

Kalıtımın Moleküler Temeli

Prof. Dr. Bektaş TEPE

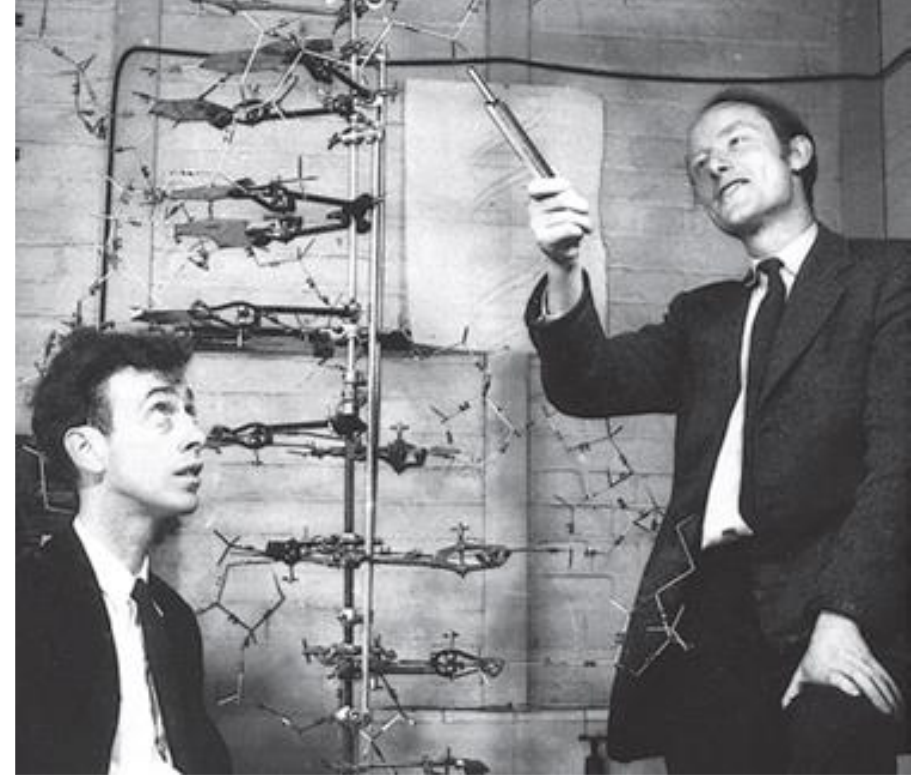
Genel Biyoloji

Bölüm 16



Yaşamın “Çalışma Talimatları”: DNA’ya Giriş

- DNA’nın zarif çift sarmal yapısı, modern biyolojinin simgesi haline gelmiştir.
- James Watson ve Francis Crick, Nisan 1953’te metal ve telle kurdukları modelle bu yapıyı bilim dünyasına duyurdu.
- Mendel’in kalıtım birimleri ve Morgan’ın kromozomlardaki genleri aslında DNA’dan oluşur.
- Kimyasal açıdan genetik mirasımız, anne ve babamızdan aldığımız DNA’dır.





Kalıtımın Maddesi Olarak DNA

- DNA, kalıtımın maddesi olarak çağımızın en çok tanınan molekülüdür.
- Nükleik asitler, monomerlerinden başlayarak kendi kopyalarını yönlendirebilme açısından doğada benzersizdir.
- Çocukların anne babalarına benzemesi, DNA'nın doğru kopyalanmasına ve nesiller arasında aktarılmasına dayanır.
- Bu doğruluk ve süreklilik, biyolojik bilginin korunmasını sağlar.



DNA Bilgiyi Nasıl Yönlendirir?

- DNA'daki kalıtsal bilgi, biyokimyasal, anatomik ve fizyolojik özelliklerin gelişimini yönlendirir ve davranışları kısmen etkiler.
- Bu bölümde DNA'nın genetik madde olduğunun nasıl anlaşıldığını adım adım göreceğiz.
- Watson ve Crick'in yapıyı nasıl çözdüğünü, DNA'nın nasıl kopyalandığını ve hücrelerin DNA'yı nasıl onardığını inceleyeceğiz.
- Son olarak DNA'nın kromozomda proteinlerle birlikte nasıl paketlenildiğini keşfedeceğiz.





DNA Genetik Maddedir!

- Günümüzde DNA'yı herkes duymuştur ve bilim insanları DNA ile laboratuvarlarda rutin olarak çalışır.
- Oysa 20. yüzyılın başlarında, “kalıtımın molekülü”nü bulmak biyologlar için büyük bir meydan okumaydı.
- Bu tarihsel arayış, bilimsel sorgulamanın güzel bir örneğini sunar.
- İzleyen slaytlardaki kanıtlar, DNA'nın genetik madde olduğunu ortaya koyacaktır.



Genetik Maddenin Adayları: DNA mı Protein mi?

- Morgan'ın grubu genlerin kromozomların parçaları olduğunu gösterince, adaylar DNA ve protein oldu.
- 1940'lara kadar proteinler, işlev çeşitliliği ve özgüllüğü nedeniyle daha güçlü aday sayıldı.
- Nükleik asitlerin fiziksel ve kimyasal özellikleri “fazla uniform” görülüyordu.
- Bu nedenle pek çok araştırmacı, kalıtsal çeşitliliği proteinlerin daha iyi açıklayacağını düşündü.



İZLE



Bakışın Değişmesi: Basit Sistemler, Büyük İpuçları

- Zamanla görüş, bakteriler ve onları enfekte eden virüsler üzerinde yapılan çalışmalarla değişti.
- Bu sistemler, meyve sineği veya insana göre daha sade oldukları için temel ilkeleri açığa çıkardı.
- Böylece DNA'nın kalıtımdaki rolü adım adım aydınlandı.
- Süreci, bir bilimsel sorgulama öyküsü olarak izleyeceğiz.

Bi Dünya Biyoloji

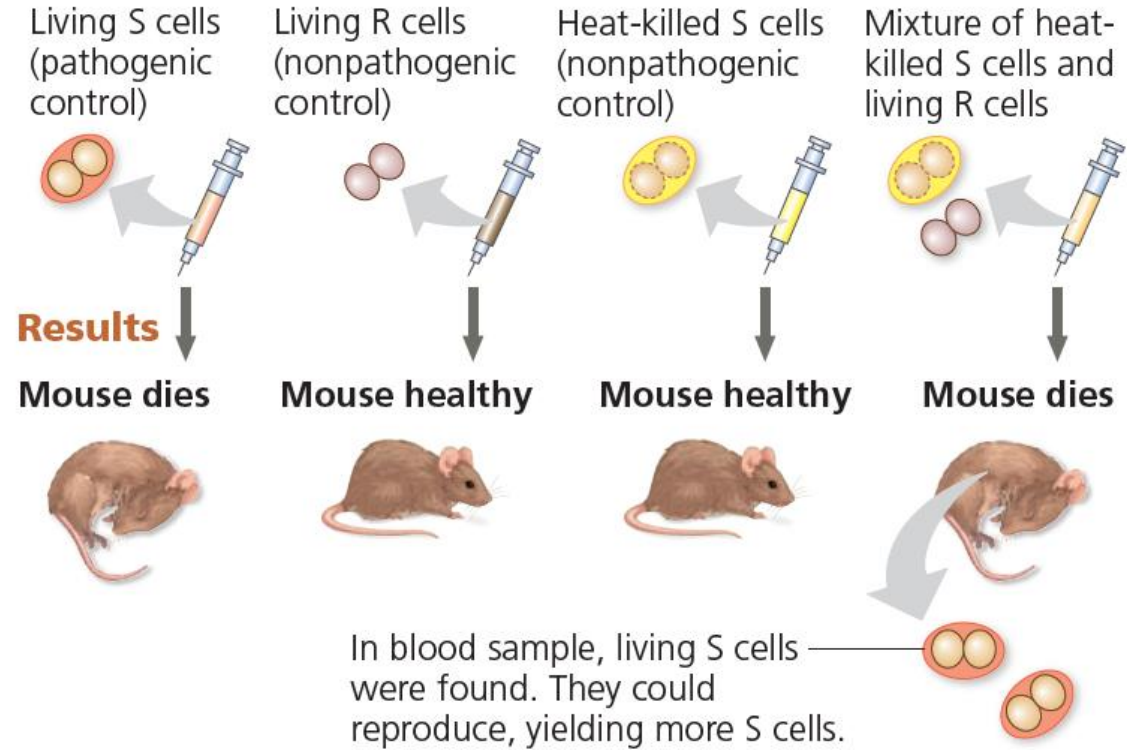


Bektaş Tepe
gezimania_tr



Griffith'in Dönüşüm Deneyi: Şaşırtan Gözlem

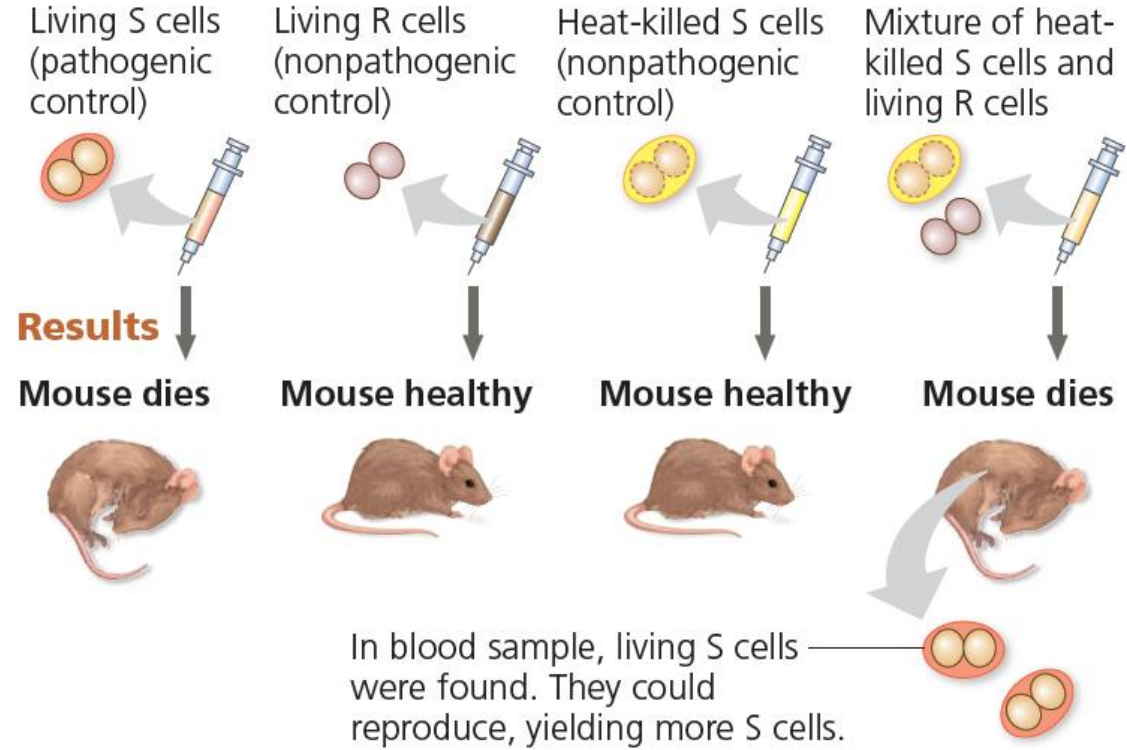
- 1928'de Frederick Griffith, pnömoniye karşı aşı geliştirmeye çalışırken *Streptococcus pneumoniae* ile çalışıyordu.
- Biri patojenik, diğeri zararsız iki bakteri suşu kullandı.
- Patojenik suş enjekte edildiğinde fare ölürken, zararsız suş enjekte edildiğinde fare hayatta kaldı.





Griffith'in Dönüşüm Deneyi: Şaşırtan Gözlem

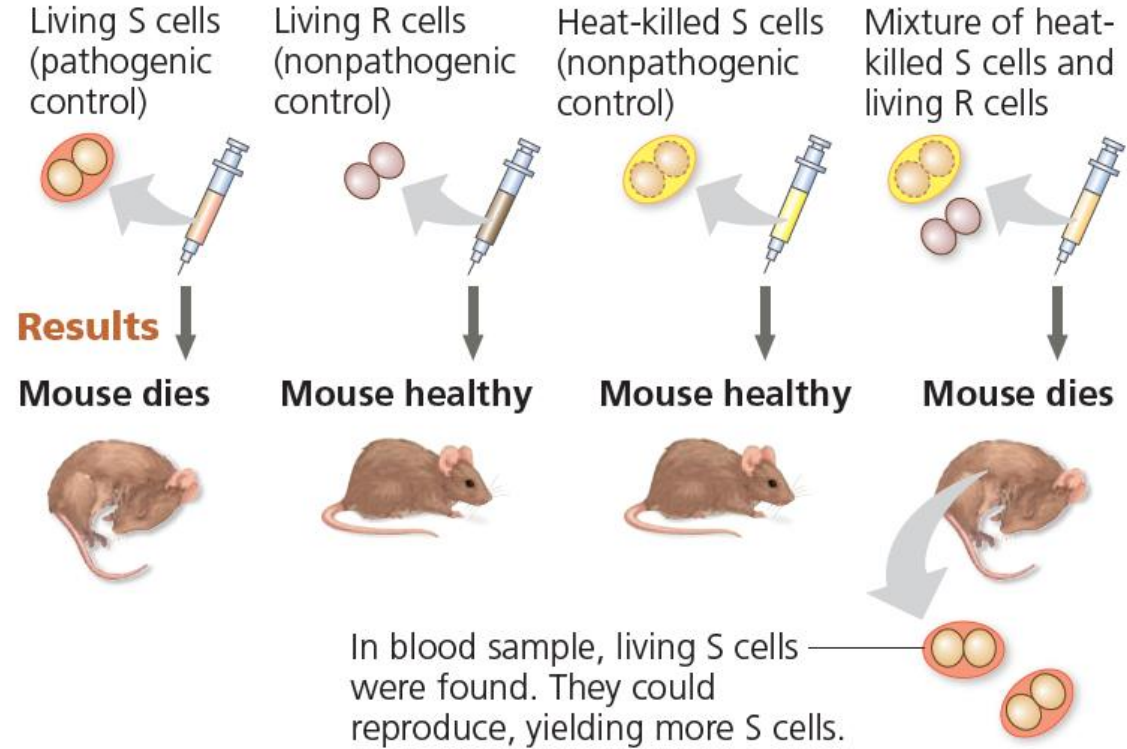
- Isıyla öldürülen patojenik hücre kalıntıları, zararsız canlı hücrelerle karıştırılınca fareler beklenmedik şekilde yine öldü.
- Yapılan incelemeler, bazı zararsız canlı hücrelerin patojenik hale geçtiğini ortaya koydu.
- Üstelik bu yeni patojenlik, oluşan kolonilerin tüm torunlarına geçti.





“Dönüşüm”ün Anlamı

- Griffith, kalıtsal değişimi oluşturan bir kimyasal bileşenin ölü patojenlerden canlı hücrelere geçtiğini düşündü.
- Bu olguya “transformasyon” adını verdi ve dönüşümü dış DNA’nın alınmasıyla genotip ve fenotipin değişmesi olarak tanımladı.
- Deney, kalıtımsal bilginin hücreler arasında aktarılabilirliğini gösterdi.
- Ancak dönüştürücü maddenin kimliği o aşamada bilinmiyordu.





Dönüştürücü Maddenin Kimliği: DNA

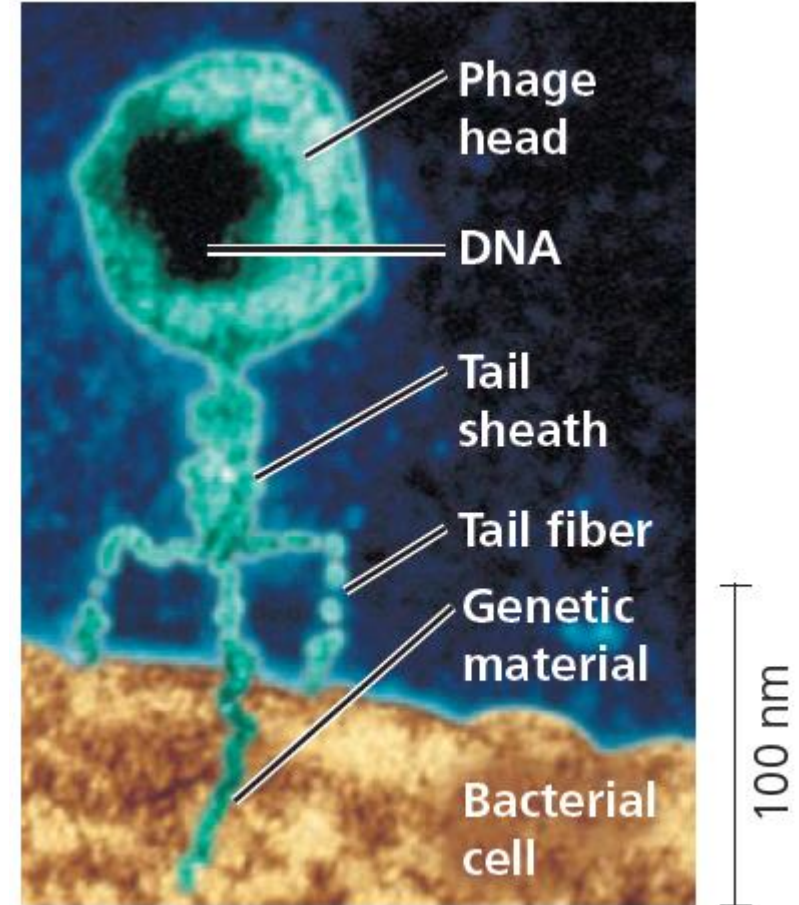
- Daha sonra Oswald Avery, Maclyn McCarty ve Colin MacLeod, dönüştürücü maddenin DNA olduğunu gösterdi.
- Yine de bazı bilim insanları proteini daha iyi aday görmeye devam etti.
- Bakteri genlerinin, karmaşık organizmaların genleriyle aynı ilkeleri paylaşıp paylaşmadığı da sorgulandı.
- Kuşkuların en büyük nedeni, o dönemde DNA hakkında bilginin henüz çok sınırlı olmasıydı.





