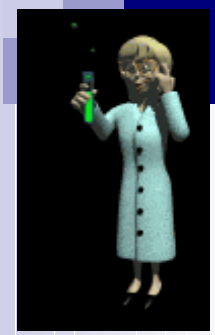
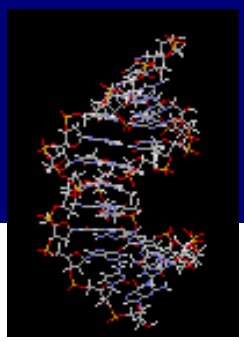
MOLEKÜLER GENETİĞE GİRİŞ

DOÇ. DR. MEHMET KARACA







- Genetik: Kalıtım bilimi olup geleneksel veya moleküler yöntemler kullanarak ebevyinler ile yavruları arasındaki, veya kalıtım materyali temelinde canlılar arasındaki benzerlik ve farklılıkları, kalıtım materyalinin neden olduğu her türlü metabolik faaliyetin neden ve sonuçlarını inceleyen bilim dalıdır.
- Temel Genetik, Moleküler Genetik, İnsan Genetiği, Hayvan Genetiği, Böcek Genetiği, Balık Genetiği, Bitki Genetiği vs.

ÖRNEK SORULAR

- Aşağıdaki hücre organellerinden hangisinde protein sentezi yapılmaktadır?
- Golgi, Mitokondri, Ribozom, Nükleus

- Aşağıdaki hücre organellerinden hangisi hücreye giren yabancı maddelerin uzaklaştırılmasında görevli organeldir?
- Lizozom, Vakuol, Sitozol, Kromatin

- Aşağıdakilerden hangisi bitki hücresi içerisinde depo edilmez?
- Pentozanlar, Proteinler, Yağlar, Glikojen

Aşağıdakilerden hangisi virüslerin sınıflandırılmasında kullanılmaz

- Kalkanın (envelope) varlığı yada yokluğu
- Kapsit şekli
- Nükleik asit tipi
- Konukçu spektrumu
- Metabolik reaksiyonların incelenmesi

Aşağıdakilerden hangisi plazmiti en iyi tanımlar

Kromozomda bir gen parçası

Bakteriyofajın genomu

Bakteri ribozom parçası

Küçük genellikle halka şeklinde ekstrakromozomal genom

Viral Kapsitler için aşağıdakilerden hangisi doğrudur

- Viral nükleik asiti sarar ve korur
- Herzaman polihedral şekilli
- Bakteri hücresine giremez ancak DNA injekte edilir
- Ökaryotik hücrelere girebilir
- Kapsomerlerden oluşur
- Yukarıdakilerden hepsi doğrudur

Aşağıdakilerden hangisi virüsler için doğru değildir

- Zorunlu hücre içi mikroorganizmalardır
- Elektron mikroskobuyla görülebilirler
- Sadece hücre içersinde çoğalabilirler
- Antibiyotiklerle öldürülebilir
- Gerçek bir hücre yapısı yoktur

- Yeşil sebzeleri nasıl sterilize edersiniz
  - Otoklavlama ile
  - Fenol ile
  - Formaldehit ile
  - Fırınlama ile
  - İyonlama ışınları ile
  - Mikrodalga fırın ile
- DOĞRU YANLIŞ SORULARI
- Pironlar RNA virüsleridir
- Pironlar DNA virusleridir
- Pironlar DNA ve RNA içermeyen protein patojenlerdir
- Germisit mikropları öldürür
- Virosit virüsleri öldürür
- Bakterisit bakterileri öldürür

Bulaşıcı hepatit aşağıdaki hangi virüsten oluşur

- Hepatitis A virüsü
- Hepatitis B virüsü
- Hepatitis C virüsü
- Hepatitis E virüsü

Telomeraz enzimi için aşağıdakilerden hangisi doğrudur

- RNA sentezler
- Doğrusal DNA moleküllerinin uç kısımlarını sentezlenmesine göreve alır
- Viral genomlarını sentezler
- Bakteri genomunu sentezler
- Mitokondri genomunu sentezler

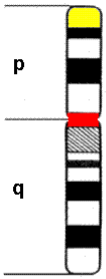
- Aşağıdakilerden hangisi ökaryotik somatik hücrelerinde bulunmaz?
- Nükleik asitler, Cinsiyet kromozomu, Kloroplast, Plazmit

- Endospermde kaç set (n) kromozom bulunur?
- 1, 2, 3, 4

- Hücre bölünmesi sırasında iğ iplikçiklerine bağlanan kromozom bölgesine ne denir?
- Sentromer, Satellit, Kromatin, Kromatid

Bir kromozomun uzun koluna ne ad verilir?

- p kolu
- q kolu
- Satellit DNA
- Telomer



Aşağıdakilerden hangisi kromozomlarda yapısa a neden olmaz?

- Translokasyon
- Delesyon
- Duplikasyon
- Nokta mutasyonu

Aşağıdakilerden hangisi otozomal kromozomudur?

- X
- Y
- X ve Y
- Hiçbiri

Aşağıdakilerden hangisi hemizigot durumunu gösterir?

- XX
- AA
- XY
- Hiçbiri

PCR nerelerde kullanılmaz?

- Genetiksel bir hastalık tanısında
- Polen çekici renk tayininde
- DNA çoğaltılmasında
- Klonlama çalışmalarında

Aşağıdaki ifadelerden hangisi Prob için doğrudur?

- Etiketlenmiş DNA parçası olabilir
- Etiketlenmiş RNA parçası olabilir
- Etiketlenmiş amino asit parçası olabilir
- Hepsi

Aşağıdaki hücrelerden hangisinde 2 adet BARR BODY vardır?

- XY, XX, XYY, XXX

DNA'daki genetik bilginin RNA'ya dönüştürülmesi işlemine ne denir?

- Translokasyon, Transkripsiyon
- Translasyon, Transferasyon

DNA'daki genetik bilginin RNA aracılığıyla amino asit'e dönüştürülmesi işlemine ne denir?

- Translokasyon, Translasyon
- Transferasyon, Transkripsiyon

Bir DNA molekülünde gen parçacıklarının arasında bulunan ve proteine dönüştürülemeyen bölgeye verilen ad nedir?

- Ekson
- İntein
- İntron
- Yalancı Gen

DNA molekülünde bulunan ve proteine dönüştürülebilen bölgeye verilen ad nedir?

- Eksoin
- Ekson
- İntron
- Yabancı DNA

Aşağıdakilerden hangisi RNA'nın yapısında bulunur?

- Urasil
- Fosfodiester bağı
- N, C, H, ve O
- Hepsi

Aşağıdakilerden hangisi DNA'nın yapısında bulunmaz?

- Adenin bazı
- Timin bazı
- Fosfodiester bağı
- Peptit bağı

Bir DNA molekülünü uç bölgelerinden kesebilen enzimlere ne isim verilir?

- Endonükleaz
- Midonükleaz
- Ligaz
- Eksonükleaz

Aşağıdakilerden hangisinde eşeysiz üreme görülebilir?

- Bazı Kuşlar
- Bazı Böcekler
- Bazı Funguslar
- Bazı Yılanlar

Aşağıdakilerden hangisi bir kromozomda bulunabilir?

- Telomer
- Sentromer
- Replikasyon orijinleri
- Yukarıdakilerden hepsi

Aminoasitleri birbirine bağlayan bağa ne isim verilir?

- Glikozitik bağı, Peptidaz bağı, Peptid bağı, Ester bağl

Aşağıdakilerden hangisi insan vücudunda sindirilemez ancak bazı mikroorganizmalar tarafından kullanılabilir?

- Nişasta, Glikoz, Maltoz, Seluloz

Temel amino asit sayısı nedir?

- 10, 20, 30, 40

Moleküler Biyoloji

19 yüzyılın ikinci yarısında doğan moleküler biyoloji bilimi yaşamsal faaliyetlerin moleküler temellerini, üreme ve gen ekspresyonunu, gen yapısını ve fonksiyonlarını moleküler temelde inceler.

- **Moleküler biyoloji**, canlılardaki olayları moleküler seviyede araştıran biyoloji bilim dalıdır.
- Moleküler biyoloji son yıllarda önem kazanan genetik, biyokimya ve biyofizik gibi bilim dalların gelişmesiyle ortaya çıktmıştır.
- Canlı organizmada hayati önemi fevkalade çok olan nükleik asitler, proteinler ve enzimlerin yapılarının tamamen aydınlatılması moleküler biyolojinin ilgi alanıdır.
- Bu amaçla X ışınları difraksiyonu ve elektron mikroskobu gibi ileri tekniklerden faydalanılır.
- Moleküler biyoloji ayrıca genlerle ilgili olayların moleküler seviyedeki incelemesini de yapar.
- Bu amaçla araştırmacılar genlerin kromozomlar üzerindeki yerini ve bu genlerin canlılardaki rolünü inceler

- **1865 Gregor Mendel**
- **(papz degil öğretmendir gerçekte)**



Mendel: Genetiğin Kurucusu

■1869 Johann Friedrich Miescher DNA'nın keşfi ve "nuclein" olarak isimlendirmesi.



