin durumu hücreden yavrulara kalıtlanabilir

Nüve histonlar pek çok bölgelerinden kovalan olarak modifiye edilebilirler

Farklı histon asetil transferazlar (HAT), asetil grubu eklerler, deasetilazlar bu grubu (HDAC) uzaklaştırır.

Metil transferazlar, demetilazlar vb.....

Heterokromatin son derece düzenlidir ve gen ifadesine dirençlidir

Ökaryotik hücrelerin interfaz çekirdeklerinde iki tip kromatin yapısı ayırt edilir: Yüksek düzeyde yoğun olan heterokromatin ve geri kalanı oluşturan daha az yoğun olan ökromatin.

Ökromatin 30 nm lifler ve ilmekli alanlardan oluşur.

Heterokromatin ise ilave proteinler içerir, daha sıkı düzenlenme gösterir.

Tipik bir memeli hücrenin genomunun yaklaşık %10u heterokromatin şeklinde paketlenmiştir. Çoğunlukla sentromer ve telomer bölgelerinde daha sıktır.

Heterokromatin şeklinde katlanan DNA çoğunlukla gen içermez, az sayıda gen de sıkı katlanmadan dolayı gen ifadesine dirençlidir.

Heterokromatin bölgeleri telomer ve sentromerlerin uygun işlev görmesini, genomun hareketli “parazit” DNA öğelerinden korunmasını sağlar

Bazı genler ifade olmak için heterokromatin bölgesinde yer almak zorundadır

Nükleozom yapısındaki histonların N-terminalinde yer alan kuyruk yapısı (ilk 30 aa)

**N-terminal yapılarının kovalan modifikasyonları:
Metilasyon, fosforilasyon, asetilasyon, ubikitinasyon**

**Kovalent modifikasyonlar ve bazı histon varyantları spesifik biyolojik görevlere işaret eder
Nükleozom yapısındaki farklı işaretler farklı proteinler tarafından tanınır**

(Mono-di-tri-metillenmiş lizini taşıyan histon H3 farklı histon kodlarına işaret eder, bu noktaya farklı küçük protein modülleri bağlanır)

Histon kodunun “kod okuyucu kompleks” tarafından tanınır

Histon kodu farklı anlamlara gelmektedir

Kod okuyucu-yazıcı kompleks kromatin değişikliklerini kromozom boyunca yayabilir

Kod okuyucu-yazıcı kompleks kromatin değişikliklerini kromozom boyunca yayabilir

Barrier proteinler birkaç yol ile heterokromatin oluşumuna etki edebilirler

(A) Nükleer pora bağlanarak

(B) Nükleozoma sıkı bağlanarak

(C) HDACı bölgeye getirerek, histon kodlarını silerek

CENP-A, H3 histon ile yer değiştirerek sentromer yapısında yer alır

İnsan sentromerlerini oluşturan kromatin organizasyon ve fonksiyonu

Sentromerik heterokromatin aynen kalıtlanabilir

Kromozom replikasyonu sırasında DNA paketlenmesi aynı şekilde kalıtlanmaktadır

Hücreler pek çok farklı kromatin yapılarını farklı işlevlerde kullanır:

HP1 içeren heterokromatin klasik yapıda bulunur. Önemli gelişimsel genleri taşıyan yoğunlaşmış kromatin ise polycomb proteinleri tarafından regüle edilir.

Gelişimsel genler insan genomunun %2sini oluşturur ve her ihtiyaç olduğunda gen ifadesi açılır.

Daha başka formlar ise daha kısa süreli oluşur, biyolojik fonksiyonların düzenlenmesinde rol oynarlar

Kromozomların genel yapısı

Fırçamsı kromozomlar gevşek kromatin ilmekleri içerir (Amfibi)

Drosophila tükürük bezindeki politen kromozomda yer alan farklı histon modifikasyonları

(A) Dimetil lizin 9 pericentric heterokromatin işaretidir

(B) Asetillenmiş Lys9 aktif genlere işaret eder, kromozom bantlarında yer alır ama kromosentromerde sinyal yoktur

Kromatin farklı şekilde hareket ederek gen ifadesini değiştirebilir: Tek interfaz çekirdeğinde her bir kromozom kendi alanına sahiptir

**Kromatin intranükleer bölgede daha aktiftir
Mitotik kromozom kromatinin en yoğun halinden meydana gelmektedir**

Condensin proteinler Smc dimerlerinden oluşur