Bakteriyofajlar ve DNA'nın Rolüne Dair İlk İpuçları

- Bakterileri enfekte eden virüslere bakteriyofaj denir ve araştırmalarda sıkça “faj” olarak anılır.
- Virüsler hücrelerden çok daha basittir ve temel olarak bir DNA ya da bazen RNA molekülü ile bunu saran protein kılıftan oluşur.
- Çoğalmak için bir hücreyi enfekte eder, hücrenin metabolik düzenini ele geçirir ve yeni virüsler üretir.





T2 Fajı, *E. coli* ve Temel Soru

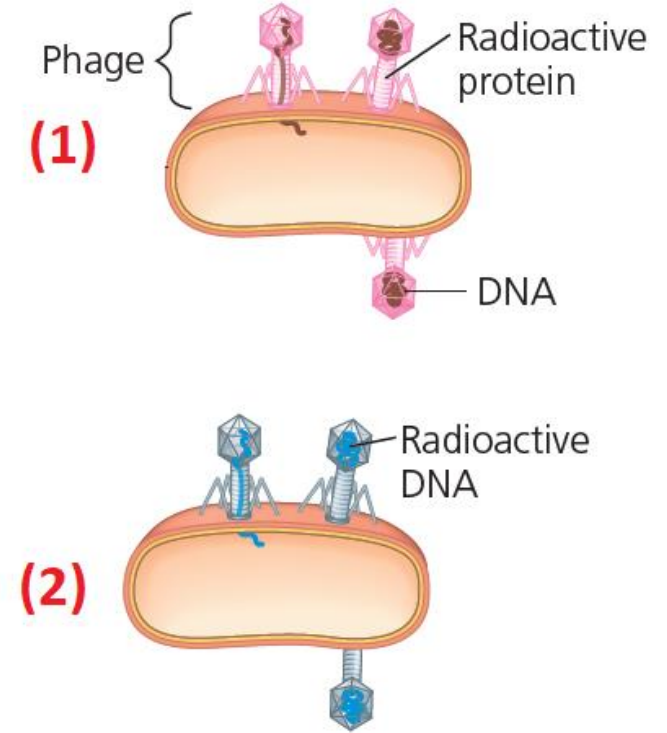
- 1952’de Alfred Hershey ve Martha Chase, T2 adlı bir fajın genetik materyalinin ne olduğunu sınavan deneyler yaptı.
- T2, *E. coli*’yi hızla bir “T2 üretim fabrikasına” dönüştürebilir ve hücre parçalandığında çok sayıda yeni faj açığa çıkar.
- O dönemde T2’nin neredeyse bütünüyle DNA ve proteinden oluştuğu biliniyordu.
- Temel soru şuydu hangi bileşen hücreyi yeniden programlıyor protein mi yoksa DNA mı





Hershey–Chase Deney Düzenneđi

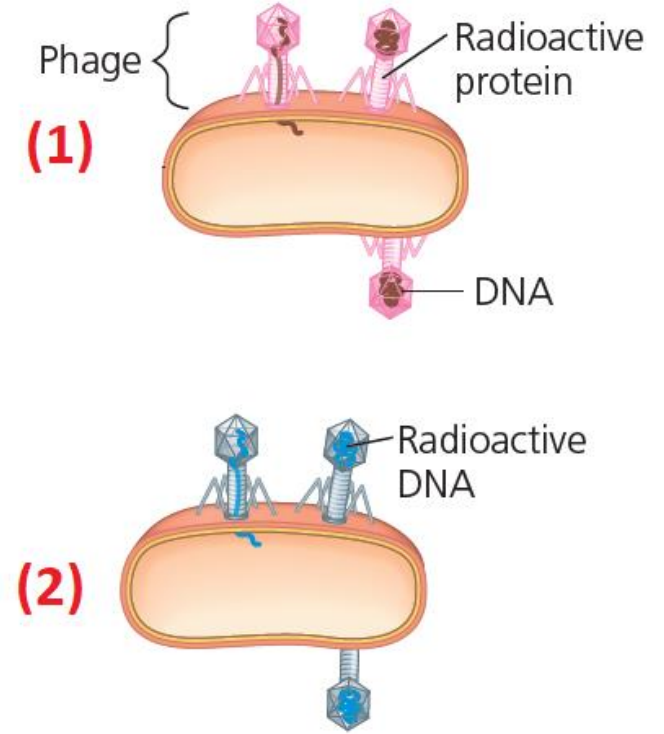
- Proteinleri izlemek için radyoaktif kükürt içeren fajlar, DNA'yı izlemek için radyoaktif fosfor içeren fajlar hazırlandı.
- Kükürt proteinde bulunur DNA'da bulunmaz bu nedenle kükürt yalnızca protein kılıfa işlendi.
- Fosfor ise fazlasıyla DNA'da yer alır protein kılıfta bulunmaz bu nedenle fosfor yalnızca DNA'yı etiketledi.





Enfeksiyon ve Hangi Molekül Hücreye Giriyor

- Radyoaktif proteinli ve radyoaktif DNA'lı fajlar ayrı ayrı, radyoaktif olmayan *E. coli* kültürlerine bulaştırıldı.
- Enfeksiyonun hemen ardından hücrelerin içine hangi etiketli molekülün girdiği sınıandı.
- İçeri giren bileşenin, hücreyi yeniden programlama potansiyeline sahip olduğu varsayıldı.

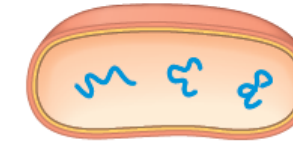




Bulgular ve Çıkarım

- Faj DNA'sının konak hücreye girdiği, ancak faj proteinlerinin girmediği saptandı.
- Enfeksiyon tamamlandığında, *E. coli*'den çıkan yeni fajların bir kısmında radyoaktif fosfor bulundu.
- Bu sonuç DNA'nın enfeksiyon sürecinde etkin rol oynadığını ve talimat taşıyan molekül olduğunu gösterdi.
- Hershey–Chase çalışması, en azından bazı virüslerde kalıtım materyalinin nükleik asitler olduğunu güçlü biçimde ortaya koydu.

Radioactivity
(phage protein)
found in liquid



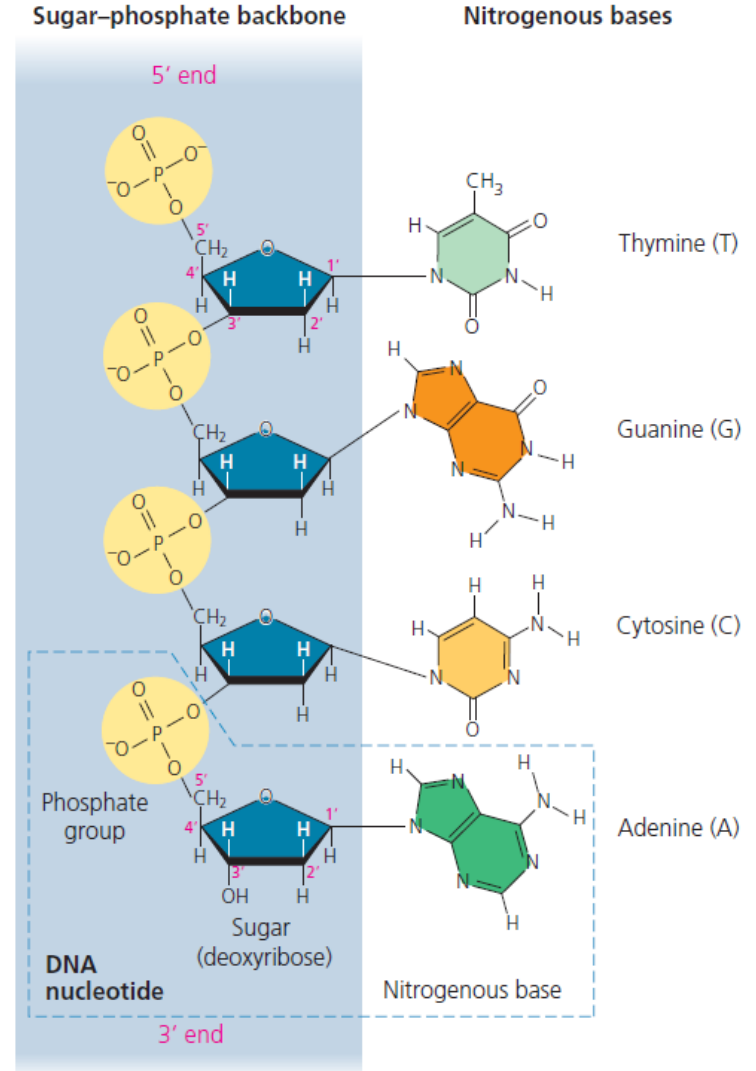
**Radyoaktivite
içeri girer**

Radioactivity
(phage DNA)
found in pellet



DNA'nın Yapı Taşları ve Chargaff'ın Yaklaşımı

- DNA, bir azotlu baz, deoksiriboz şekeri ve fosfattan oluşan nükleotidlerin polimeridir.
- Bazlar adenin (A), timin (T), guanin (G) ve sitozin (C) olarak adlandırılır.
- Erwin Chargaff, farklı organizmalardan izole ettiği DNA'ların baz bileşimlerini sistematik olarak analiz etti.





Türler Arası Bileşim Farklılığı ve DNA'nın Adaylığı

- 1950'de Chargaff, DNA baz bileşiminin türden türe değiştiğini rapor etti.
- Örneğin A yüzdesi deniz kestanesinde 32.8 iken insanda 30.4 ve E. coli'de 24.7 olarak bulundu.
- Bu moleküler çeşitlilik, DNA'yı kalıtım materyali için daha inandırıcı bir aday haline getirdi.





Chargaff Kuralları ve Örnek Gözlem

- Chargaff iki düzenlilik tanımladı A ile T oranları birbirine yaklaşık eşittir G ile C oranları da birbirine yaklaşık eşittir.
- Deniz kestanesi DNA'sında A % 32.8, T % 32.1, G % 17.7 ve C % 17.3 olarak raporlandı.
- Yüzdelerin tam eşit olmaması kullanılan tekniklerin sınırlılığı ile açıklanmaktadır.
- Bu kuralların temel nedeni, çift sarmal keşfedilene kadar açıklanamamıştı.





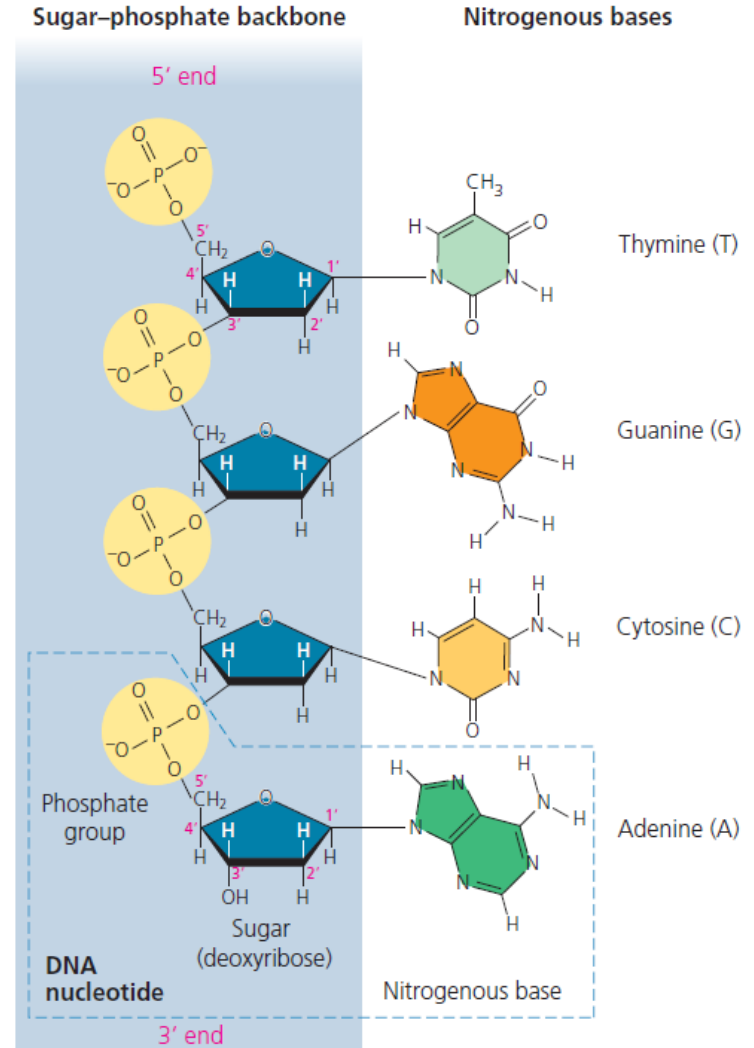
DNA'nın Yapısı Neden Araştırıldı

- DNA'nın kalıtımın taşıyıcısı olduğu kabul edilince, yapının bu rolü nasıl açıkladığı sorusu temel hedefe dönüştü.
- Araştırma odağı, DNA'nın biçiminin kalıtımsal işleyişi nasıl mümkün kıldığına kaydı.
- Bu arayış, moleküler biyolojinin yönünü belirleyen bir bilimsel sorgulama örneği oldu.



DNA Sarmalının Temel Taşı: Nükleotid

- Her nükleotid bir azotlu baz, bir deoksiriboz şekeri ve bir fosfat grubundan oluşur.
- Komşu nükleotidler, şeker ile fosfat arasında kurulan kovalent bağlarla “iskelet”i oluşturur ve bazlar bu iskeletin içe bakan kısımlarından uzanır.
- Zincirin yönlülüğü 5' ucunda fosfat, 3' ucunda şekerin OH grubu olacak biçimde düzenlenir ve bu ayırım şeker halkasındaki karbon numaralarına dayanır.





Üç Boyutlu Yapıyı Bulma Yarış

- 1950'lerin başında, DNA'nın kovalent düzeni biliniyordu ve odak üç boyutlu mimariye çevrildi.
- Linus Pauling, Maurice Wilkins ve Rosalind Franklin bu konuda çalışan önemli bilim insanları arasında yer aldı.
- Tam çözüme ilk ulaşanlar James Watson ve Francis Crick oldu.

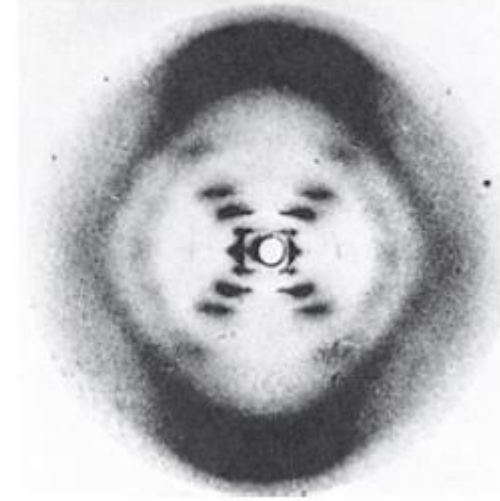


X-Işını Kristalografisi Ortaya Ne Koydu?

- Watson, Cambridge'e geldiğinde Crick'in protein yapısı çalışmalarında kullandığı X-ışını kristalografisi tekniğiyle tanıştı.
- Watson, Wilkins'in laboratuvarında Rosalind Franklin'in çektiği bir DNA X-ışını kırınım görüntüsünü gördü ve bunun helikal bir düzeni işaret ettiğini fark etti.
- Kırınım desenindeki noktalar ve gölgeler, hizalanmış DNA liflerinden geçen X-ışınlarının sapmasına karşılık gelir.