Johann Miescher

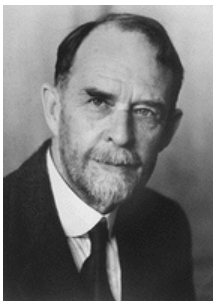
- 1881 Edward Zacharias kromozomların nuclein oluştuğu.
- 1899 Richard Altmann "nuclein" i nükleik asit olarak isimlendirdi.
- 1900'da , 20 amino asitin kimyasal yapısı belirlendi.

- **1902** - Emil Hermann Fischer (Nobel Ödülü): Proteinlerin amino asitlerden oluştuğu.



Emil Fischer

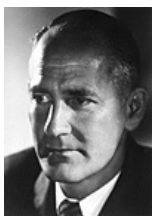
- **1911 –** Thomas Hunt Morgan genlerin kromozomlar üzerinde bulunduğunu ve kalıtımın temeli olduğunu.



Thomas Morgan

- **1911** Pheobus Aaron ve Theodore Lerene RNA'nın keşfi

- **1941** – George Beadle ve Edward Tatum genlerin protein yaptığını (bir gen bir enzim hipotezi)



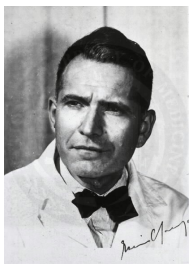
George Beadle



Edward Tatum

- **1950** – Edwin Chargaff

- (Chargaf Kuralı)



Edwin Chargaff

- **Chargaff Kuralına Göre: Çift sarmallı bir DNA molekülünde** A = T ve G = C molar fraksiyonları birbirine eşit ve A + T + G + C molar konsantrasyon toplamı daima 1'e eşittirr.

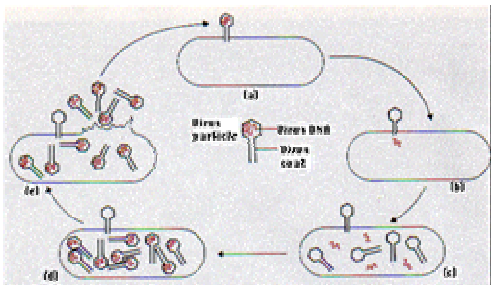
- Soru: Elinizdeki çift sarmallı DNA' da (A+T)/(G+C) oranı 0.6 ise
- a. A+C mol fraksiyonu
- b. A+G mol fraksiyonu
- c. G+C mol fraksiyonunu
- d. A, T, G, ve C nükleotitlerin toplam mol fraksiyonunu bulunuz.

- Çözüm:
- (A + T)/(G + C) = 0.6 ise
- x = A = T ve y = G = C, buradan 2x/2y = 0.6 olduğunu
- 2x = 1 - 2y olacağından, 2x in yerine 1-2y yazabiliriz ve bu durumda eşitliğimiz
- (1 - 2y)/2y = 0.6 olur buradan
- 1 - 2y = 1.2y
- 1= 3.2y ve y = 1/3.2 = 0.3125 bu deger ise G degeri oda C'dir. Şimdide x için çözelim
- x için 2x = 1 - 2y olarak bulmuştuk x = (1 - 2y)/2 = (1 - 0.625)/2 = 0.375/2 = 0.1875 = A = T.
- A) A + C = 0.1875 + 0.3125 = 0.5
- B) A + G = 0.1875 + 0.3125 = 0.5
- C) G + C = 2 (0.3125) = 0.625
- D) A = T = 0.1875 and G = C = 0.3125

- **1950'ler** – Mahlon Bush Hoagland tRNA izolasyonu
- **1952** – Alfred Hershey ve Martha Chase genlerin DNA'dan oluştuğunu



Mahlon Hoagland



- **1952-1953** James D. Watson ve Francis H. C. Crick çift sarmallı DNA heliksini yapısı
- **1956** George Emil Palade ribozomların enzim ve proteinleri yaptıklarını ve ribozom alarak simlenirme.

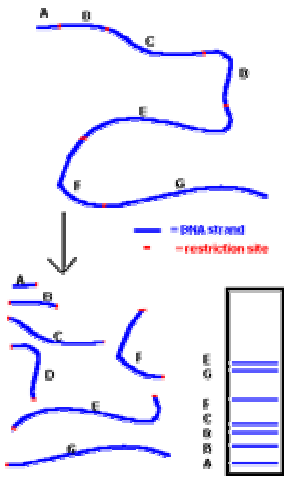


James Watson ve Francis Crick



George Emil Palade

- **1970** Howard Temin ve David Baltimore birbirlerinden habersiz ilk restriksiyon enzimini izole etmişlerdir



- DNA özel sekans dizilerinde kesilebilmektedir. Bu tip enzimler restriksiyon endonükleazlar olarak bilinir.
- Kesilmiş DNA başka DNA uçlarına eklenebilmektedir.
- Gen klonlamasına önemli düzeyde katkı sağlamıştır.

- **1977** Phillip Sharp ve Richard Roberts hnRNA'nın mRNA dönüşümü için splisin işleminden geçtiğini.


Phillip Sharp


Richard Roberts

- Joan Steitz snRNA katalizör etkiye sahip oldugunu.

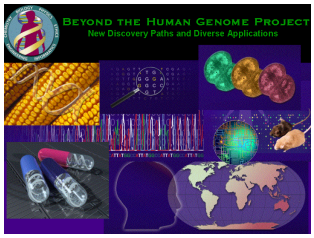

Joan Steitz

- **1986** Leroy Hood otamatik DNA sekanslama mekanizmasını



Leroy Hood

- **1990** insan genom projesi başlatıldı
- **1995** 3, 11, 12, ve 22 kromozom verileri yayınlanmaya başladı.



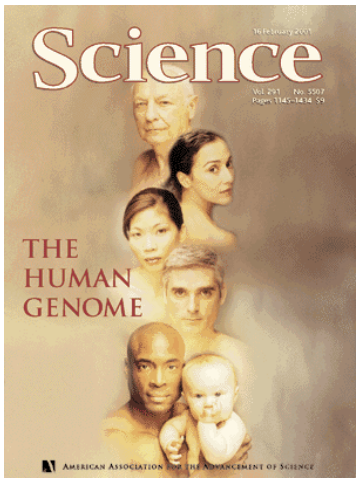
- **1995** John Craig Venter ilk bakteri genomu sekanslandı
- **1995** Robot ve floresan teknolojisi DNA'da kullanıma başlandı
- **1996** ilk ökaryotik organizma sekanslaması yapıldı



John Craig Venter

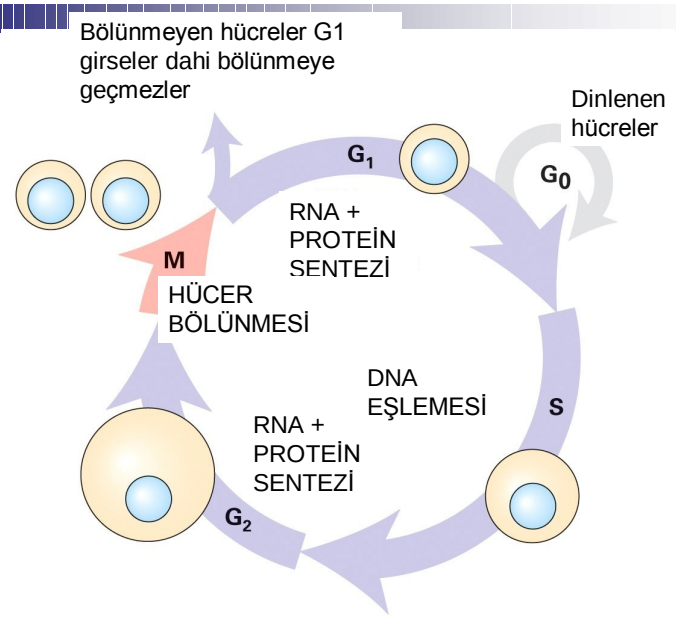
- **1997** E. Coli genom sekansı tamamlandı
- **1998** 96'lı kapilar elektroforesi sistemi
- **1999** İlk olarak insan 22 kromozomu sekanslandı.