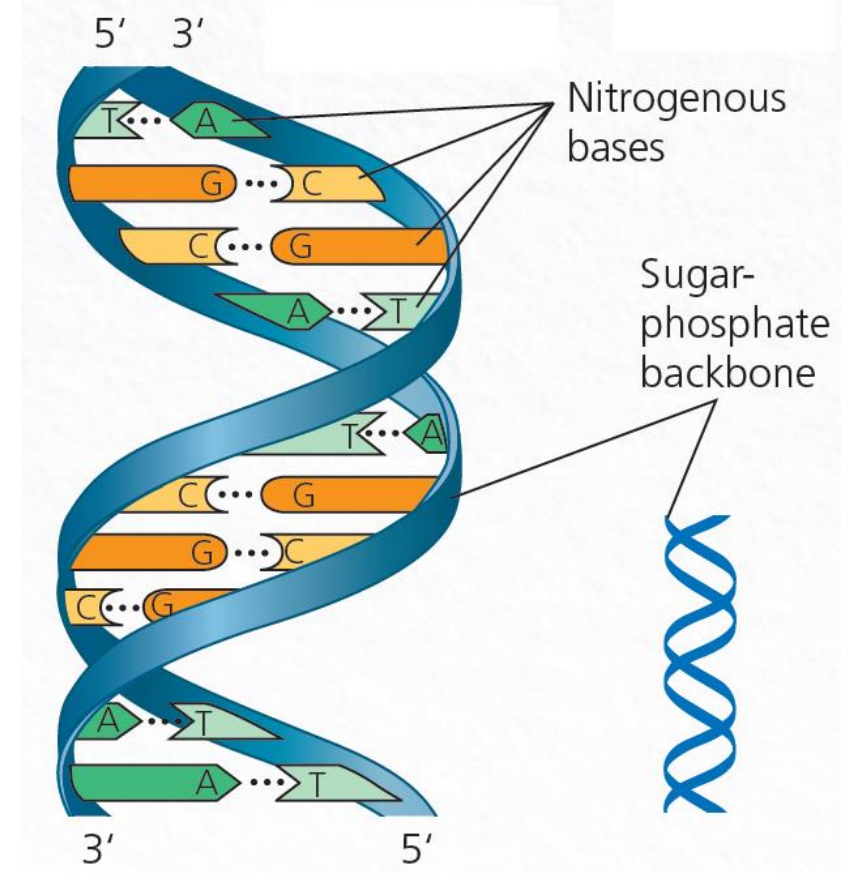
◀ Rosalind Franklin





Çift Sarmal Fikrinin Güçlenmesi

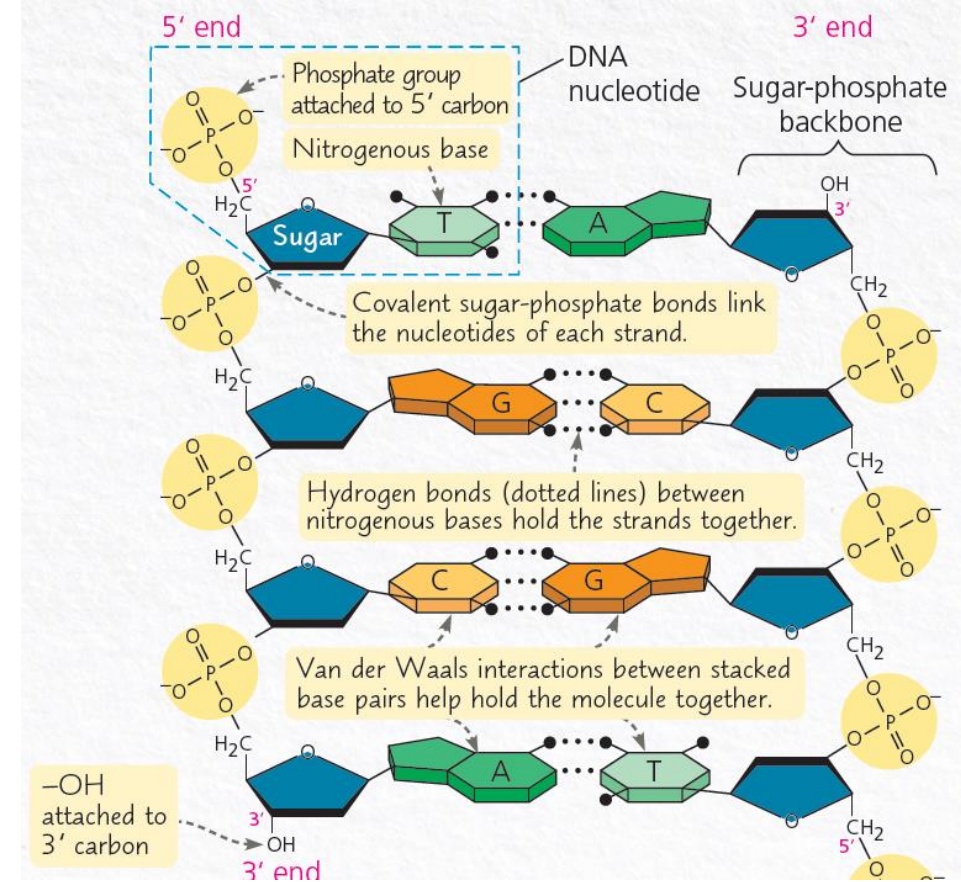
- Franklin'in verileri heliksin genişliği ve bazların aralığına dair önceki bulguları destekledi.
- Desen, Linus Pauling'in kısa süre önce önerdiği üç zincirli modele karşı çıkarak iki zincirli bir yapıyı ima etti.
- İki zincirli yapı "çift sarmal" kavramını doğrudan gündeme taşıdı.





Model Kurmak ve Antiparalel Düzen

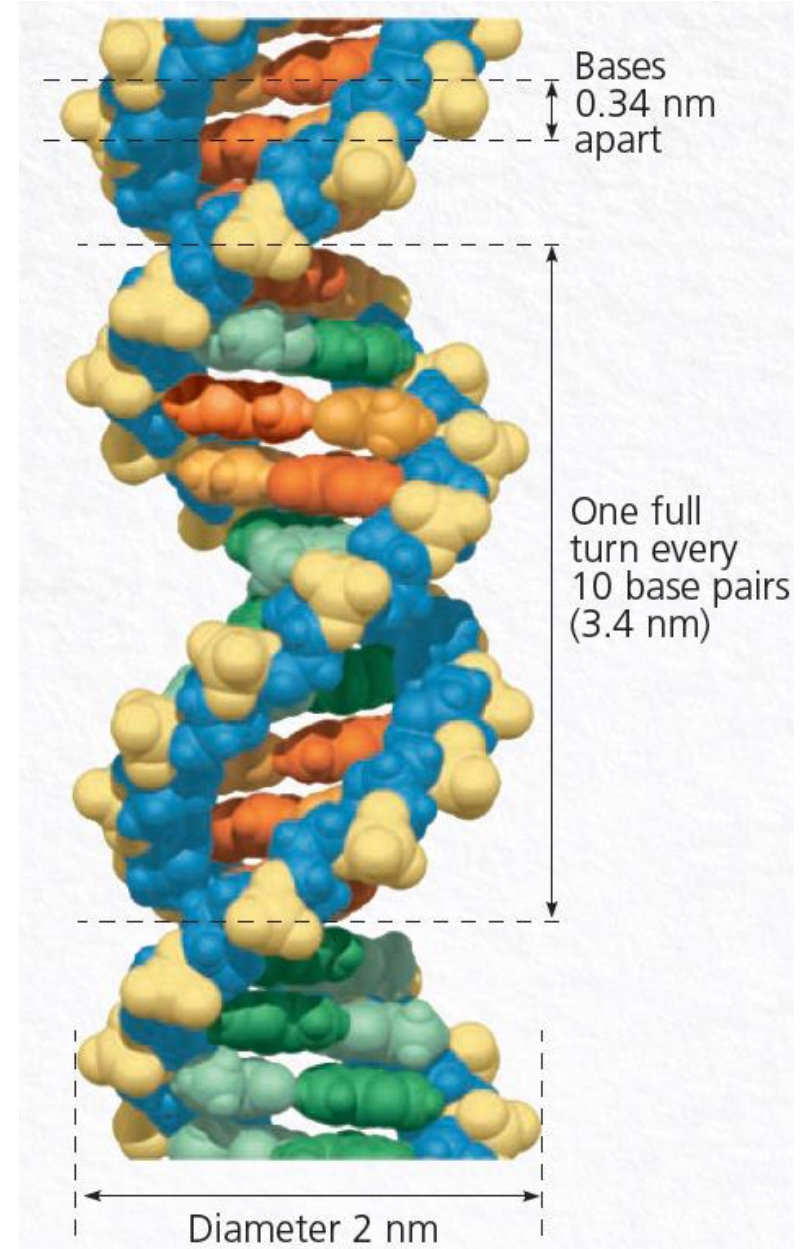
- Watson ve Crick, X-ışını ölçümleri ve DNA kimyasına dair bilinenlerle, Chargaff eşdeğerlik kuralını da gözetten modeller kurdu.
- Franklin'in sonuçları, şeker-fosfat iskeletlerinin dışta yer aldığını ve hidrofob bazların içte korunduğunu düşündürdü; Watson bu düzeni temel alan bir model inşa etti.
- İki iskelet antiparalel ilerlemektedir.





Heliksin Adımları ve Ölçüler

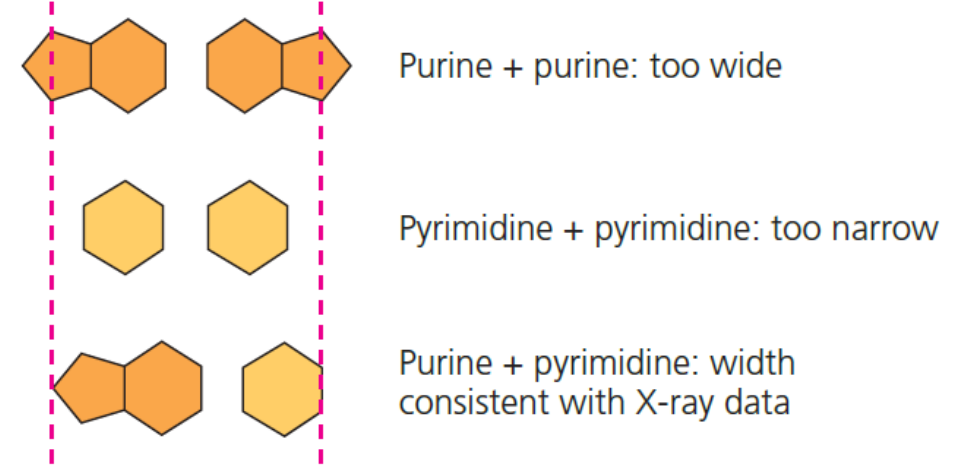
- Franklin'in X-ışını verileri heliksin her 3.4 nm'de bir tam tur yaptığını ortaya koydu.
- Bazlar 0.34 nm aralıklarla dizilir ve her tam turda on katman baz çifti yer alır.
- Bu düzen, halat merdiven benzetmesiyle anlatılabilir.





Neden A-T ve G-C Birlikte?

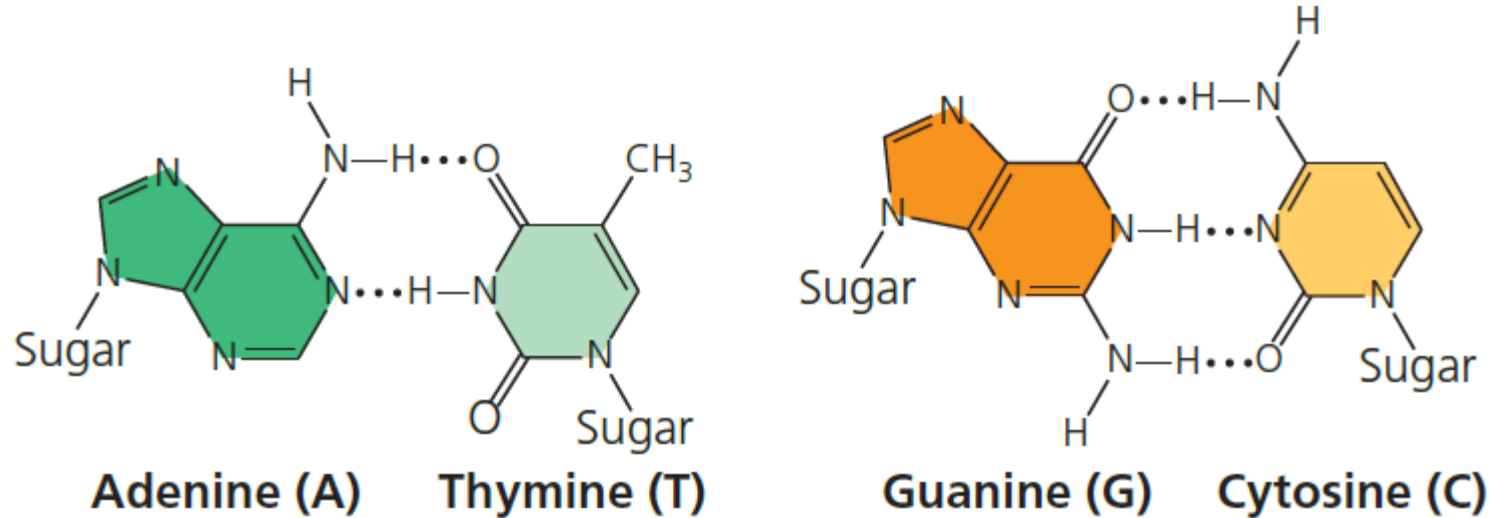
- Başlangıçta “aynı tür bazlar eşleşir” düşüncesi, çift sarmalın çapının uniform olmasını açıklayamadı.
- Pürinler iki halkalı, pirimidinler tek halkalıdır; bir pürin ile bir pirimidin eşleştiğinde çap sabit kalır.
- Bu nedenle A, T ile ve G, C ile eşleştiğinde heliksin genişliği tutarlı olur.





Hidrojen Bağlarıyla Özgüllük

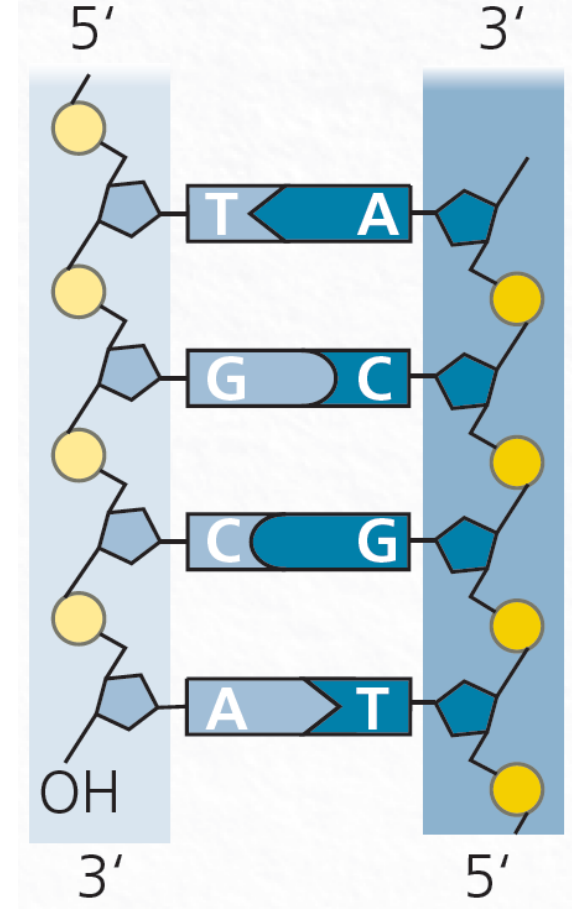
- Bazların yan grupları belirli sayıda hidrojen bağı kurabilecek biçimde konumlanır.
- Adenin yalnızca timinle iki hidrojen bağı kurar; guanin yalnızca sitozinle üç hidrojen bağı kurar.
- Bu eşleşme özgüllüğünün şematik gösterimi aşağıda verilmiştir.





Chargaff Oranlarının Açıklanması

- Bir zincirde A varsa karşı zincirde T bulunur; G varsa karşısında C yer alır.
- Böylece her canlıda A miktarı T'ye, G miktarı C'ye eşit olur; modern dizileme teknikleri bu eşitliği doğrulamıştır.
- Baz eşleşme kuralları kombinasyonları belirler ancak dizilimin sırasını sınırlamaz; her gen kendine özgü bir baz dizisine sahiptir.





1953 Makalesi ve Bilime Etkisi

- Watson ve Crick, Nisan 1953'te DNA'nın çift sarmal modelini bir sayfalık özlü bir makaleyle duyurdu.
- Watson, Crick ve Wilkins 1962'de Nobel Ödülü'nü aldı; Rosalind Franklin 1958'de vefat ettiği için ödüle aday olamadı.
- Modelin en çarpıcı yanı, DNA'nın kopyalanma mekanizmasını yapısının kendisinin ima etmesiydi.



Yapı-İşlev Bağı ve Kopyalanma Fikrinin Doğuşu

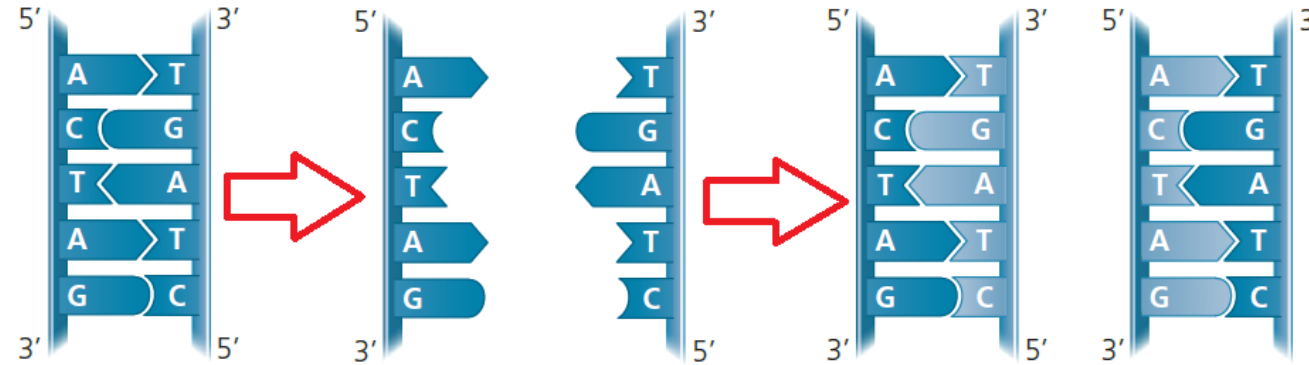
- DNA'nın çift sarmal yapısı, yapı ile işlev arasındaki ilişkiyi somut biçimde gösterir.
- Watson ve Crick, özgül baz eşleşmesi fikriyle çift sarmal modeline ulaştıklarında kopyalanma olasılığını da sezdiler.
- “Önerdiğimiz özgül eşleşme genetik materyal için olası bir kopyalama mekanizmasını akla getiriyor” ifadesi bu sezgiyi özetler.





Temel İlke: Kalıp İpliğe Göre Baz Eşleşmesi

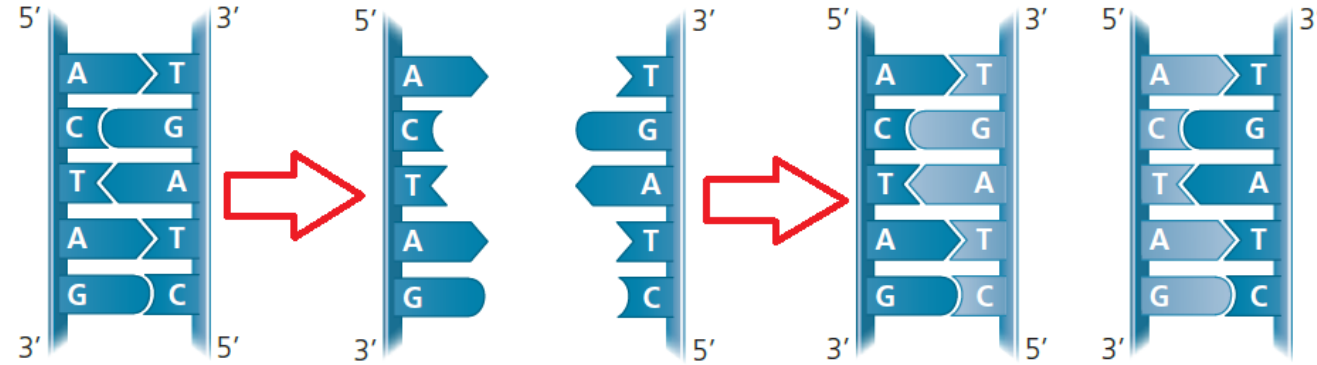
- Watson ve Crick'in hipotezine göre DNA, birbirine tamamlayıcı iki kalıptan oluşur.
- Çift sarmal kopyalanmadan önce hidrojen bağları çözülür, iki zincir açılarak birbirinden ayrılır.
- Her bir zincir, üzerine yeni bir eş zincirin kurulacağı kalıp görevi görür.
- Sonuçta, başlangıçtaki tek çift sarmalın yerini dizilimi aynen korunmuş iki çift sarmal alır.





Tamamlayıcılık

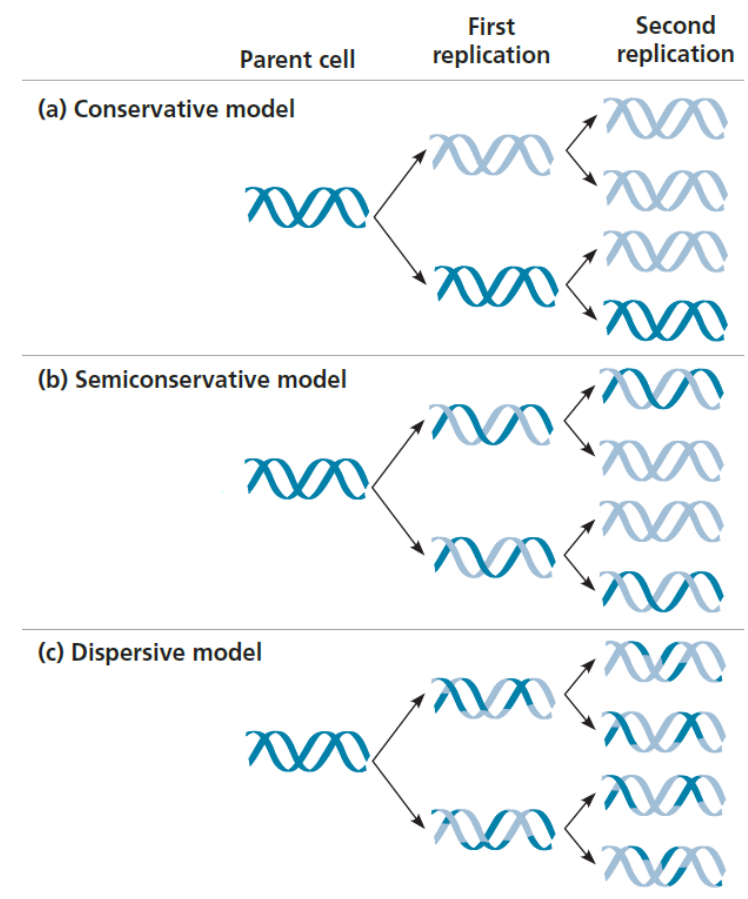
- İki zincir tamamlayıcıdır ve biri kapatılsa bile diğeri üzerinden kapalı zincirin dizisi çıkarılabilir.
- Kopyalama sırasında nükleotitler kalıp ipliğe, baz eşleşme kurallarına uyarak sıralanır ve yeni iplik bağlanarak uzar.
- Başlangıçtaki tek çift sarmaldan kısa süre sonra ikisi de “ebeveyn” molekülün kopyası olan iki çift sarmal elde edilir; bu durum fotoğraf negatif-pozitif benzetmesiyle açıklanır.





Replikasyon Modelleri: Yarı-Korunumlu, Korunumlu ve Dispersif

- Yarı-korunumlu modele göre her yeni DNA molekülü bir eski ve bir yeni iplik içerir.
- Korunumlu modele göre iki ebeveyn ipliği yeniden birleşir ve ebeveyn molekül bütünüyle korunur.
- Dispersif modele göre kopyalama sonrası tüm ipliklerde eski ve yeni DNA parçaları bir arada bulunur.





Modelin Sınanması İhtiyacı

- Çift sarmal yayımlandıktan sonra bu kopyalanma modeli bir süre doğrudan test edilemedi.
- Gerekli deneyler kavramsal olarak basit, fakat uygulamada zorlu teknik adımlar içeriyordu.
- Modeller geçerliliğini, doğrudan deneysel kanıtla dışlanıncaya dek korudu.



Meselson–Stahl'ın Klasik Deneyi

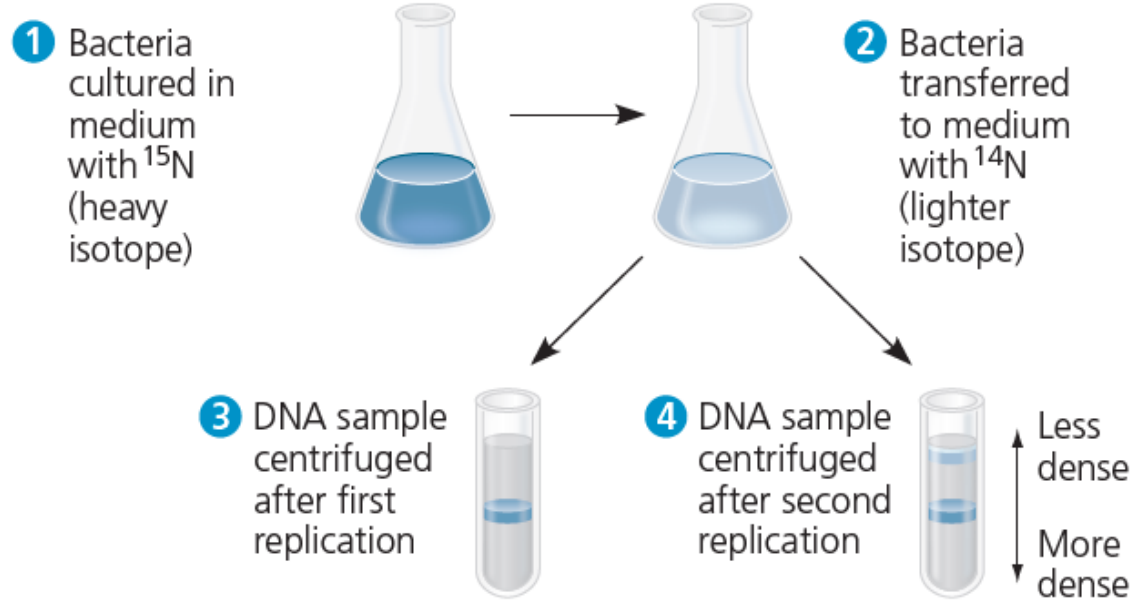
- Meselson ve Stahl, 1950'lerin sonlarında Caltech'te yaptıkları hazırlıkları takiben üç modeli ayırt edecek bir düzenek tasarladılar.
- Deney, yarı-korunumlu modelin öngörülerini destekleyen sonuçlar verdi.
- Bu çalışma, zarif tasarımıyla biyolojide klasik bir örnek olarak kabul edilir.





Deneyin Aşamaları

- *E. coli*'yi, ağır bir azot izotopu olan ^{15}N ile işaretlenmiş nükleotid öncülleri içeren bir ortamda birkaç nesil boyunca kültüre aldılar.
- Daha sonra bakterileri, yalnızca daha hafif bir izotop olan ^{14}N içeren bir ortama aktardılar.
- İlk DNA replikasyonundan sonra bir örnek, ikinci replikasyondan sonra bir örnek daha aldılar.
- Örneklerdeki bakterilerden DNA izole ettiler ve ardından farklı yoğunluklardaki DNA'ları ayırmak için her DNA örneğini santrifüjlediler.





Deneyin Sonuçları

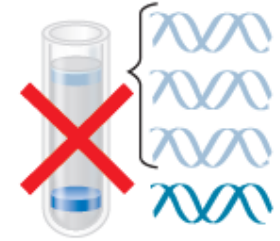
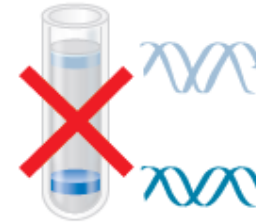
- ^{14}N ortamındaki ilk replikasyon, bir hibrit (^{15}N - ^{14}N) DNA bandı üretti.
- Bu sonuç, korunumlu modeli ortadan kaldırdı.
- İkinci replikasyon ise hem hafif hem de hibrit DNA üretti; bu sonuç, dispersif modeli çürütüp yarı korunumlu modeli destekledi.
- Dolayısıyla, DNA replikasyonunun yarı korunumlu olduğu sonucuna vardılar.

Predictions:

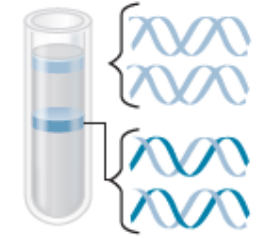
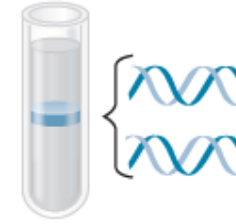
First replication

Second replication

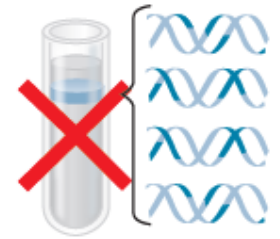
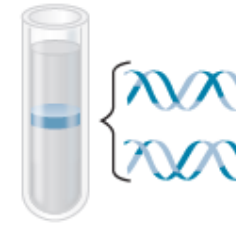
Conservative model



Semiconservative model



Dispersive model





Basit İlke, Karmaşık Gerçeklik

- DNA kopyalanmasının ilkesi yalındır, ancak uygulamada karmaşık biyokimyasal düzenekler devreye girer.
- Sürecin yürütülmesi ve onarımı, çok sayıda proteinin uyumlu çalışmasını gerektirir.
- Bir sonraki adımda bu “biyokimyasal jimnastik” ayrıntılarıyla incelenecektir.



DNA Kopyalanmasının Ölçeği ve Kusursuzluğu

- *E. coli*'nin tek dairesel kromozomu yaklaşık 4,6 milyon baz çifti içerir ve elverişli koşullarda bir saatten kısa sürede kopyalanıp iki özdeş hücre oluşturur.
- İnsan somatik bir hücrede çekirdekte 46 DNA molekülü bulunur ve toplamda yaklaşık 3 milyar baz çifti yer alır.
- Bu bilgi miktarı, bu yazı boyutunda yazılsaydı yaklaşık 1.400 biyoloji ders kitabını doldururdu.
- Hücrelerimiz interfazın S evresinde bu devasa DNA'yı birkaç saat içinde çok az hata ile kopyalar; hata oranı yaklaşık her 10 milyar nükleotidde bir kadardır.





Replikasyon Makinesi ve Organizmalar Arası Benzerlik

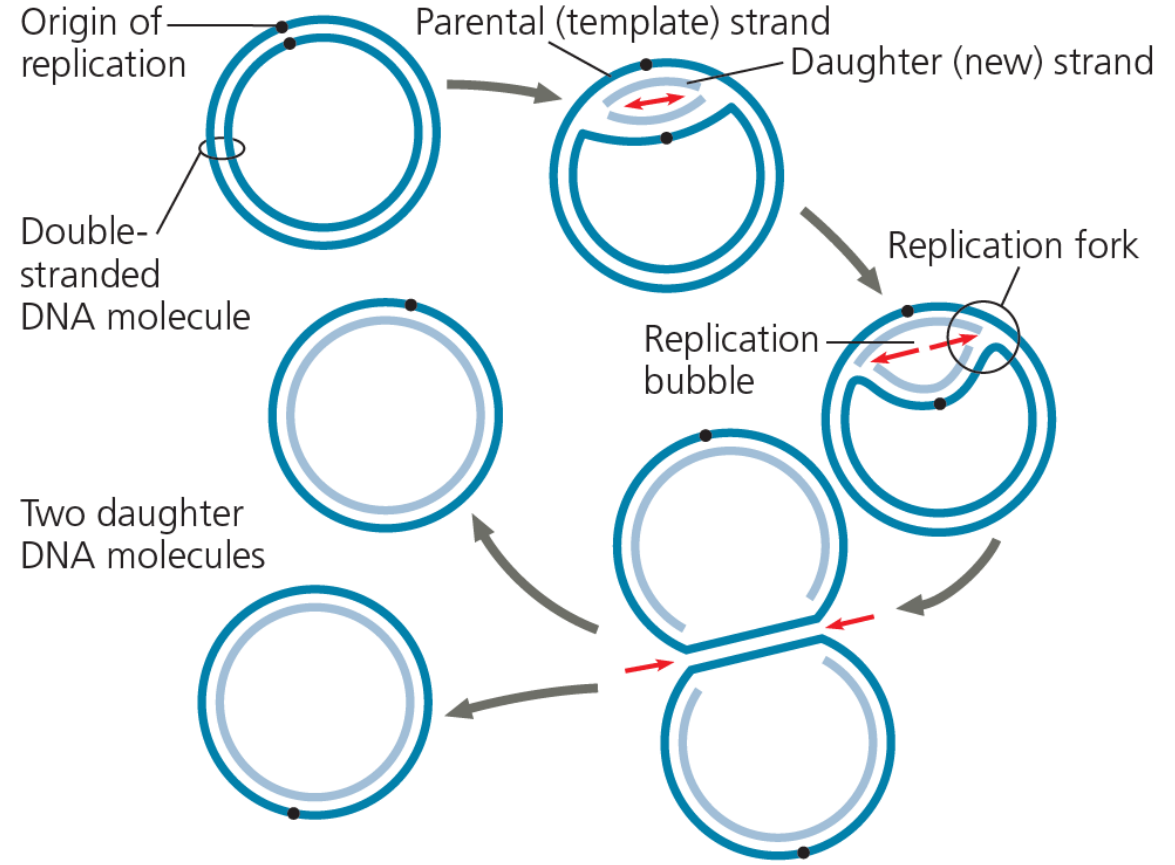
- DNA replikasyonuna bir düzineden fazla enzim ve protein birlikte katılır.
- Mekanizmanın ayrıntıları bakterilerde daha iyi anlaşılmış olmakla birlikte burada temel adımlar *E. coli* üzerinden aktarılır.
- Elde edilen bulgular, ökaryotlarda da sürecin özünde benzer işlediğini düşündürür.
- Yani prokaryotlar ve ökaryotlar arasında replikasyonun temel mantığı büyük ölçüde ortaktır.





Replikasyon Orijinleri ve Replikasyon Baloncuğu (Bakteriler)

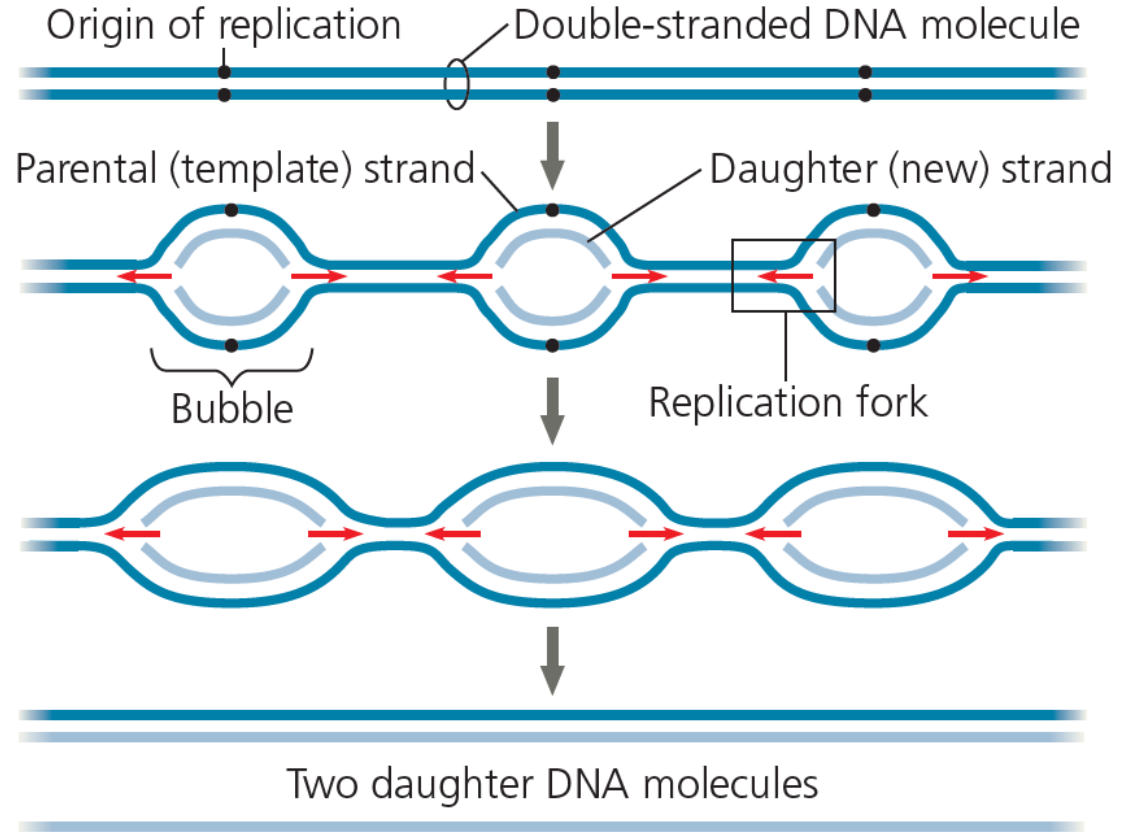
- Kromozomal DNA replikasyonu belirli nükleotid dizilerine sahip replikasyon başlangıç noktalarında başlar.
- *E. coli*'nin dairesel kromozomu tek bir başlangıç noktasına sahiptir.
- Başlatıcı proteinler bu diziyi tanır, iki zinciri ayırır ve bir replikasyon baloncuğu açar.
- Kopyalama baloncuğun her iki yönüne doğru ilerler ve tüm molekül kopyalanana dek sürer.