- **2000** Drosophila melanogaster genomunun ökaromatin kısmı sekanslandı
- **2001** insan genomunun ön verileri yayınlandı



- **2003 Nisanında insan genom projesi sonuçlandı.**
- Fare genomu sekanslandı.
- **2004 Nisan** Sıçan genomu tamamlandı



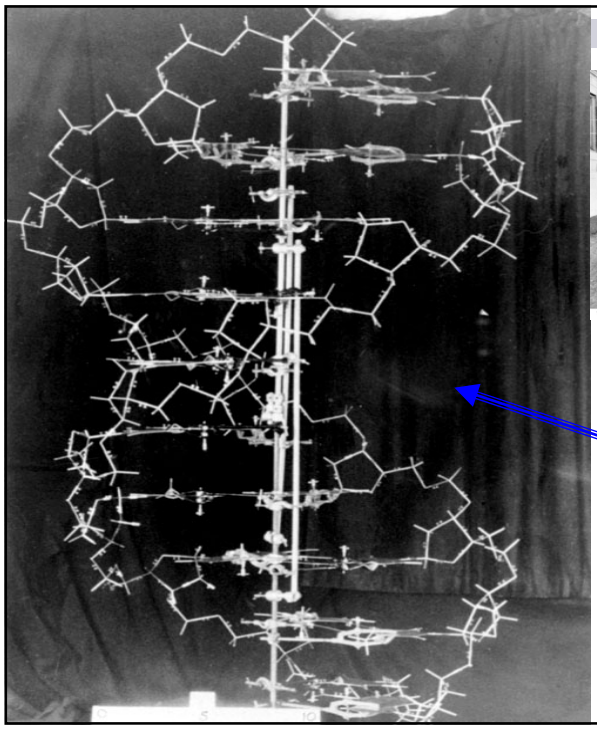


HÜCRE SİKLUSUNUN GENETİK TANIMLAMASI

Organizma Yaşamında Kalıtım Materyali Örneklemesi

- Nükleus: Kütüphane
- Kromozom: Kitap Rafları
- Gen: Kitap (Her bir kitap bölümlerden oluşur)

- **Genom**: Bir organizmanın bütün bir genetik materyali, kromozom seti
- **Gen:** DNA'dan oluşmuş, kromozom üzerinde bulunan ve kalıtım bilgisini taşıyan nükleik asit dizisidir
- **Genotip**: Bir organizmanın genetik özellikleridir.
- **Fenotip**: Bir özelliğin fiziksel yansısıdır
- **Ekson:** Translasyona giren gen dizisi.
- **Intron:** Transkripsiyona gireen ancak tranlasyona uğramayan gen dizisi.
- **DNA Replikasyon**: DNA'nın kendi eşini sentezlemesi
- **Transkripsiyon**: DNA'dan RNA'nın sentezlenmesi
- **Translasyon**: RNA'dan amino asitlerin sentezlenmezi.
- **Mutasyon:** Kromazom yapı ve sayısındaki kalıtsal değişikliklerdir.
- **Evrim**: Biyolojik ve organik değişimler olup organizmaların atalarından farklılığıdır.





Crick ve Watson

THINKTOY

- Zoolog Watson ve Fizikçi Crick
- Chagraff kuralını ve Rosalind Franklin X-ışını radigramı ullanarak, düşünce oyuncağı olarak çift sarmallı DNA modelini ortaya koydular.
- 1953 *Nature* dergisi makalesi: *"It has not escaped our notice that the specific pairing we have postulated immediately suggests a possible copying mechanism for the genetic material."*



Watson ve Crick DNA model ile



Rosalind Franklin'in belirlemiş olduğu DNA'nın X-İşın Radiogramı

Çift Sarmallı DNA Heliksi

- Çift sarmalı olan ve sarmalları birbirlerine ters yönde uzanan heliks yapısında,
- Sağa kıvrımlı şekilde birbirlerine sarılmış
- Bazlar heliksin iç kısmında
- Fosfat grupları yanlarda
- Purin ve primidin bazları birbirlerine birbirlerine H-bağlarıyla bağlıdır
- Büyük oluklar
- Küçük oluklar

DNA'nin Yapısının Bilinmesiyle

- **DNA fosfat gruplarından dolayı negatif yüklü, oluşu elektroforesis tekniği, DNA sekanslama yöntemi (Sanger metodu)**
- **H-bağlarının bazlar arasındaki varlıpı**
- **Hibridizasyon, replikasyon, transkripsiyon ve translasyon ile hata onarımı: DNA çips, PCR, diğer DNA teknolojileri**
- **DNA-protein interaksiyonu (büyük ve küçük oluklar): ve transkripsiyonun düzenlenmesi**
- **DNA polimerleşmesi 5' -> 3' – fosfodiester bağı (5' fosfat ve 3' OH**

DNA heliksinin diğer özellikleri

- (A=T ve C=G eşit olduğunu
- Watson-Crick baz eşlemesi A :T, ve C:G hidrojen bağları
  - G ve C için 3 H-bağı,
  - A ve T için H-bağı.
  - G-C baz eşlemesi A-T daha sağlam
- Her sarmal diğerine sarılıdır

İLK OLUŞAN GENETİK ŞİFREYİ TAŞIYAN MAKROMOLEKÜL NEDİR?

- Proteinler ?
- Karbohidrat ?
- Lipit?
- DNA ?
- RNA ?

RNA GÜNÜMÜZDE HEM ENZİM HEMDE GENETİK MATERYAL OLAN TEK MAKROMOLEKÜLDÜR.

RNA DÜNYASI

- RNA Dünyası Hipotezine göre evrimin gerilerinde ilk oluşan hücrelerin genetik materyalinin RNA olduğudur.
- Ancak günümüzde bazı virüslerde genetik materyal olan RNA, gelişmiş hücrelerde aracı ancak oldukça önemli görevlere sahiptir.

RNA DÜNYASI HİPOTEZİ

- Bazı intronların kendiliğinden ayrışma ve birleşmesi: Splising (splicing)
- RNase P (Ribozim)
- Viral RNA'ların işlevleri (Self-cleaving)
- Robizomların peptidil transferaz'ı
- Ribonukletitlerin:
  - Metabolizimde (ATP, UTP, NADH, NADPH)
  - Sinyal olarak sinyal transdüksiyonu (cAMP, cGMP, GTP)
  - Enerji (ATP)

- **Kalıtım Materyalinde Bulunması Gereken Özellikler:**
- Organizmada varlığını bozulmadan koruma ve olabilecek zararları ortadan kaldırmaya yönelik aktiviteleri içermesi,
- Hücrenin yaşamsal faaliyetleri için gerekli olan bütün aktiviteleri kontrol etme,
- Hücrenin devamlılığı için benzerlerinin yapılması,
- Doğal şartların neden olduğu olumsuz etkileri en aza indirecek sekilde hücreyi degişime uğratarak, gerekli genetik materyali degiştirerek çeşitliliği artırma.
- SORU: PİRONLAR BU ANLAMDA KALITIM MATERYALİ MİDİR?

GENOM YAPISI BAKIMINDAN

- ÖKARYOTLARDA NÜKLEOSOMLAR VARDIR
  - NÜKLESOME: HİSTON + DNA
  - NÜKLEUS MEMBRANI
  - TRANSKRİSİYON VE TRANSLASYON AYNI ANDA OLAMAZ
  - 3 FARKLI RNA POLİMERAZ VARDIR
  - POL I: rRNA
  - POL II mRNA VE snRNP
  - POL III: tRNA VE 5S rRNA

Heteregenous RNA (hnRNA) ve mRNA prosedürleri
SATELLİT DNA
INTRON, EKSON

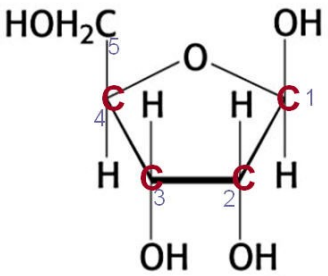
- Nükleik asitler hücrede bulunan makro elementlerden olup deoksiribonükleik asit (DNA) ve ribonükleik asit (RNA)'dir.
- Nükleik asitlerin her iki türü de (DNA ve RNA) nükleotit monomerlerinin polimer halidir.
- Nükleotitler temel olarak üç kısımdan oluşur:
- 1) Azotlu Bazlar: Bunlar heterosiklik bir C halkası ve N atomlarından oluşur. Bazlar pürin ve pirimidin'lerden oluşan Adenin, Guanin, Sitozin, Timin ve Urasildir.
- 2) Heterosiklik halka yapısında 5 karbon atomlu bir riboz şekeri olup be şeker deoksiriboz ya da ribozdur,
- 3) Bir fosfat gurubu: asit kavramı bu fosfat gurubundan kaynaklanmaktadır.

DNA ve bazi virüslerde RNA genetik materyal olarak genetik bilgiyi KOD olarak şifreler depolar. Genetik bilgi 3 lü baz dizileri halinde kodlanmışlardır.

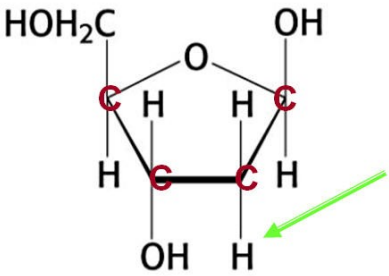
Ökaryotik hücrelerde nükleus zarıyla çevrilmiş olarak nükleusta (çekirdekte).
Mitokondride ve Kloroplasta

Prokaryotlarda ise sitoplazmada çogunluklada plazma membranın belirli noktalarda kontak halinde bulunur. Mitokondri ve kloroplastlarda olduğu gibi nükleus zarıyla çevrili değildir.

Prokaryotik ve ökaryotik virüslerde genetik materyal ayrı bir zar içersinde bulunmaz, ribonükleo- veya deoksiribonükleo-proteinler halinde bulunur.