Çoklu Replikasyon Orijinleri ve Baloncukların Kaynaşması (Ökaryotlar)

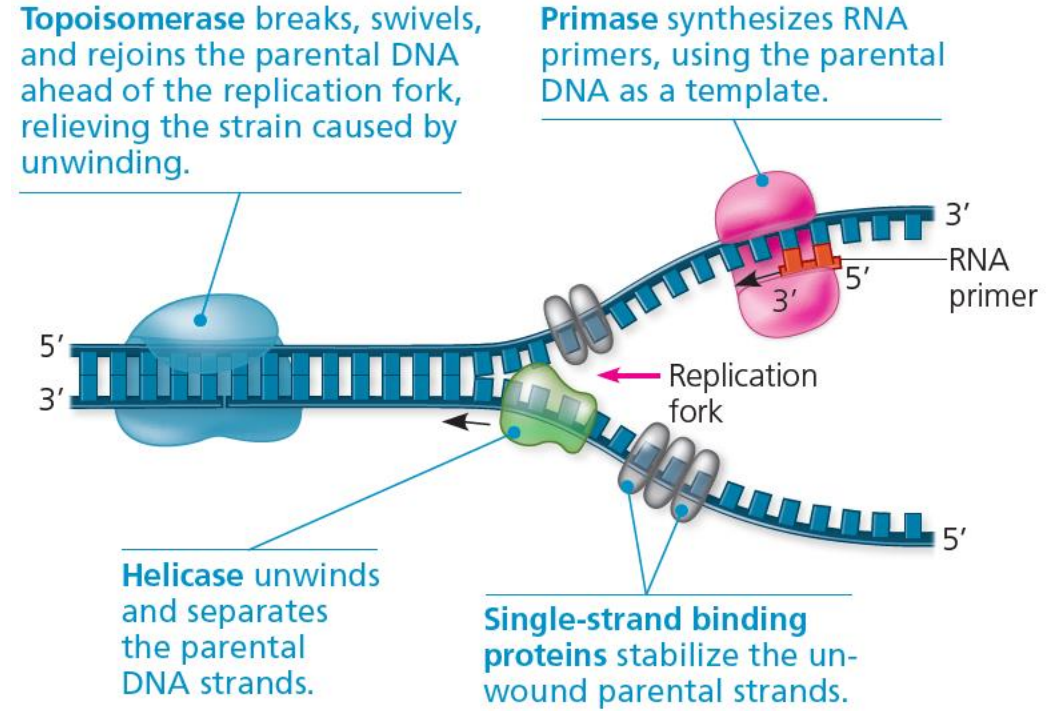
- Ökaryotik kromozomlar yüzlerce hatta birkaç bin başlangıç noktasına sahip olabilir.
- Birçok replikasyon baloncuğu aynı anda oluşur ve uzun DNA moleküllerinin hızlı kopyalanması için zamanla birbirleriyle kaynaşır.
- Ökaryotik replikasyon da her başlangıçtan iki yöne doğru ilerler.





Replikasyon Çatalı ve Zincirlerin Açılması

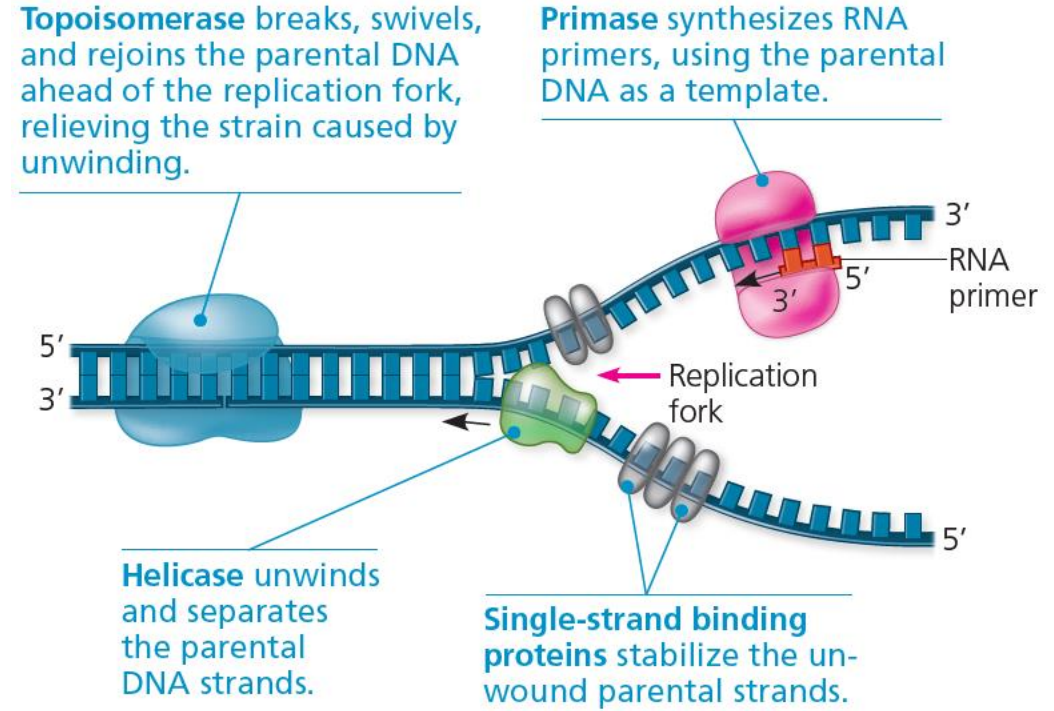
- Her baloncuğun uçlarında, ebeveyn DNA zincirlerinin açıldığı Y biçimli bölgeler replikasyon çatalı adını alır.
- Helikaz enzimleri çatalda çift sarmalı gevşetir ve iki ebeveyn zinciri ayırarak kalıp olarak erişilebilir kılar.
- Tek zincire bağlanan proteinler (SSBP) ayrılan DNA'yı yeniden eşleşmekten alıkoyar.
- Topoizomeraz, çatalın önündeki gerilimi azaltmak için DNA zincirlerini kırar, döndürür ve yeniden birleştirir.





Yeni Zincirin Temeli: Kalıp ve Başlangıç İhtiyacı

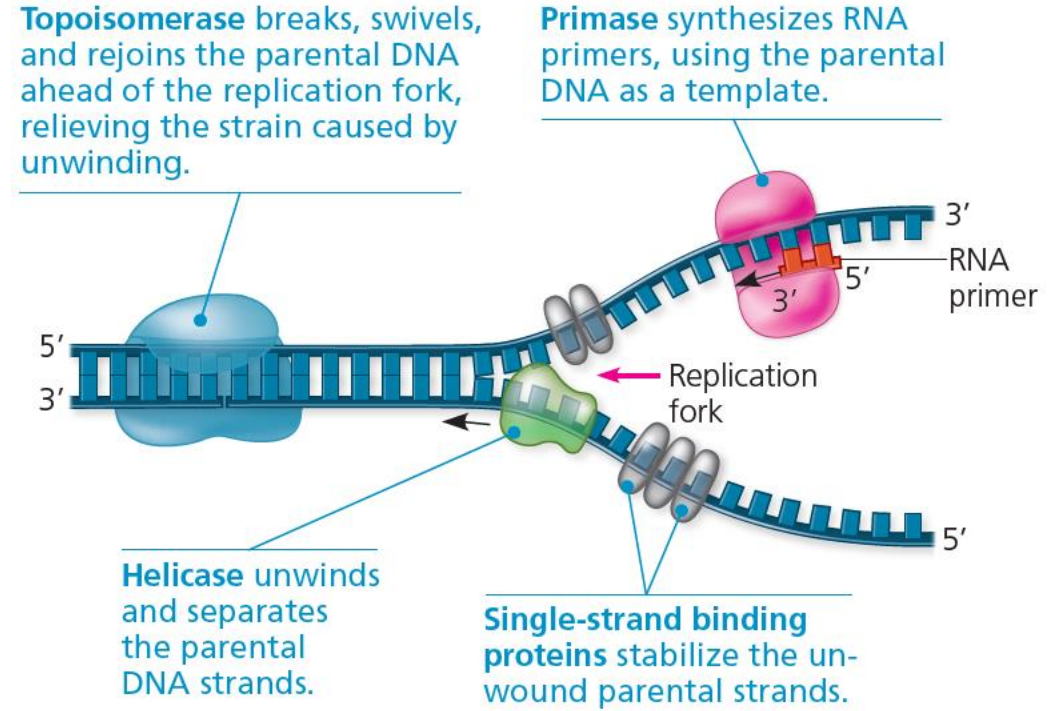
- Açılmış ebeveyn DNA iplikleri, yeni tamamlayıcı ipliklerin sentezi için kalıp görevi görür.
- DNA sentezleyen enzimler senteze sıfırdan başlayamaz, yalnızca var olan bir zincirin ucuna nükleotid ekleyebilir.
- Başlangıç için kısa bir nükleik asit parçasına ihtiyaç vardır (primer) ve bu parça DNA değil RNA'dır.
- Yeni DNA zinciri daima RNA primerinin 3' ucundan başlamış olur.





Primaz ve RNA Primeri

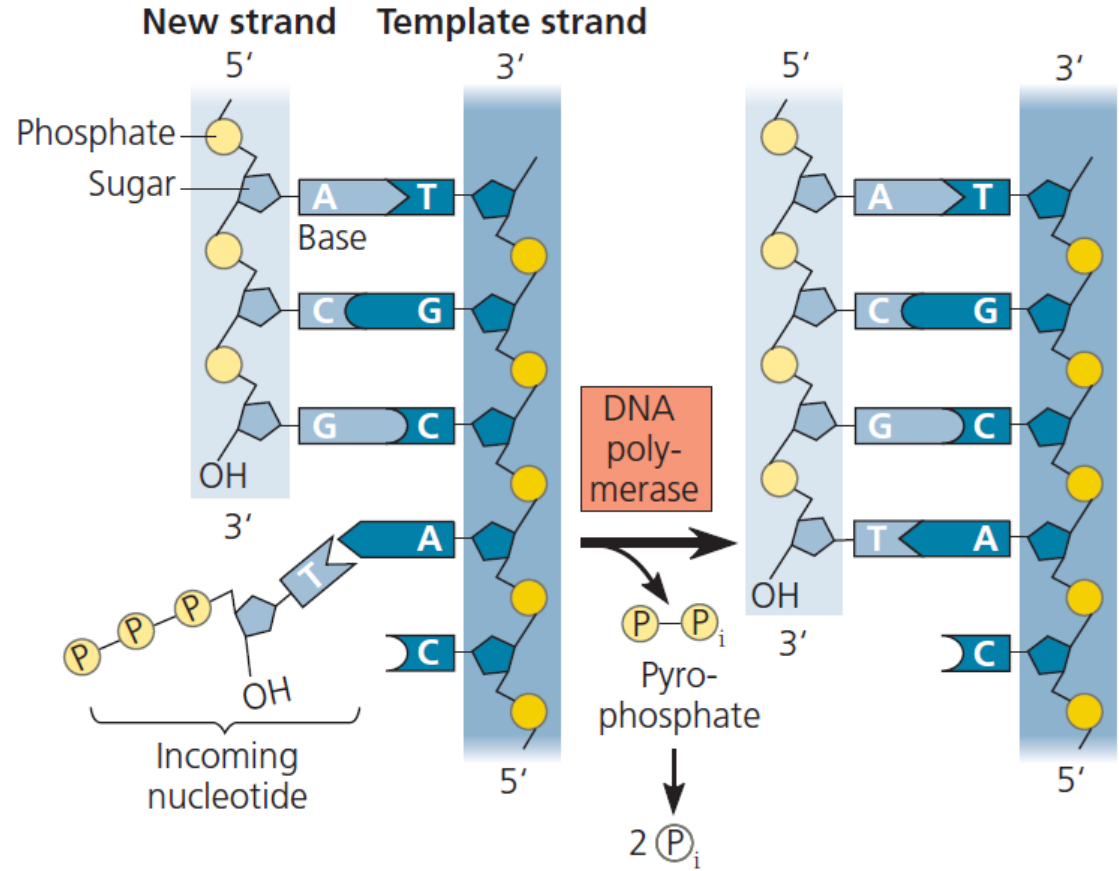
- Primer adı verilen kısa RNA zinciri primaz enzimi tarafından sentezlenir.
- Primaz, kalıp DNA'yı okuyarak önce tek bir RNA nükleotidi koyar ve sonra nükleotidleri teker teker ekler.
- Tamamlanan primer genellikle 5–10 nükleotid uzunluğundadır ve kalıp iplikle baz eşleşmesi yapar.
- Bu primer, DNA polimerazın replikasyonu devam ettireceği başlangıç noktasını oluşturur.





DNA Polimerazların Genel İlkeleri

- DNA polimerazlar yeni DNA'yı, var olan bir zincirin 3' ucuna nükleotid ekleyerek uzatır.
- Çoğu DNA polimeraz bir primer ve tamamlayıcı bir DNA kalıp ipliği olmadan çalışmaz.
- *E. coli*'de başlıca iki enzim görev alır, DNA polimeraz III ve DNA polimeraz I.
- Ökaryotlarda durum daha çeşitlidir, en az 11 farklı DNA polimeraz tanımlanmıştır ancak temel ilkeler aynıdır.





Uzama Aşamaları ve Hız

- *E. coli*'de DNA polimeraz III, RNA primerine bir DNA nükleotidi ekleyerek başlar ve uzatmayı sürdürür.
- Bakterilerde uzama hızı saniyede yaklaşık 500 nükleotiddir.
- İnsan hücrelerinde uzama hızı saniyede yaklaşık 50 nükleotittir.
- Bu hızlar, hücre tipine ve koşullara bağlı süreçlerin genel bir görünümünü sunar.



dATP ve ATP Arasındaki İnce Fark

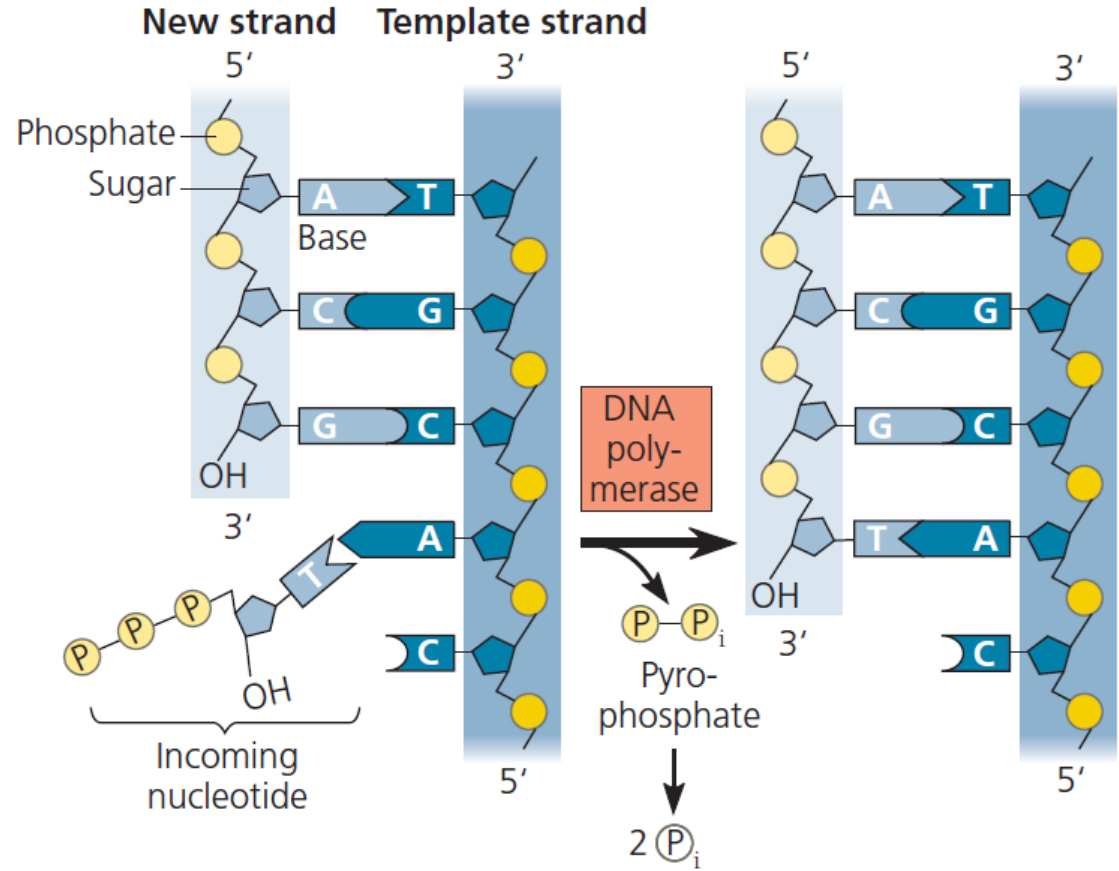
- DNA sentezinde eklenen her bir yapıtaşı, bir şeker, bir baz ve üç fosfat grubu taşır.
- Enerji metabolizmasında bildiğimiz ATP ile DNA sentezinde kullanılan dATP arasındaki temel fark şeker türüdür.
- ATP’de şeker riboz iken dATP’de şeker deoksiribozdur.
- Üç fosfatlı kuyruk, birikmiş negatif yük nedeniyle kimyasal olarak tepkiseldir.





Polimerleşmenin Kimyası

- DNA polimeraz, her monomerin eklenmesini bir dehidrasyon reaksiyonu ile katalizler.
- Her eklemede iki fosfat grubu ayrılır ve pirofosfat olarak uzaklaşır.
- Pirofosfatın iki inorganik fosfata hidrolizi eşlenik ve ekzergonik bir tepkimedir.
- Bu hidroliz, polimerleşmenin ileri yönde ilerlemesine yardımcı olur.