RİBOZ

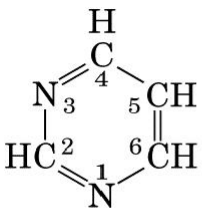


DEOKSİRİBOZ

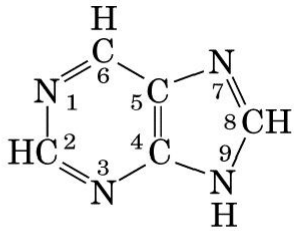
5 KARBONLU ŞEKLERLER

BAZLAR

- İki farklı baz vardır
- Pürin bazları
  - Adenin A DNA RNA
  - Guanin G DNA RNA
- Pirimidin
  - Sitozin C DNA RNA
  - Timin T DNA -
  - Urasil U - RNA

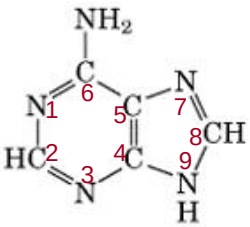


PRİMİDİN

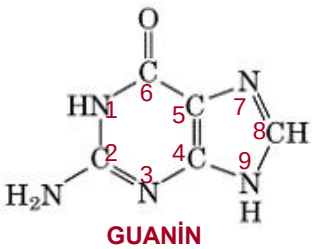


PURİN

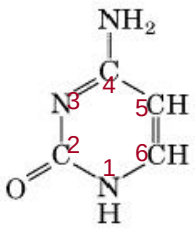
PURİN VE PRİMİDİN BAZLARININ NUMARALANDIRILMASI



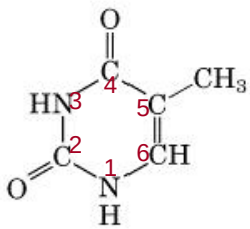
ADENİN



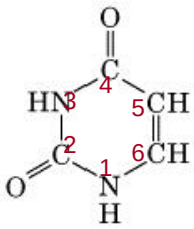
GUANİN



SİTOZİN

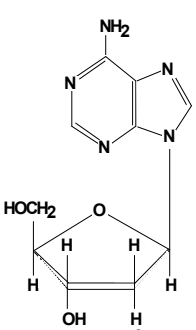


TİMİN

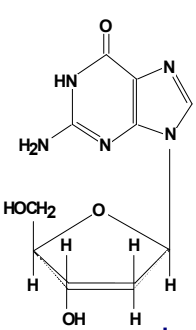


URASİL

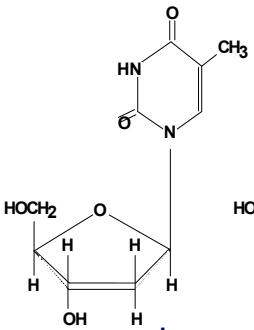
Nükleosit'ler



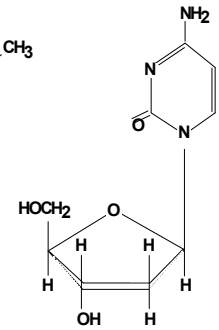
2' DEOKSİ ADENOZİN



2' DEOKSİ GUANİZN



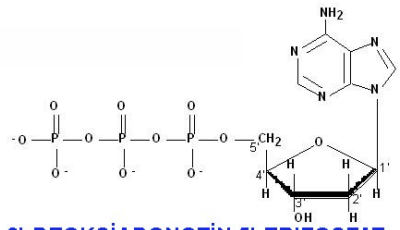
2' DEOKSİ TİMİDİN



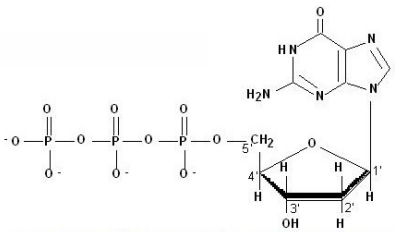
2' DEOKSİ STOZİDİN

SADECE RİBOZ VEYA DEOKSİRİBOZ VE BAZI İÇERİRLER

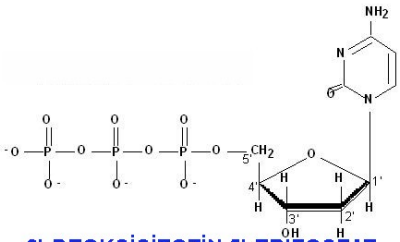
Nükleotit'ler



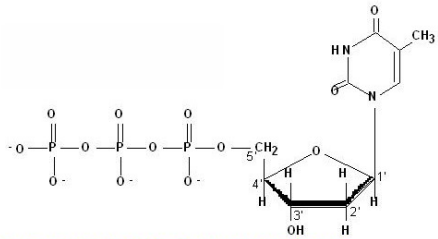
2'-DEOKSİADONOZİN 5'-TRİFOSFAT



2'-DEOKSİGUANOZİN 5'-TRİFOSFAT

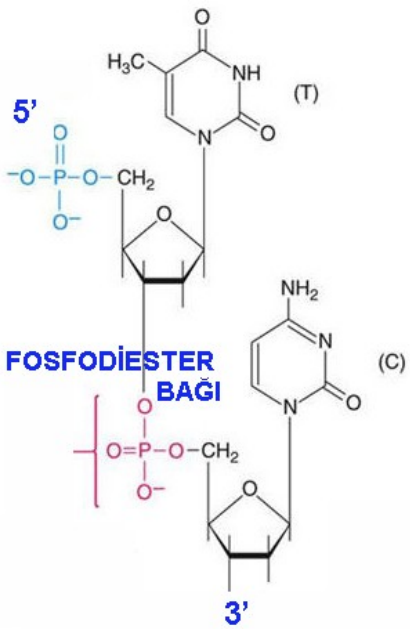


2'-DEOKSİSİTOZİN 5'-TRİFOSFAT



2'-DEOKSİRİMİDİN 5'-TRİFOSFAT

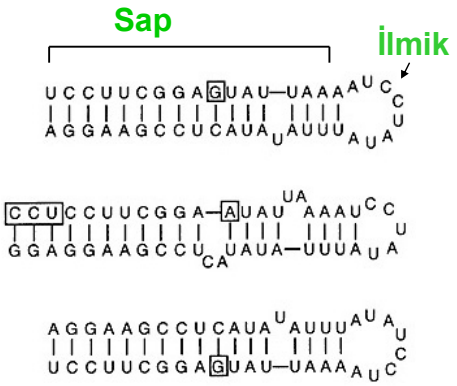
FOSFOT GRUBU



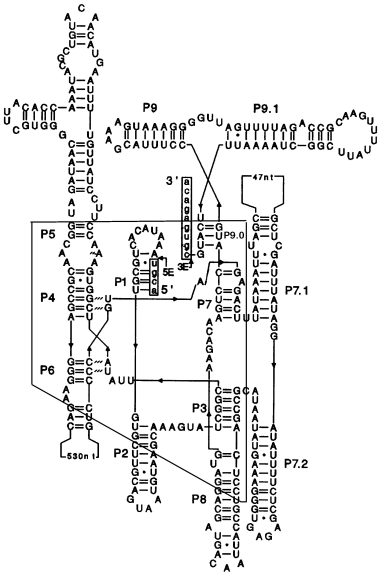
RNA'nın İleri Düzeydeki Yapıları

Sap ve ilmik RNA structure.

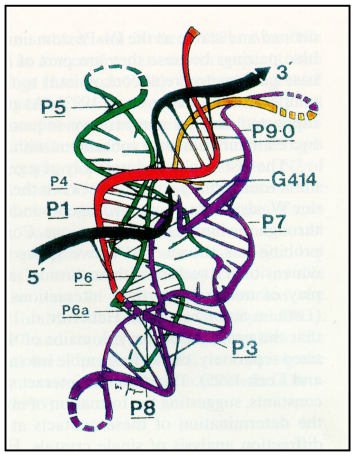
Sap (Stem): çift sarmallı RNA kısmıdır. Watson-Crick baz eşlemesi kuralına uyar.
İlmik (loop) bazı eşlemesi yoktur.



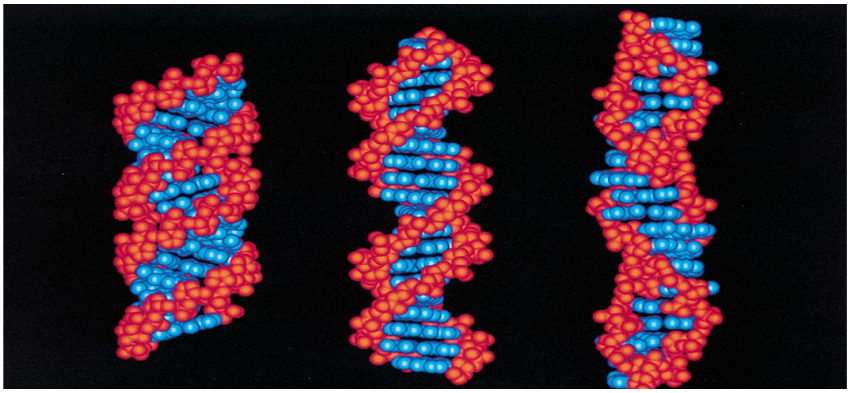
RNA'nın sekonder yapısı



RNA Tersiyeri Yapısı

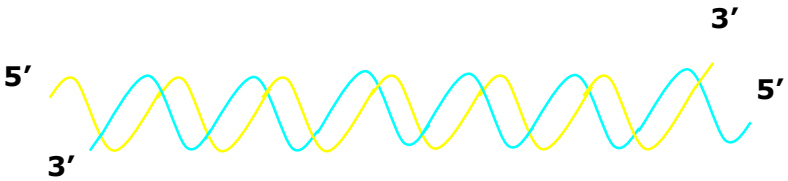


DNA Formları



A B Z

DNA: Helozoni yapıda helikstir



DNA genellikle çifte sarmaldan oluşur.