Özet: Başlat, Uzat, Enerjiyle Sürdür

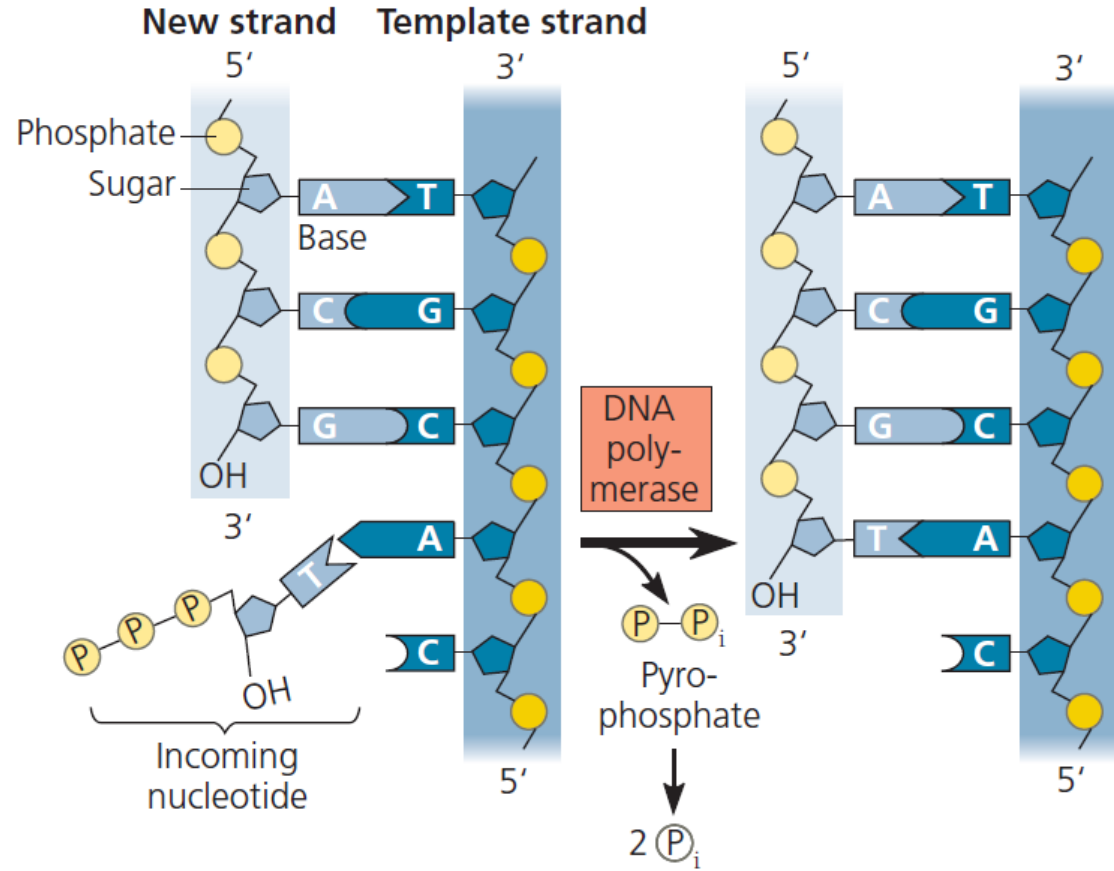
- Başlatma, primaz tarafından yerleştirilen kısa RNA primeri ile güvence altına alınır.
- Uzatma, DNA polimerazların 3' uca nükleotid eklemesiyle kesintisiz ilerler.
- Enerji, nükleotidlerin üç fosfatlı yapısından ve pirofosfat hidrolizinden pratik olarak sağlanır.
- Tüm süreç, kalıp ipliğe sadık baz eşleşmesi prensibiyle yüksek doğrulukta yürür.





DNA'da Yönlülük ve Antiparalellik

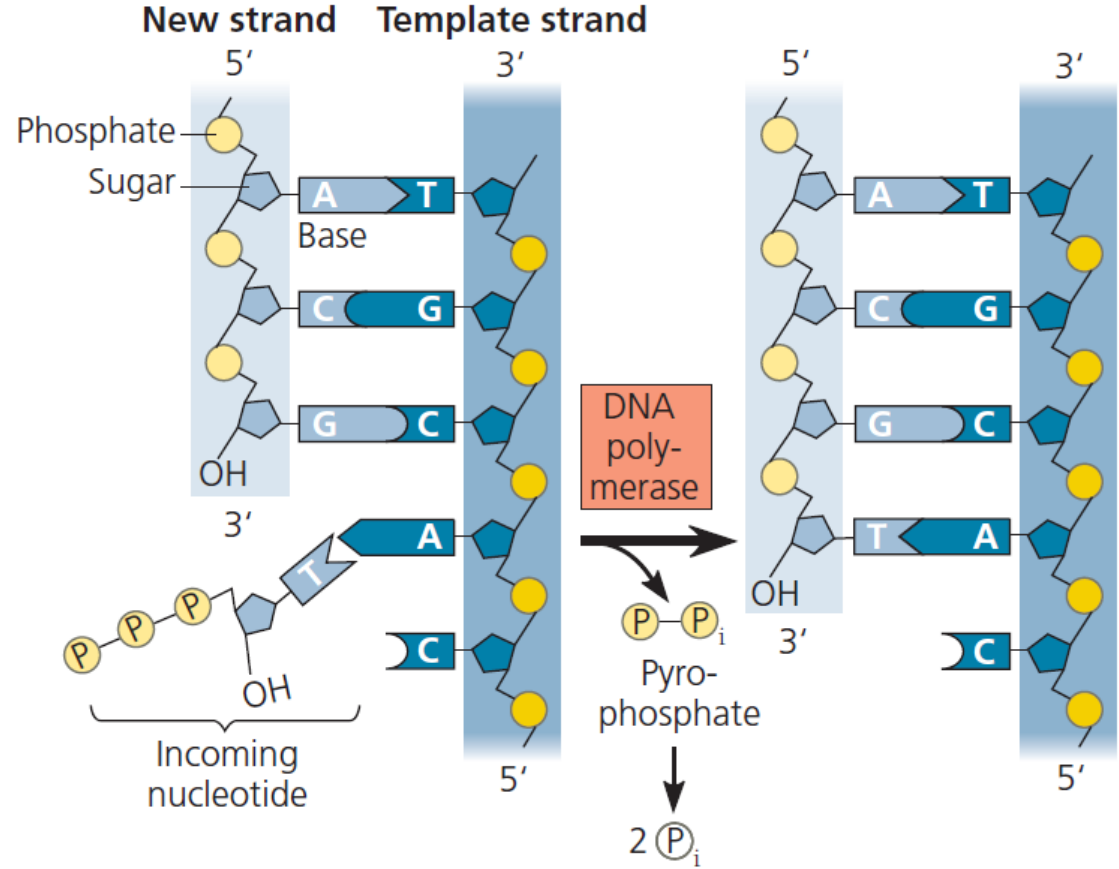
- DNA ipliklerinin iki ucu farklıdır ve her iplik tek yönlü bir “yol” gibi davranır.
- Çift sarmaldaki iki iplik birbirine göre ters yönelimlidir ve bu durum antiparalellik olarak adlandırılır.
- Replikasyon sırasında oluşan yeni iplikler de kendi kalıp ipliklerine antiparalel olmak zorundadır.
- Bu yönlenme kuralı replikasyonun nasıl ilerlediğini doğrudan etkiler.





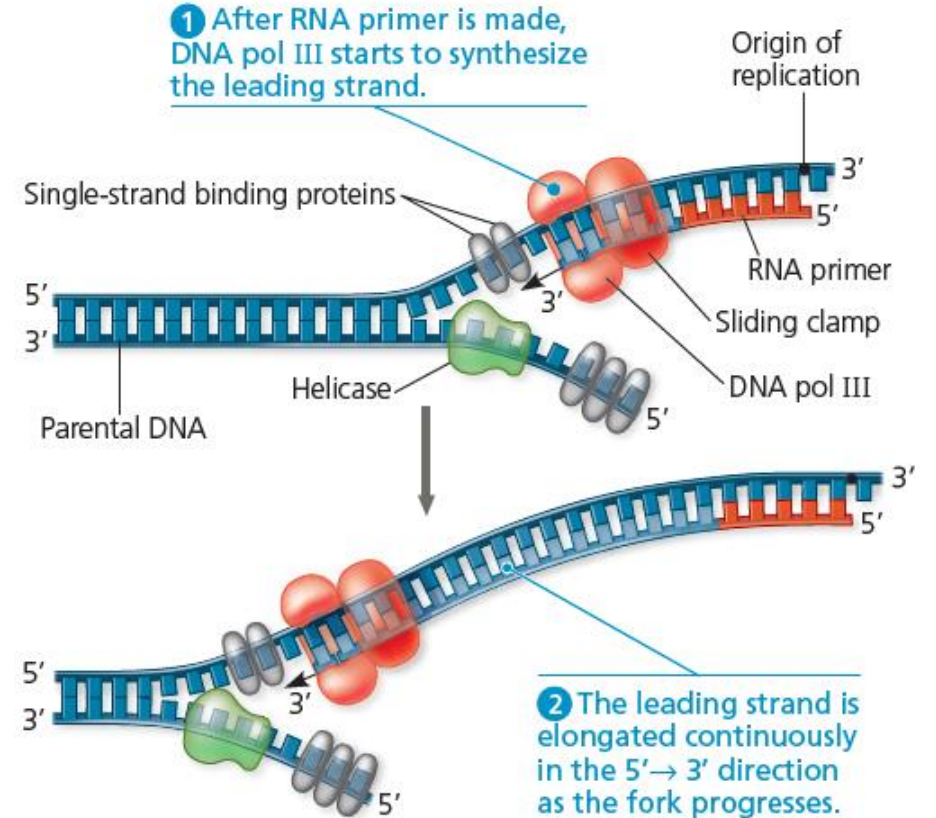
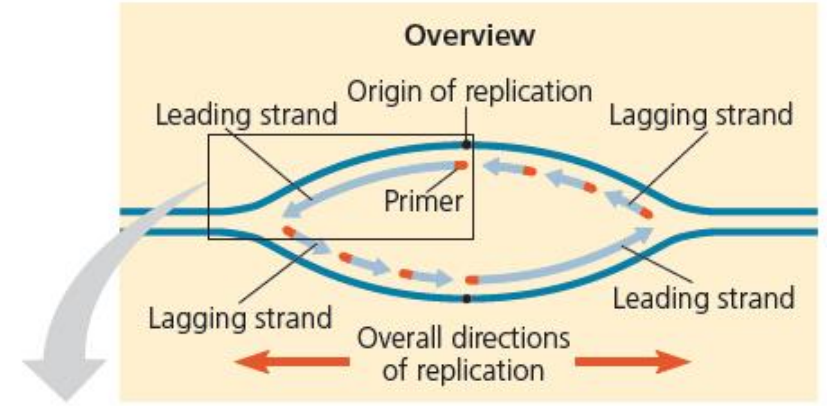
DNA Polimerazların Yön Sınırlaması

- DNA polimerazlar yalnızca serbest 3' ucuna nükleotid ekleyebilir ve 5' ucuna ekleme yapamaz.
- Bu nedenle yeni DNA ipliği yalnızca 5'ten 3'e doğru uzayabilir.
- Bu kural, replikasyon çatalında iki ipliğin farklı şekilde kopyalanmasına yol açar.



Öncü (Leading) İplik Sentezi

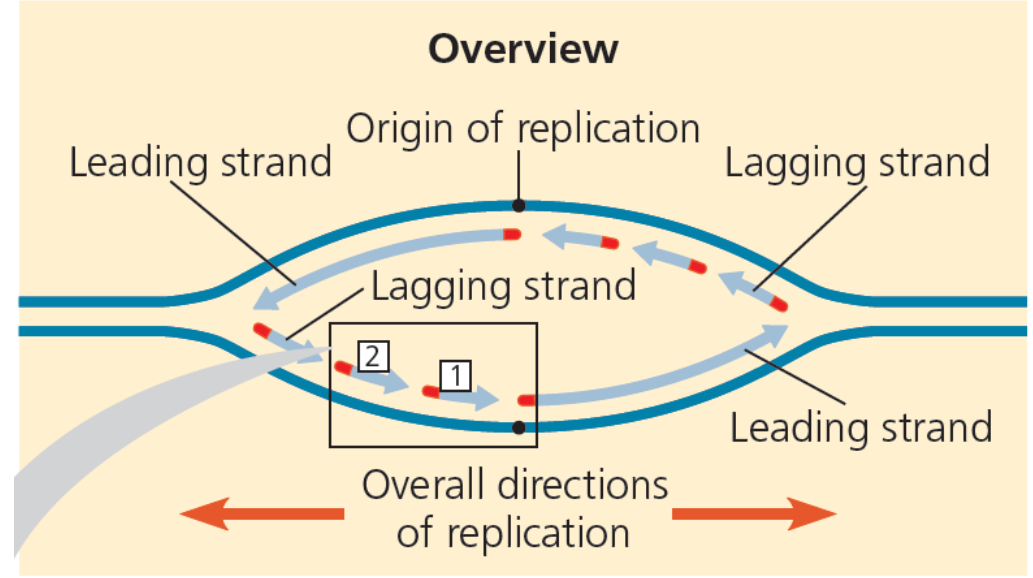
- Bir replikasyon çatalında DNA polimeraz III, kalıp ipliğin birinde yeni ipliği 5'ten 3'e doğru kesintisiz uzatabilir.
- DNA polimeraz III, çatalın içinde kalır ve çatal ilerledikçe yeni tamamlayıcı ipliğe sürekli nükleotid ekler.
- Bu mekanizma ile oluşan iplik "öncü iplik" olarak adlandırılır.
- Öncü ipliğin tamamı için tek bir primer yeterlidir.

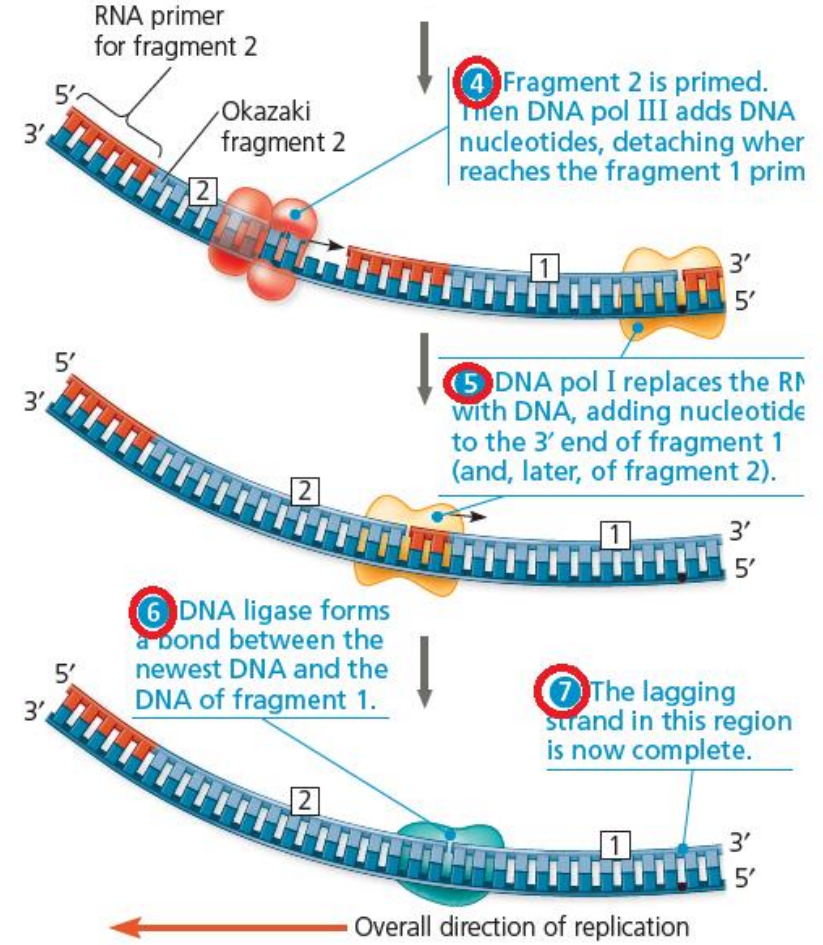
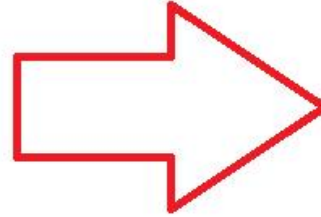
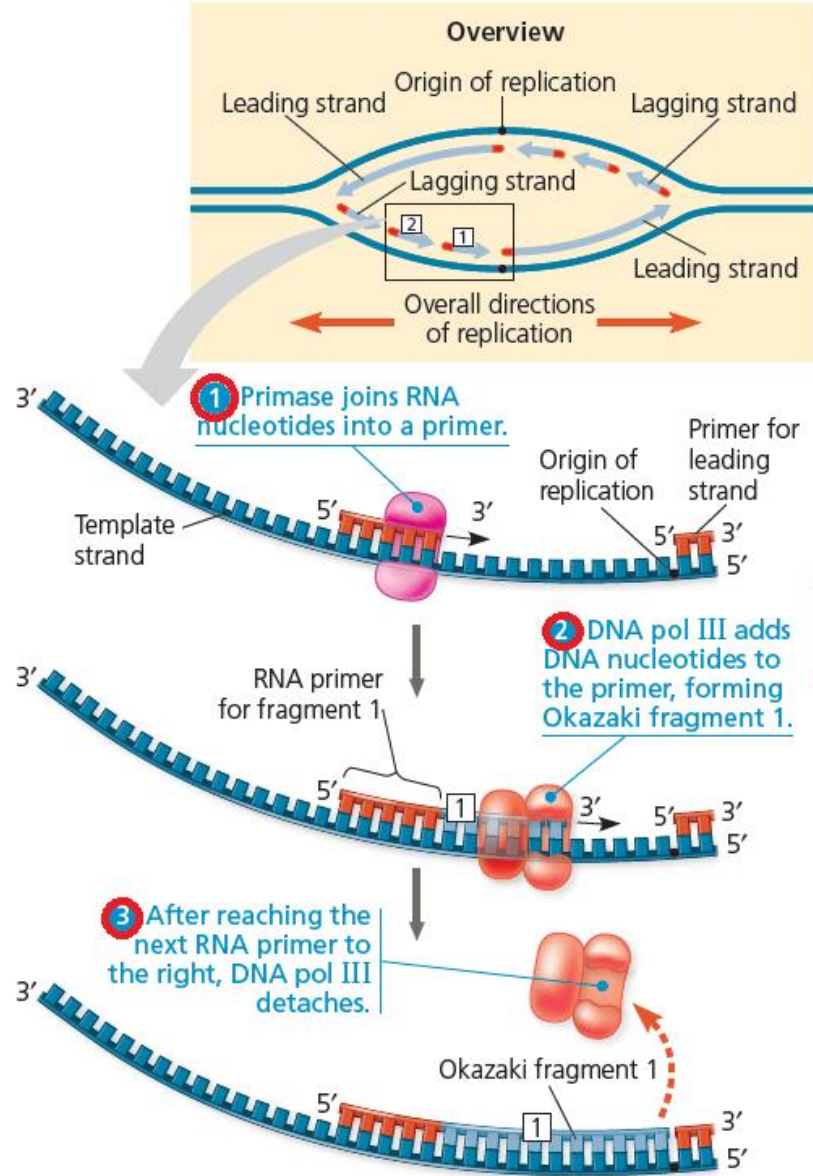




Geciken (Lagging) İplik Mantığı

- Diğer kalıp iplikte, DNA polimeraz III yine 5'ten 3'e uzatmak zorunda olduğu için çatala zıt yönde çalışır.
- Bu iplik “geciken iplik” olarak adlandırılır ve kesintili şekilde sentezlenir.
- Geciken iplik, Okazaki fragmentleri denen kısa DNA parçaları halinde üretilir.
- Bu fragmentler *E. coli*'de yaklaşık 1.000–2.000 nükleotid, ökaryotlarda yaklaşık 100–200 nükleotid uzunluğundadır.