Çifte sarmallı DNA sağ döngülü heliks oluşturur ve her bir döngüde 10 baz çifti bulunur.

- Çift sarmallı bir DNA' her bir sarmalda bulunan pürin ve pirimidin bazları birbirlerine yüz-yüze bakar
- Çift sarmalın her bir sarmalı üzerinde bulunan bir pürin diğer sarmaldaki pirimidinle veya bir sarmaldaki pirimidin diğer sarmaldaki pürinle hidrojen bağlarıyla bağlıdır.
- Watson-Crick baz çifti kuralına göre
  - A=T
  - G≡C sarmallar birbirlerine bağlanır
- GC baz çiftlerii (bps) AT baz çiftlerine oranla daha fazla sağlamdır.
- Adeninin-Timinle, Guaninin-Sitozinle eşleşmesi kuralı, bir sarmalın diğer sarmala komplementar olmasını sağlar ve komlementari kavramına göre bir sarmaldan diğer bir sarmal oluşturulabilir.

ANTİPARALELLİK

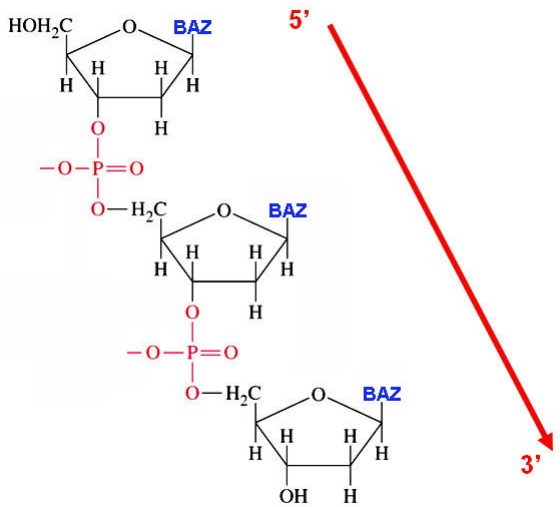


Çift sarmallı bir DNA'nın her bir sarmalı birbirlerine zıt yöndedir buna antiparallelik denir ve aynı zamanda sarmallar birbirlerine komplementardır.

BAZ ÇİFTİ OLUŞUMU

- Kovalent bağlarına orana daha zayıf bağlar olan **hidrojen bağları** pürin ve pirimidin bazları arasında oluşarak iki nükleik asit sarmalını birbirlerine bağlarlar.

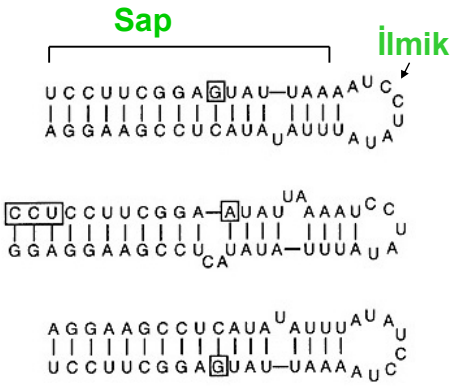
- Watson-Crick baz çifti kuralına göre
  - A ve T arasında çift hidrojen bağı
  - G ve C arasında üç hidrojen bağı



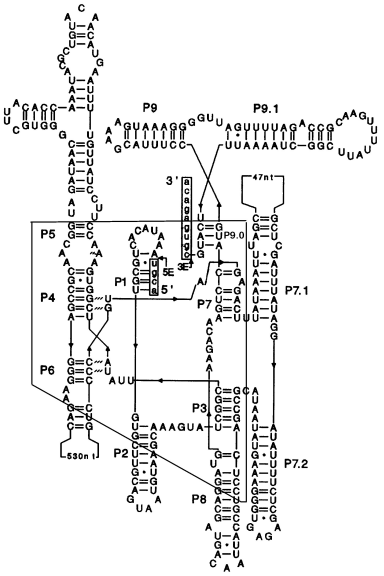
RNA'nın İleri Düzeydeki Yapıları

Sap ve ilmik RNA structure.

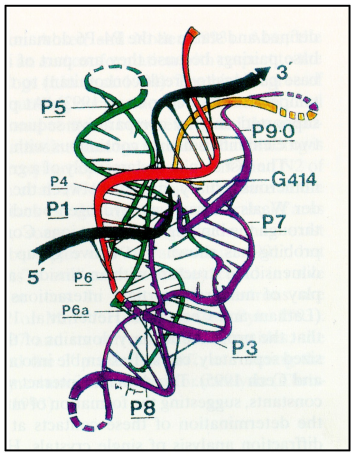
Sap (Stem): çift sarmallı RNA kısmıdır. Watson-Crick baz eşlemesi kuralına uyar.
İlmik (loop) bazı eşlemesi yoktur.



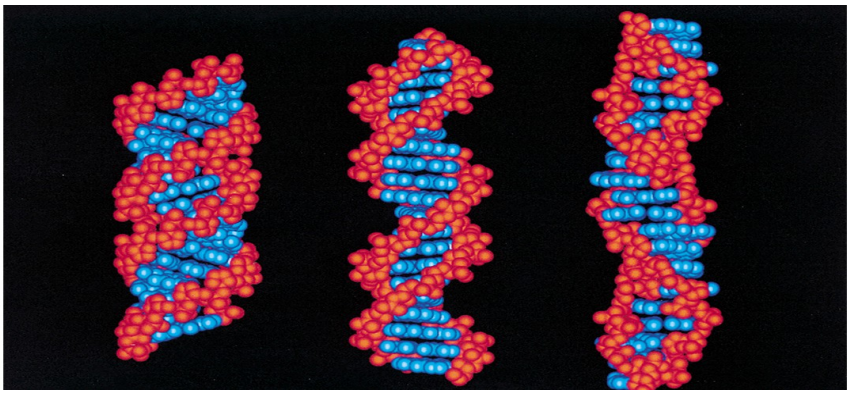
RNA'nın sekonder yapısı



RNA Tersiyeri Yapısı



DNA Formları

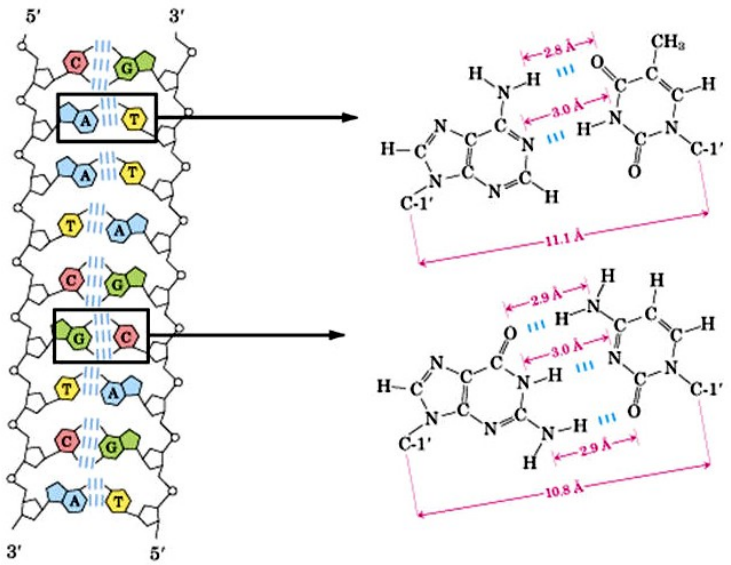


A B Z

- Elinizdeki bir virüsün ribozunun 2'-OH'le sahip olduğunu gördünüz ve ayrıca purinlerin sayısının primidinlere eşit olduğunu analiz ederek buldunuz. Sizce bu virüs nükleik asiti:
- + sarmallı RNA
- - sarmallı RNA
- Çift sarmallı RNA
- Tek sarmallı DNA
- Çift sarmallı DNA

ÇİFT SARMALLI NÜKLEİK ASİTLER NASIL OLUŞTURULUR.

1. Bazlar arası HİDROJEN BAĞLARI



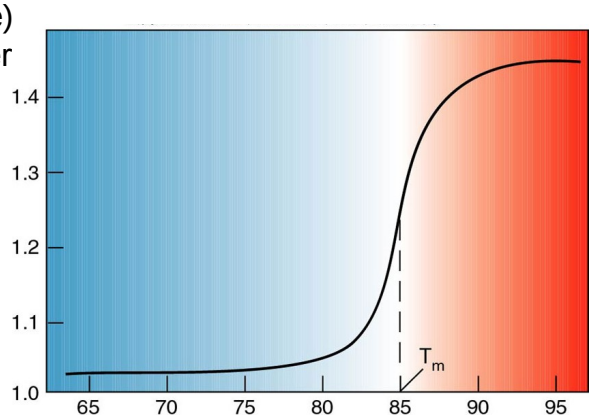
2. DNA sarmallarının muntazam istiflenmesi ve baz çiftlerinin Van der Waals interaksiyonu

Delil:
Ure ve formamit hidrojen bağını koparmasına rağmen sarmallar birbirlerinden ayrılmazlar, ayrılma için sıcaklığa ihtiyaç duyulur.

3. Çift sarmallı DNA dış kısmında bulunan fosfodiester bağlarının su H_2O ve karşıt iyonların (K^+, Mg^{2+}, vb.) interaksiyonu çift sarmalı korur

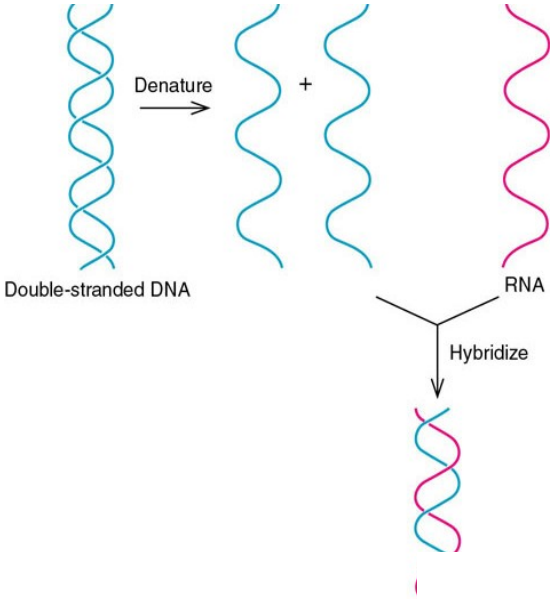
DNA'nın Erime Eğrisi

DNA eridiği (denatüre) olduğu zaman diğer bir söylemle çift sarmallı tek sarmallar haline dönüştüğü zaman UV bölgesindeki soğurganlığı artar.



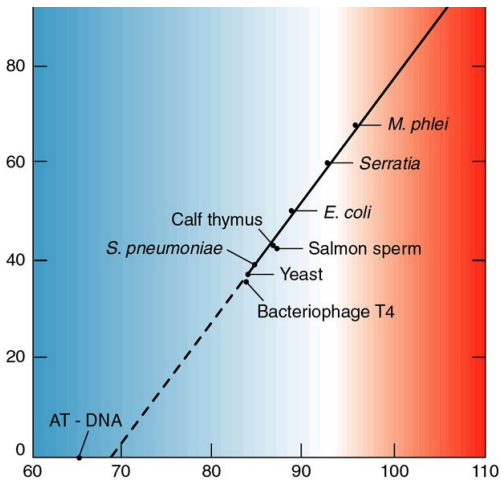
T_m= DNA'nın %50'sinin denatüre olduğu sıcaklıktır

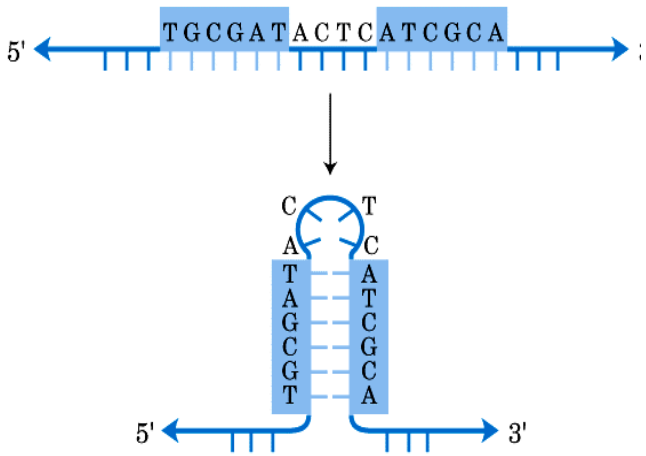
Hibridizasyon veya Reannealing (birleşim)



- DNA - DNA
- DNA - RNA
- RNA - RNA

Denatürasyon DNA' toplam G-C içeriğine dolayısıyla organizmanın türüne göre farklılık gösterir



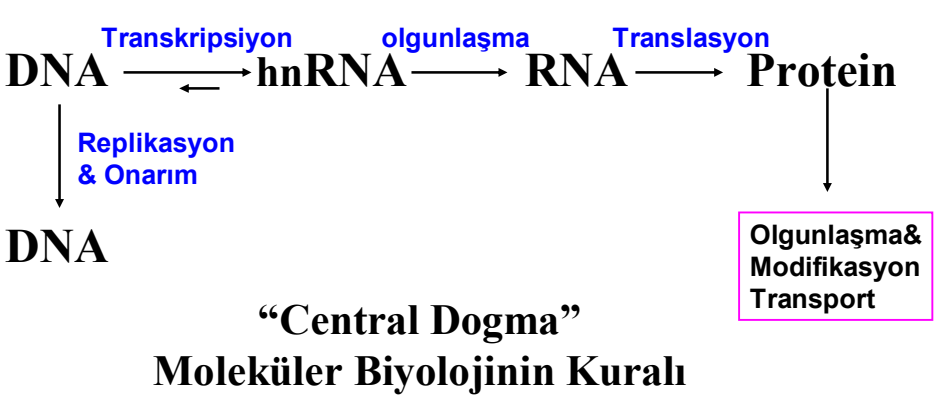


RNA'DA FİRKETE (HAIRPIN) OLUŞUMU

Nükleik Asitlerin Kaynağı

- Nükleotit biyosentezi hücrede iki değişik patika ile sentezlenirler. De Novo (Baştan, yeniden) Pathway'i ve Salvage (yeniden yapılanma, kurtarma) patikaları ile.
- **DE NOVO:** Aminoasit, Riboz-5- fosfat, karbondioksit ve amonyak'tan oluşan prekürsörlerden başlar. Genelikle hücrede serbest olarak bulunan bazlar Guanin, Adenin, Timin, Sitozin ve Urasil De Novo'da kullanılmazlar.
- De Novo patikasında pürin halka yapısı birkaç atomun aynı zamanda riboz şekerine eklenmesiyle oluşur. Primidin halkası ise önce OROTATE'e dönüşür ve Ribozfosfata eklendikten sonra normal primidin haline dönüştürülür.

- **SALVAGE Patikası**
- Hücre içerisindeki serbest bazlardan ve nükleik asitlerin degredasyonundan, parçalanmasından elde edilen nükleositlerin yeniden yapılanmasıyla elde edilir.



"Central Dogma"
Moleküler Biyolojinin Kuralı

- Moleküler Biyoloji'nin Sentral Kuralına göre genler nükleik asitler (DNA) üzerinde bulunurlar, nükleik asitler kendi kendilerini oluşturabilirler, hatlarını giderebilirler. Bu olayları REPLİKASYON ve ONARIM mekanizmalarını kullanarak gerçekleştirirler. Nükleusta gerçekleşen bu olaylardan sonra yine nükleusta DNA RNA formuna dönüştürülür. Bu olaya TRANSKRİPSİYON adı verilir. Transkripsiyon sonucu elde edilen RNA diğer bazı işlemlerden sonra olgunlaştırılarak sitoplazmaya gönderilir. Stoplazmada RNA molekülü amino asit zincirine dönüştürülür bu olayda TRANSLASYON alarak bilinir.

- Bazı organizmalarda RNA formundaki nükleik asit DNA formuna dönüştürülür bu olayda TERS TRANSKRİPSİYON olarak isimlendirilir.

DNA REPLİKASYONU

- Dna replikasyonu replikon olarak isimlendiren nükleik asit üzerinde gerçekleştirilir. Tek nükleik molekülü içeren organizmalara tek bir replikon varken çok sayıda dna molekülü içeren organizmalarda ise çok sayıda replikon vardır.
- Replikon: replikasyon orijinini içeren ve bağımsız olarak replike (çoğalabilen) olabilen hücre içerisinde her hangi bir DNA molekülüdür DNA da her hangi bir sekans orijine bağlı yada terminus ile orİjin arasında olan bölge replikonun parçasıdır ve replikasyona uğrar.
- DNA replikasyonunda SİS (CİS) ve TRANS elementler vardır. CİS elementi replikonun fiziksel bir parçasıyken TRANS elementi sie protein veya replikon dışı diğer moleküllerdir.

REPLİKONLAR

- Prokaryotik hücrelerde tek bir replikon olduğundan tüm bakteri kromozomu tek bir replikondur. Böyle genomlarda (diğer bir deyişle haploid) replikasyon tektir ve tek kopya olarak isimlendirilir. Bazı bakteriler plasmidler içerirler. Bu gibi durumlarda tüm bakteri hücresinde birden fazla replikon bulunur. Buna da çoklu replikon denir.
- Plasmid bakteriyel genomdan bağımsız ve çoğunlukla halka şeklinde bir genom teşkil ettiğinden bakteriyal genomdaki replikasyonun başlama bölgesinden bağımsızdır. Her faj veya virüs DNA'ları da replikonlara sahiptir.