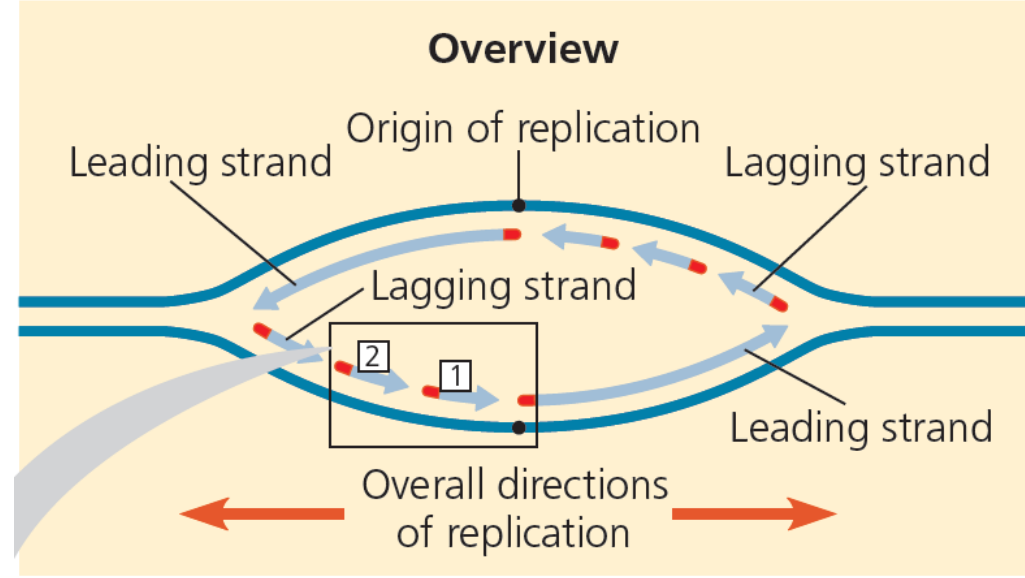


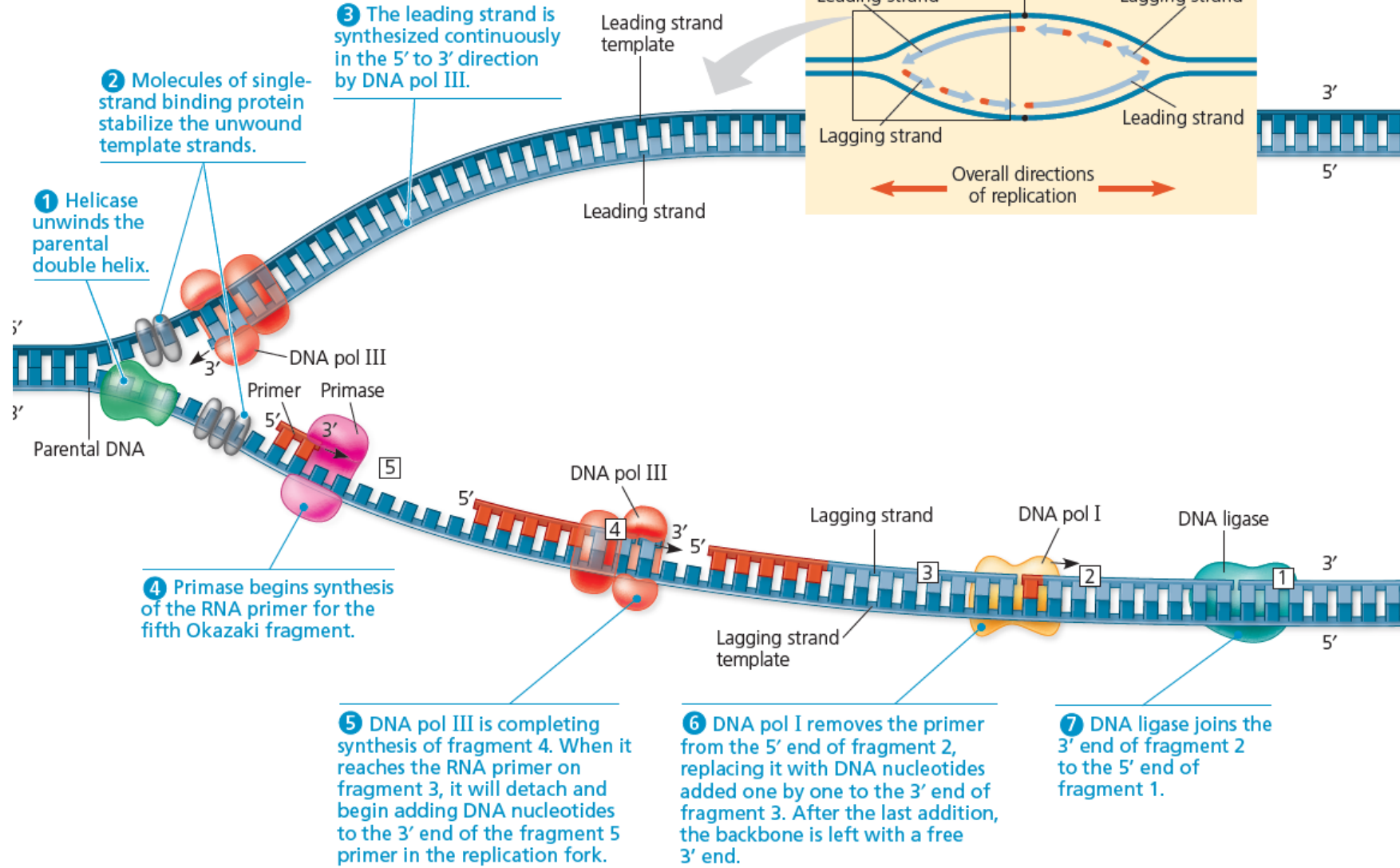




Eşzamanlılık ve İsimlendirme

- Öncü ve geciken iplik sentezleri aynı anda ve aynı hızda gerçekleşir.
- Geciken iplik adı, sentezin bir miktar gecikerek parça parça başlamasından gelir.
- Her yeni fragmanın başlaması için çatalda yeterli kalıp bölgesinin açığa çıkması beklenir.
- Bu bekleme, sentezin kesintili görünmesine yol açar.







Enzimler-Genel Tekrar-1

- **Helikaz:** Replikasyon çatallarındaki çift sarmalı çözer.
- **Tek zincire bağlanan protein:** Tek zincirli DNA'ya bağlanır ve bu zincir kalıp olarak kullanılana kadar yapıyı stabilize eder.
- **Topoizomeraz:** DNA zincirlerini kırarak, döndürerek ve yeniden birleştirerek replikasyon çatallarından önce aşırı sarılma gerilimini hafifletir.
- **Primaz:** Öncü zincirin 5' ucunda ve geciken zincirin her bir Okazaki parçasının 5' ucunda bir RNA primeri sentezler.





Enzimler-Genel Tekrar-2

- **DNA pol III:** Ebeveyn DNA'sını kalıp olarak kullanarak, bir RNA primerine veya önceden var olan bir DNA zincirine nükleotidler ekleyerek yeni bir DNA zinciri sentezler.
- **DNA pol I:** Primerin 5' ucundaki RNA nükleotidlerini (primerleri) çıkarır ve bunları bitişik parçanın 3' ucuna eklenen DNA nükleotidleriyle değiştirir.
- **DNA ligaz:** Geciken zincirin Okazaki parçalarını birleştirir; öncü iplikte, primerin yerini alan DNA'nın 3' ucunu öncü iplik DNA'sının geri kalanına birleştirir.





“DNA Replikasyon Makinesi” Kavramı

- Replikasyonu tek tek “lokomotif” polimerazlar gibi düşünmek yerine, büyük bir protein kompleksinin birlikte çalışması olarak görmek daha doğrudur.
- Çeşitli protein-protein etkileşimleri bu kompleksin verimini artırır ve işleri eşgüdüm içinde yürütür.
- Primazın, çataldaki diğer proteinlerle etkileşerek bir tür “moleküler fren” gibi davranması bu eşgüdüme örnektir.
- Bu etkileşim, primer yerleşimini ve öncü ile geciken iplikteki hızların uyumunu koordine eder.





Kompleks mi İlerler DNA mı İlerletilir?

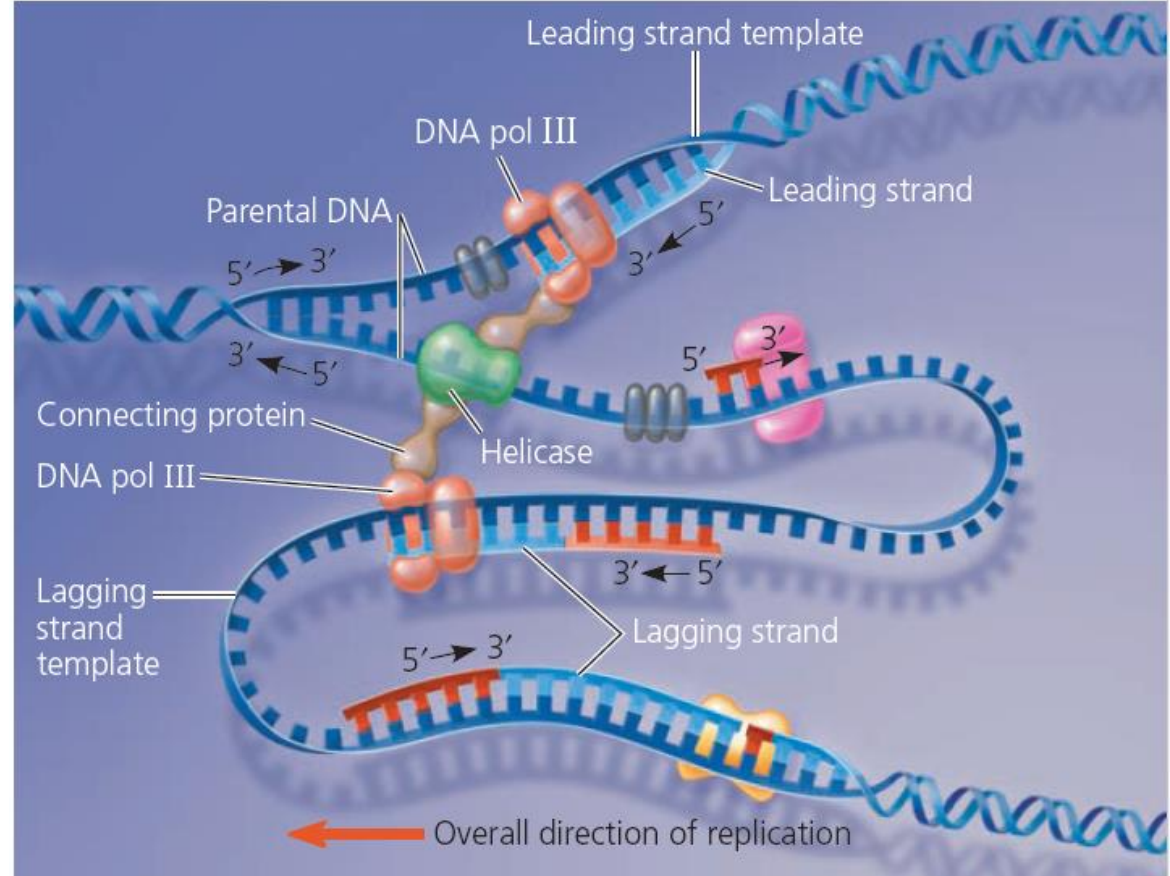
- Replikasyon kompleksi DNA boyunca ilerlemek zorunda olmayabilir, bunun yerine DNA kompleksin içinden geçirilebilir.
- Ökaryot hücrelerde, kompleksin çoklu kopyaları çekirdek matriksine bağlanmış “fabrikalar” halinde gruplanabilir.
- Bazı hücre tiplerinde, iki DNA polimerazın ebeveyn DNA’yı “içeri sarıp” yeni iplikleri dışarı verdiği modele dair deneysel kanıtlar vardır.
- Bu bakış, replikasyonun mekaniğini tek bir hareketli enzim yerine sabit bir iş istasyonu gibi ele alır.





“Trombon” Modeli ve Açık Sorular

- Trombon modelinde geciken iplik, kompleksin içinden tekrar geçirilerek bir döngü oluşturur.
- Bu düzen, kesintili sentezin organizasyonunu ve eşzamanlılığı açıklar.
- Kompleksin mi hareket ettiği yoksa DNA'nın mı kompleksin içinden aktığı sorusu kesin değildir ve aktif olarak araştırılmaktadır.
- Sürecin türler arasında değişkenlik gösterebilmesi de olasıdır.





Doğrulama (proofreading) ile Hata Oranının Düşmesi

- Baz eşleşmesinin özgüllüğü tek başına yeterli değildir ve başlangıçta her $\sim 10^5$ nükleotitte 1 hata oluşabilir.
- Pek çok DNA polimeraz, yeni bağlanan nükleotidi anında kalıba karşı kontrol eder ve yanlışsa çıkarıp senteze geri döner.
- Bu sayede tamamlanmış DNA'daki hata oranı $\sim 10^{10}$ 'da 1'e düşer.





Eşleşme Hatası Onarımı (mismatch repair)

- Bazen yanlış eşleşmeler proofreading'i atlatır ve başka enzimlerce tanınıp çıkarılır.
- Bu sistemler, replikasyon hatalarından kaynaklanan yanlış nükleotidleri kesip doğru nükleotidlerle değiştirir.
- Bir onarım enzimindeki kalıtsal kusurun bir kolon kanseri formu ile ilişkili bulunması, bu sistemlerin önemini vurgular.





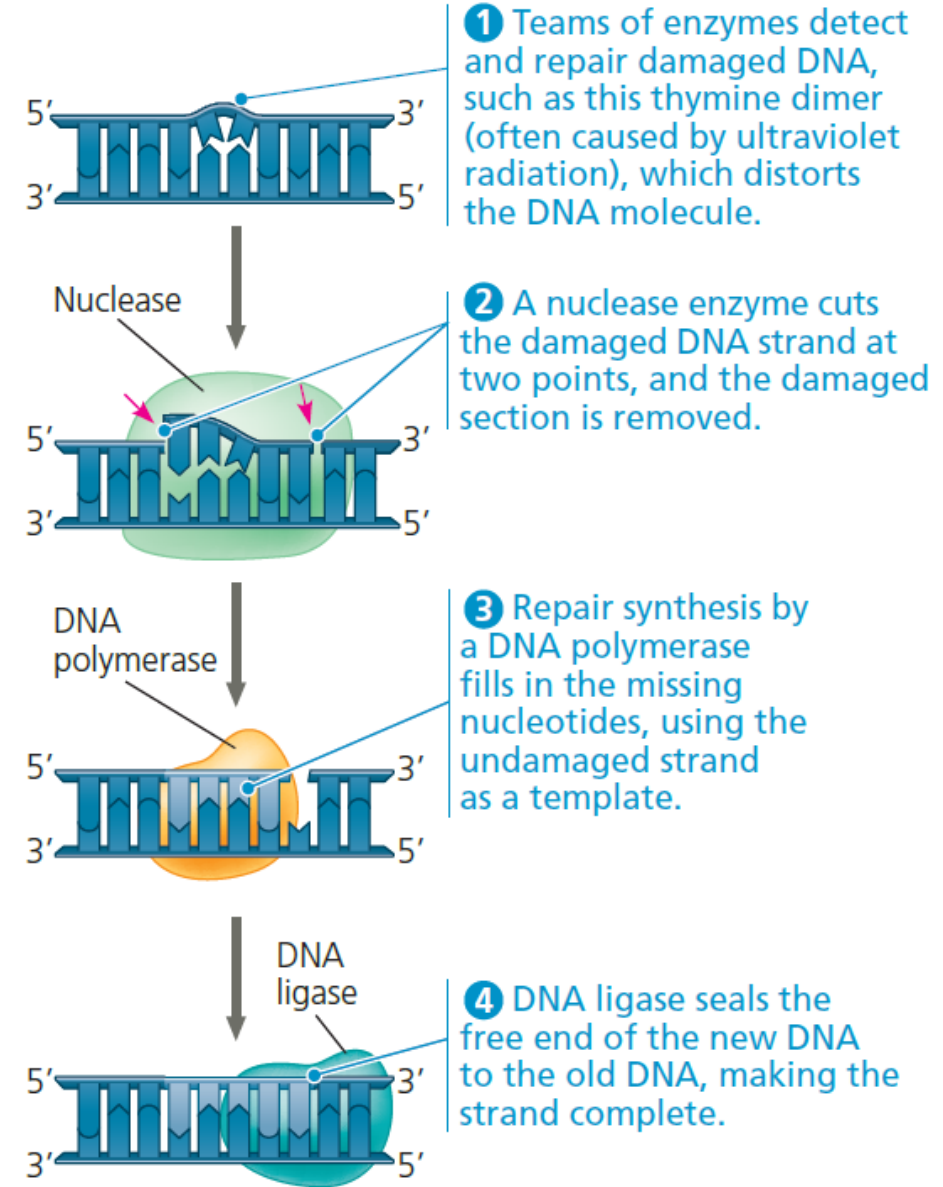
DNA Hasarı ve Genel Onarım Mantığı

- Replikasyon dışında da kimyasal ve fiziksel etmenler DNA'da hatalara yol açabilir.
- Hücreler, hasarlı bölgeyi nükleaz ile kesip çıkarır ve boşluğu sağlam ipliği kalıp alarak doldurur.
- Bu doldurma aşamasında DNA polimeraz ve DNA ligaz birlikte görev yapar.