- Prokaryot ve ökaryotlar arasında en önemli farklılıklardan biriside replikasyon şeklidir. Her ökaryotik kromozomu çok sayıda replikon içerir. Birden fazla replikonun ökaryotlarda bulunması DNA replikasyonunun bu tür organizmalarda kontrollü ve korelasyonlu olmasını zorunlu kılar.
- Ökaryotik kromozomlarda birden fazla replikon olması ve bunların birbirinden bağımsız olarak aktive edilmesi ve replike olmuş replikonun tekrar replike edilmemesi için belirli sinyallere ihtiyaç vardır. Öte yandan
- Kloroplast ve Mitokondri genomları replikon yönünden prokaryotik özellik gösterirler.

KROMOZOM

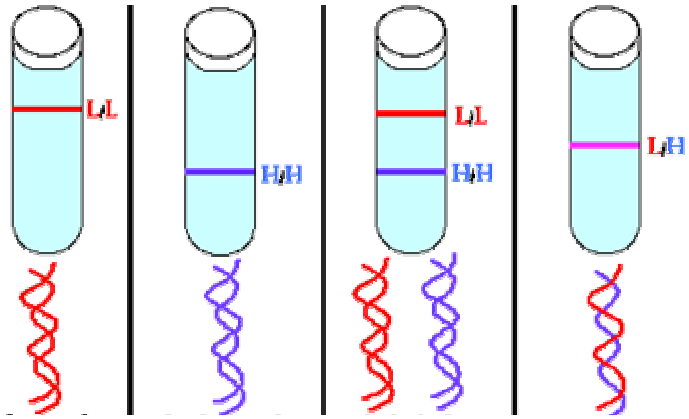
- DNA'nın hücre nükleusunda bulunuş şekli KROMATİN olarak, her bir kromozomun DNA replikasyonundan sonraki haline KROMATİD adı verilir.
- Kromatin halindeki DNA proteinlerle bir arada bulunur.
- DNA'ya bağlı bulunan proteinler ise histonlar ve histon olmayan proteinleri olarak sınıflandırılır.
- Ökaryotik kromatinlerde 5 farklı histon bulunmaktadır ve bunlar H1, H2A, H2B, H3 ve H4 isimlendirilirler.
- Diğer protein grubu çok sayıda transkripsiyon faktör, enzimler ve sinyal faktörleri girmektedir.

- Kromozom üzerinde DNA replikasyonunun başladığı bölgeye replikasyon forku veya çatalı adı verilir.
- Replikasyonun başladığı SİS bölgesine OriC adı verilir.
- Replikasyonun yönü tek veya iki yönlü olabilir. Tek yönlü replikasyonda replikasyon replikon orjininden başlar ve diğer yöne doğru ilerler. Bu durumda tek bir replikasyon forku oluşur.
- İki yönlü replikasyonda replikasyon orjininde iki replikasyon forku oluşur ve birbirlerinin ters yönlerine doğru hareket ederler. E. coli genomu tek oirjinli olup iki yönlü replikasyon forku oluşturur.

- Replikasyon DNA'nın halka yada lineer olmasına vede DNA'nın koromozom yapısında bulunmasına göre farklılıklar olabilmektedir. Bakteri genomları tek halkalı şekilde oluşan replikonlardır.
- Bakteri, kloroplast ve mitokondride replikasyon orjini belirlenmiştir ve bu bölgelerin Adenin, Timin bazlarıyla zengin olduğu görülmüştür. Bilindiği gibi A-T bazlarıyla zengin olan bölgelerde DNA çift sarmalı, G-C bazlarıyla zengin bölgelere oranla daha kolay denatürasyona uğrarlar.

- Replikasyon OriC' den başlatılır ve her DNA sarmalından yeni bir sarmal oluşturulur.

- DNA replikasyonunun nasıl gerçekleştigi Meselson ve Stahl 1957 izotop kullanarak yarı-orijanal (semi-conservative replication) olarak saptamışlardır.
- Denemelerinde E. coli kültürünü 15N nitrogen (agır bir izotope) başlatmışlar daha sonra kültürde 14N (hafif) bir kültürde devam ettirmişlerdir.
- Bakteri DNA'larını izole ederek cesium chloride sentrifüjlemesi sonucunda yeni oluşan bakteri DNA'larının bir sarmalında 14N, diğer samalında ise 15N saptamışlardır.



Meselson ve Stahl 1957 Denemsi DNA replikasyonunun yarı-orijinal bir şekilde gerçekleştiğini göstermiştir.
Olası diğer modeller: Konservatif, Dispersif

- **DNA Replikasyonu** yarı orijinli olarak OriC başlatılır ve iki replikasyon çatalı zıt yönlerde hareket eder. İki sarmal bir birlerine antipareleldir.
- Primaz enzimi tarafında OriC'de primlerler sentezlenir. Sarmalın bir devamlı olarak sentezlenirken diğer sarmal kısıklı yada duraksamalı olarak sentezlenir.
- 3'->5' sarmalı devamlı 5'->3' sarmalı ise kesikli olarak sentezlenir.
- 5'->3' sarmalı üzerinde duraksamalı olarak sentezlenen her bir DNA parçacığına Okazaki Parçaları adı verilmiştir (Reiji Okazaki)
- Primaz tarafından sentezlenmiş olan her bir RNA parçası daha sonra DNA polimeraz II tarafından uzaklaştırılır.
- DNA ligaz enzimi ise yeni eklenen DNA molekülleri arasındaki fosfodiester bağlarını oluşturur.

- Kural olarak her yeni DNA, 5’-3’ yönünde snetezlenmek zorundadır. Neden ise eklenecek her bir monomer 5’-deoksinükleotittrifosfatlar, 3’OH deoksiriboza eklenebilmektedir.

- DNA replikasyonunda prokaryotlarda 3 tür DNA polimeraz görev almaktadır. DNA polimeraz I, II ve III.
- DNA polimeraz I en fazla bulunan enzimdir. Görevi replikasyon sırasında veya başka zamanlarda oluşan DNA hatalarının giderilmesidir. DNA polimeraz II DNA replikasyonunda ve onarımlarda görev almaktadır. Replikasyonun esas enzimi ise DNA polimeraz III’tür.

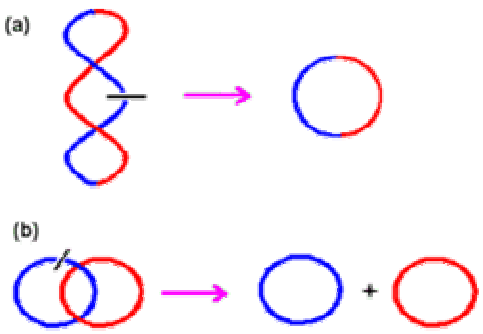
- Ökaryotlarda ise 5 farklı enzim keşvedilmiştir. Bunlar alfa, beta, gamma, sigma ve epsilon olarak isimlendirilmektedir.

- **DNA REPLİKASYONU:**
- **Başlatma: inisasyon**
- Başlatma aşamasında çeşitli faktörler replikasyon orijini (ikileşme merkezi)'ne toplanırlar. İkileşme merkezinde DNA açılır, kısmen açılan iplikler bir "ikileşme baloncuğu" oluştururlar, her iki uçta da birer ikileşme çatalı bulunur. Her enzim grubu merkezden uzaklaşarak çalışır ve ilerledikçe DNA ipliklerini açıp yeni iplik sentezler.
- Bu aşamada rol alan enzimlere topluca "çoğalma öncesi kompleksi" denir.

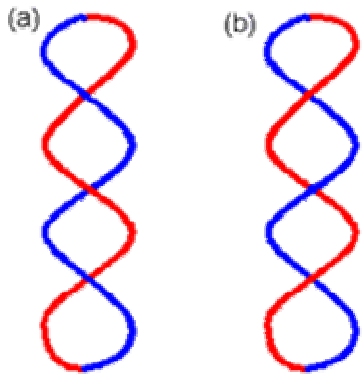
- Bunlar:
- Helikaz: DNA'yı açar.
- Primaz: DNA çoğalması için gereken RNA “primer, astar" iplikçiklerini sentezler.
- DNA haloenzim: Asıl çoğalma işlemini gerçekleştiren enzimler topluluğudur.

- DNA'nın çoğalması. İlk aşamada çift sarmalın bir kısmı helikaz tarafından açılır. Sonra DNA polimeraz (yeşil) enzimi DNA ipliklerinden birine bağlanır, onu şablon olarak kullanarak öncü ipliği sentezlemeye başlar. DNA sentezleme işlemi yeni üretilen iplik için her zaman 5' ucundan 3' ucuna doğru olmalıdır. İkinci bir DNA polimeraz enzimi DNA sarmalı açıldıkça diğer şablon DNA ipliğine bağlanır, ve sentezlemedeki yönün öneminden dolayı Okazaki parçacıkları denilen kesintili polinükleotid (çok nükleotidli) iplikçikler üretir. Diğer bir enzim de (DNA ligaz - pembe) daha sonra bu parçacıkları birbirine ekleyerek *döşeme ipliği* oluşturur

- TOPOİZOMERAZLAR: Tip I ve Tip II olmak üzere iki çeşit topoizomeraz vardır.
- **TOPOİZOMERAZ I:** ATP kullanarak çift sarmallı bir DNA'da tek sarmalı keser ve diğer sarmal etrafında döndererek oluşmuş olan gerginliği azaltır.
- **TOPOİZOMERAZ II:** Bu enzim çift sarmallı DNA'nın her ikisini birden keserek tekrar birleştirme faaliyetinde bulunur. ATP kullanır.



- (a) Topoizomeraz II süper kıvrımız uzaklaştırmak için her iki sarmalı birden keser, gerginlik kendiliğinden ortadan kalkar ve kesik uçlar tekrar birleştirilir
  (b) İki halkanın birbirinden uzaklaştırılmasında yine Topizomeraz II sarmalları keser ve bir halhayı diğerinden uzaklaştırır, kesim tekrar kapatılır.



- Süper kıvrımın yapısı.
- **(a)** Pozitif DNA Kıvrımları soldan sağa dogru dönüşlerle oluşur.
- **(b)** Pozitif DNA Kıvrımları sağa sola dogru dönüşlerle oluşur.

- HELİKAZ: Çift ipligin topoizomerazın açımından sonra açık kalmasına yardımcı oldugu gibi çifte sarmalı açarak iki iplikçigi birbirinden ayırır. Hidrojen bağlarının koparımı sırasında bu enzim ATP'ye ihtiyaç duyar.
- PRİMAZ (Primase): Primezome (primeosome) enzim protein kompleksinin parçası olup bu enzim küçük RNA ipligini (primer yada başlatıcı RNA)'yı kalıp tek sarmal DNA'ya komlementar olarak ekler. Bu RNA primeri ise sonra RNase H tarafından uzaklaştırılarak yerine DNA Polimeraz (polymerase I) tarafından yenisi sentezlenir.
- RNA primerinin yapıldığı kısımdan diğer RNA primerinin yapıldığı kısma kadar oluşan uzaklık genellikle 1000-2000 baz uzunluğundadır. İşte bu uzunluktaki yeni sentezlenmiş DNA'lara 'Okazaki DNA Parçacıkları' adı verilir.
-

- **LİGAZ (Ligase): Bu enzim çift sarmallı DNA'da fosfodiester** (phosphodiester) bağını yapara. Bu işemi eski nükleotidin 3'OH ve yeni eklenen nükleotidin 5' (5' fosfatı) birleştirir ve ortama PPi çıkar.
-
- **TEK SARMAL/İPLİK BAGLANMA PROTEİNİ (Single-stranded binding protein):**
- Bu proteinler Helikaz ve Topoizomeraz enzimlerinin açımış oldugu iplikçiklerin tekrar çift iplikçik oluşumunu engellemek amacıya tek iplikçik DNA molekülüne bağlanırlar

- **DNA POLİMERAZ:** Açılmış 2 sarmaldan yeni DNA sarmalı yapan ve replikasyonun temelini oluşturan enzimlerdir.
- **DNA Polimeraz I**: DNA onarımında görev alır, 5'->3' polimeraz ve 3'->5' hata düzeltme eksonükleaz aktivitesine sahip olup. PolA geni tarafından sentezlenir. Klenow enzimi olarakta bilinen DNA pol I proteaz enzimine tabi tutulduğu zaman aki parçaya ayrılır ve her bir parçanın ayrı bir aktivitesi vardır. Proteaz muamelesi sonucu 5' -> 3' eksonükleaz aktivitesi uzaklaştırılabilir. Diğer büyük parçası Klenow parçacığı olarakta isimlendirilir. Bu parçanın 5' -> 3' polimeraz ve 3' -> 5' akivitesiyle olup moleküler çalışmalarda kullanılır.
- Primerler uzaklaştırıldığı zaman onların yerleri boş kalır, bu boşluklar bakteride DNA Polimeraz I tarafından sentezlenirler ve 5'→3' polimeraz aktivitesiyle bu boşluklara yeni DNA parçacıkları sentezlenir

- **DNA Polimeraz II:** DNA replikasyonu sırasında oluşan zarar görmüş nükleotitlerin onarımında 5'->3‘ zincir uzatma ve 3'->5' eksonükleaz aktivitelerine sahiptir. Polb geni tarafından sentezlenir. Hata oranı düşük ancak çok yavaştır.

- DNA polimeraz II ve III 5’->3’ eksonükleaz aktivitesi yoktur.
- Kataliz hızı en yüksek olan Poll III’tür.

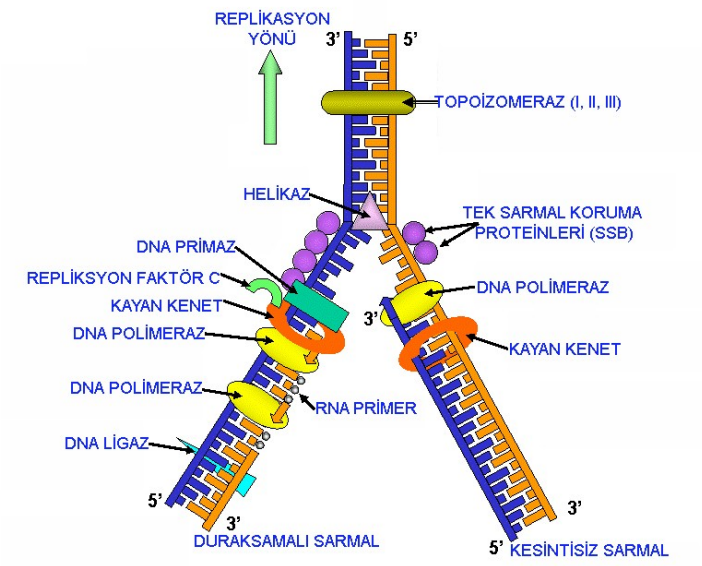
- 3 tip DNA polimerazında 5’->3’ polimeraz ve 3’->5’ eksonükleaz aktivitesi vardır.

- **DNA Polimeraz III** birkaç alt üniteden oluşmakta ve bakteride birden fazla farklı gen tarafından sentezlenmektedir. Alfa (α) altünitesi DNA sentez aktivitesini içerip dnaE geni tarafından üretilir.
- Enzimin epsilon (ε) altünitesi ise dnaQ geni tarafından sentezlenir ve bu halo (tam) enzim yapısının 3’→5’ eksonükleolitik proof reading aktivitesini sağlar.
- Epsilon ve Alfa altünitelerinin bir arada bulunması enzimin hata yapma şansını azaltmaktadır.
- DNA Polimerase iki değişik şekilde hata yapabilir. Bunlardan ilki yanlış bazın eklenmesi diğeri ise ekstradan bir bazın zincire eklenmesidir. Her DNA Polimeraz 3’→5’ hata düzeltim aktivitesinden dolayı bu hata yapma şanslarını azaltırlar.
- DNA Polimerase III’ün polimeraze, hata düzeltme aktivitelerinin dışında işlemcilik (**processivity**) aktivitesi de önemli bir özelliğidir. Bu özelliği sayesinde bağlandığı DNA sarmalında kalabilmekte ve kolayca ayrılmamaktadır

- **İLERLEME:**
- DNA sentezinin ilerleme aşamasını yapan proteinler de replisome denilen protein kompleksleriyle mümkün kılınmaktadır. Replisome tek başına bir enzim ya da protein olmayıp birden fazla enzim ya da proteinden oluşur ve koordineli olarak çalışırlar. Replisom doğal olarak Replikasyon forkunda çalışır. Replisom'un hareketi çifte sarmalın açılmasına neden olur. DNA replikasyonu replikonun bitiminde sonlanır ya da bitirilir.
-

- REPLİKASYONUN SONLANDIRILMASI
- Prokaryotlarda:
  - Halka
  - Lineer
  - Küçük Genomlarda
- Ökaryotlarda
  - Kromozom
  - Kloroplasta
  - Mitokondride

DNA REPLİKASYON ÇATALI VE BAZI ENZİM VE PROTEİNLERİ



Mitokondri genomunun replikasyonunda D ilmiği modeli vardır. Bu modelde önce tek sarmal replikasyona başlamakta ve replikasyon çatalı halkanın yarısına geldiğinde ise diğer sarmalın replikasyonu başlamaktadır.

- RNA Genomlarının Replikasyonu
- Virus genomları olup ters transkriptaz enzimiyle RNA'yı DNA formuna dönüştürerek genomlarını çoğaltırlar. Daha sonra DNA formu tekrar RNA'haline çevrilerek viral partiküller oluşturulur.
- Örnegin Rous sarcoma virüsü provirus olarak çift sarmallı DNA ökaryotik hücreye entegre edilir.