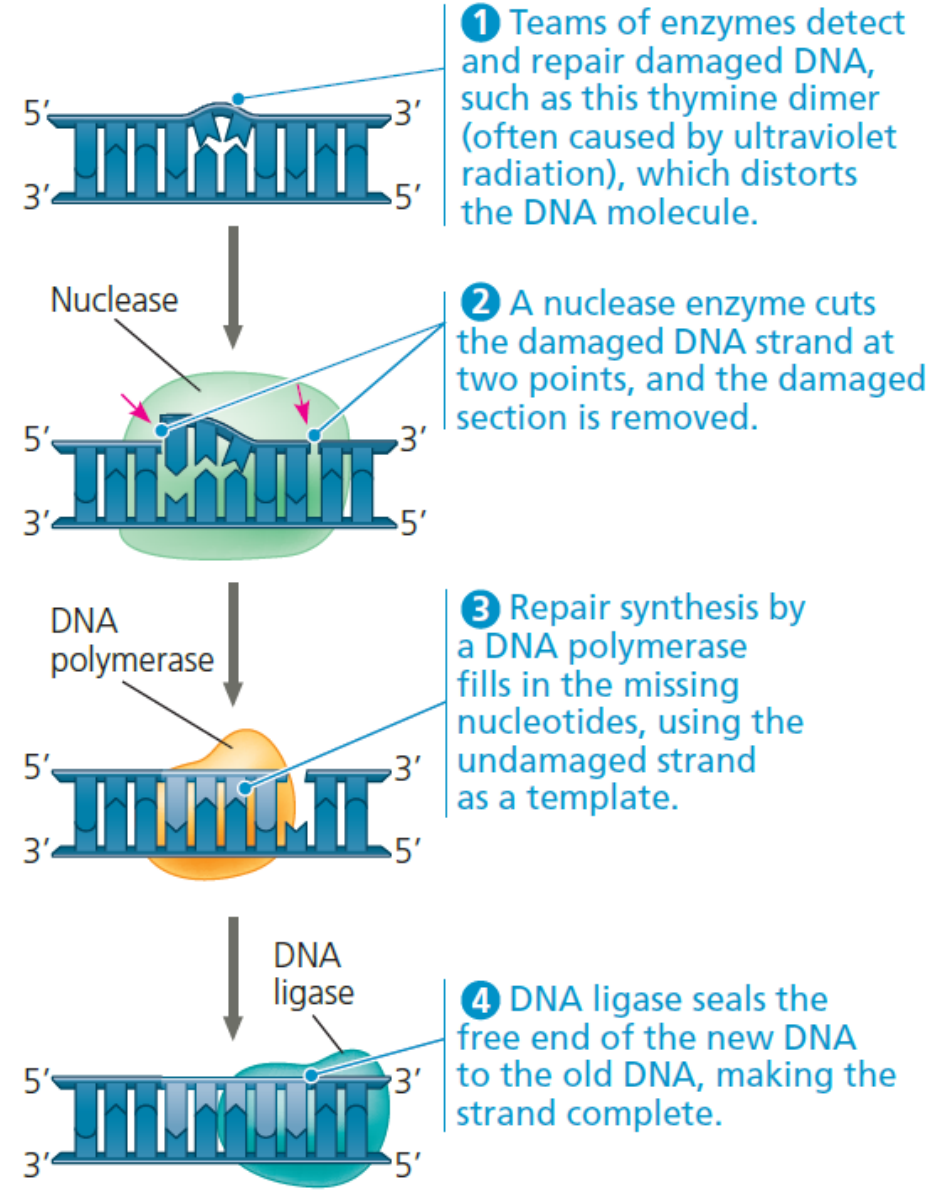
Nükleotid Eksizyon Onarımı

- Nükleotid eksizyon onarımı, hasarlı segmentin çıkarılıp doğru nükleotidlerle tamamlanmasını sağlayan iyi tanımlı bir sistemdir.
- Bu süreç, baz eşleşmesinin çift iplikli doğasından yararlanarak doğru bilgiyi sağlam iplikten okur.



UV Kaynaklı Timin Dimerleri

- Güneşten gelen UV ışınları, aynı iplikte yandaki timinlerin kovalent bağlanmasına neden olabilir.
- Timin dimerleri DNA'yı bükerek replikasyonu aksatır ve onarılmaları gerekir.
- Bir nükleaz enzimi hasarlı DNA zincirini iki noktadan keser ve hasarlı kısım çıkarılır.
- Hasarsız ipliği kalıp olarak kullanarak, eksik nükleotidleri DNA polimeraz ile onarır.
- DNA ligaz, yeni DNA'nın serbest ucunu eski DNA'ya bağlayarak ipliği tamamlar.





Xeroderma pigmentosum ve Onarımın Biyolojik Önemi

- Xeroderma pigmentosum (XP) çoğu olguda nükleotid eksizyon onarımındaki kalıtsal bir kusurdan kaynaklanır.
- XP'li bireyler güneş ışığına aşırı duyarlıdır ve onarılamayan UV kaynaklı mutasyonlar cilt kanserine yol açabilir.
- Korunma olmadığında çocuklarda 10 yaşına kadar cilt kanseri gelişebilecek kadar tablo ağır seyredebilir.





Onarım Enzimlerinin Çeşitliliği ve Hücresel Gözetim

- DNA onarımı, genomun sürekliliği için o kadar kritiktir ki çok sayıda enzim bu işe adanmıştır.
- *E. coli*'de neredeyse 100, insanlarda ise şimdiye dek yaklaşık 170 onarım enzimi tanımlanmıştır.
- Her hücre, genetik materyalini sürekli izler ve kalıcı mutasyon oluşmadan hataları düzeltmeye çalışır.



DNA'daki Kalıcı Değişiklikler

- Organizmanın sağlıklı işleyişi için DNA'nın doğru kopyalanması ve hasarın onarılması kritik önemdedir.
- Düzeltme ve onarım sonrası hata oranı çok düşüktür fakat nadiren hatalar kaçabilir.
- Yanlış eşleşmiş bir nükleotit kopyalandığında, hatayı içeren DNA zincirinde kalıcı bir dizi değişikliği oluşur.
- DNA dizisindeki kalıcı değişiklik mutasyon olarak adlandırılır.



Mutasyon ve Fenotip

- Mutasyonlar bir organizmanın fenotipini değiştirebilir.
- Mutasyonlar eşey hücrelerinde oluşursa nesiller boyunca aktarılabilir.
- Bu değişimlerin büyük çoğunluğu ya etkisizdir ya da zararlıdır.
- Çok küçük bir kısmı faydalı olabilir ve bu durum evrimsel süreçte önem kazanır.





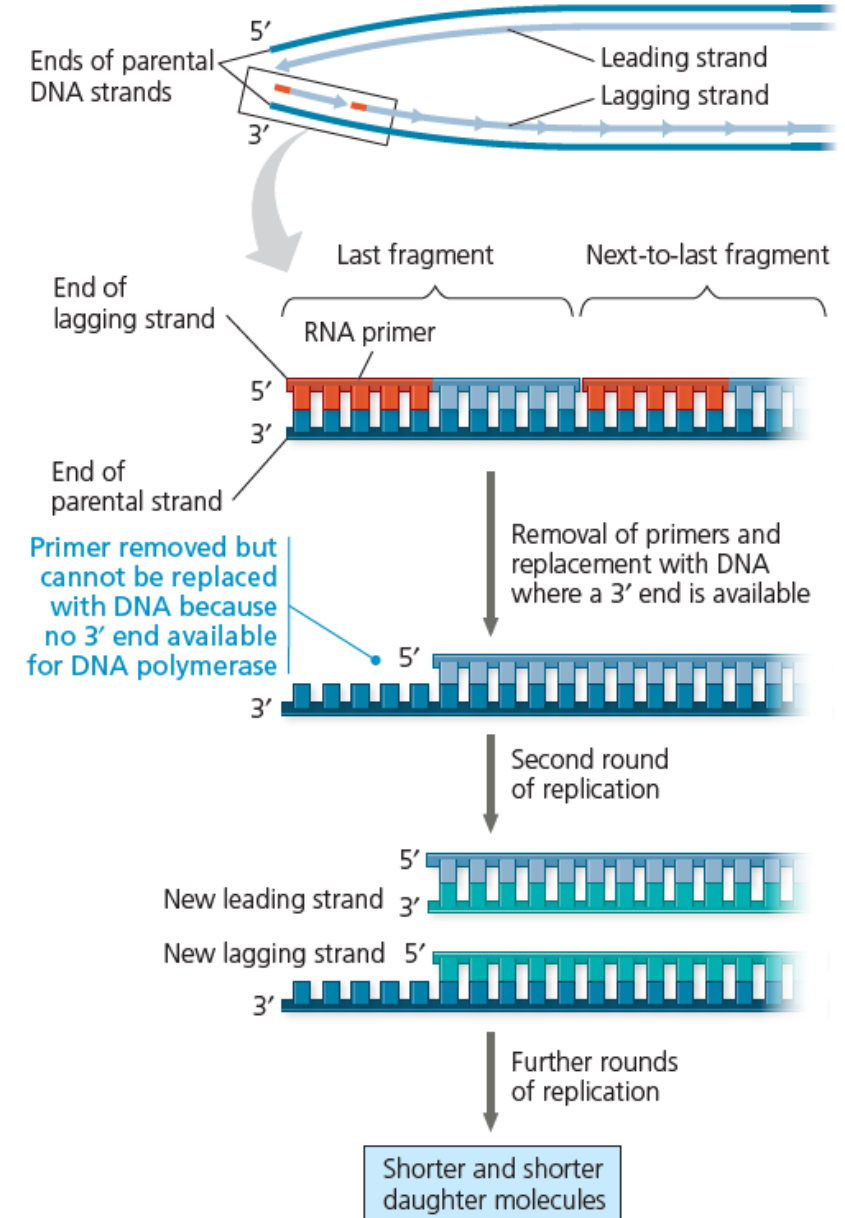
Varyasyonun Kaynağı ve Doğal Seçilim

- Mutasyonlar doğal seçilimin üzerinde işlediği varyasyonun özgün kaynağıdır.
- Düşük ama var olan mutasyon hızı ile yüksek kopyalama doğruluğu arasındaki denge yeni proteinlerin ortaya çıkmasına katkı verir.
- Uzun zaman ölçeklerinde bu süreç yeni türlerin oluşumuna zemin hazırlar.
- Yeryüzündeki biyolojik çeşitliliğin zenginliği bu birikimli sürecin sonucudur.



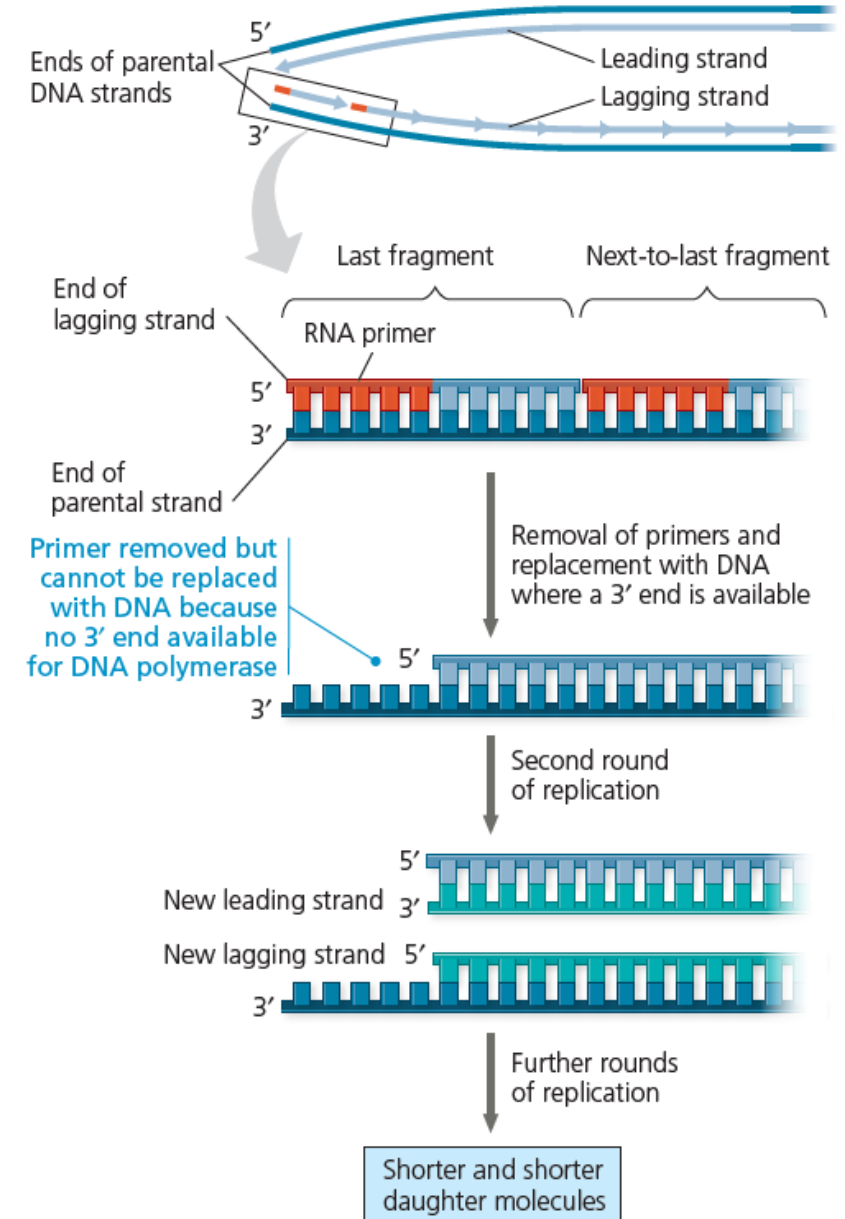
Doğrusal DNA'nın Uçlarının Kopyalanması

- Ökaryotik kromozomlar gibi doğrusal DNA'larda, olağan replikasyon mekanizması 5' uçların tam kopyalanmasını tamamlayamaz.
- DNA polimeraz yalnızca var olan bir polinükleotitin 3' ucuna nükleotit ekleyebilir.
- Kalıbın en ucuna yerleşen RNA primeri çıkarıldığında, ekleme için uygun bir 3' uç kalmaz.



Kısalan Uçların Sonucu

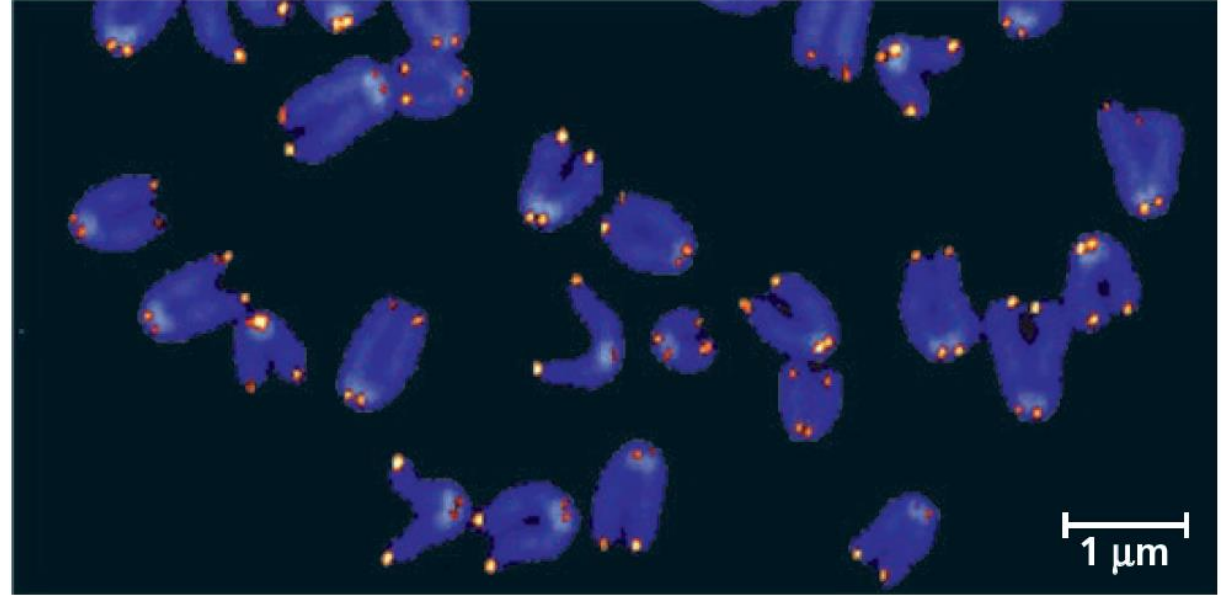
- Her replikasyon turunda DNA molekülleri kademeli olarak kısalır.
- Uçlarda düzensiz ve basamaklı görünümlü bölgeler birikir.
- Prokaryotlarda çoğu kromozom halkasaldır ve uç bulunmadığı için bu kısalma gerçekleşmez.
- Bu durum ökaryotik doğrusal kromozomlarda özel bir koruma gerektirir.





Telomerlerin Varlığı

- Ökaryotik kromozom uçlarında telomer adı verilen özel nükleotit dizileri bulunur.
- Telomerler gen taşımaz ve kısa bir dizinin birçok tekrarından oluşur.
- İnsanda telomer DNA'sında TTAGGG dizisi 100 ile 1.000 kez tekrarlanır.
- Telomerlerin konumu yandaki figürde gösterilmektedir.





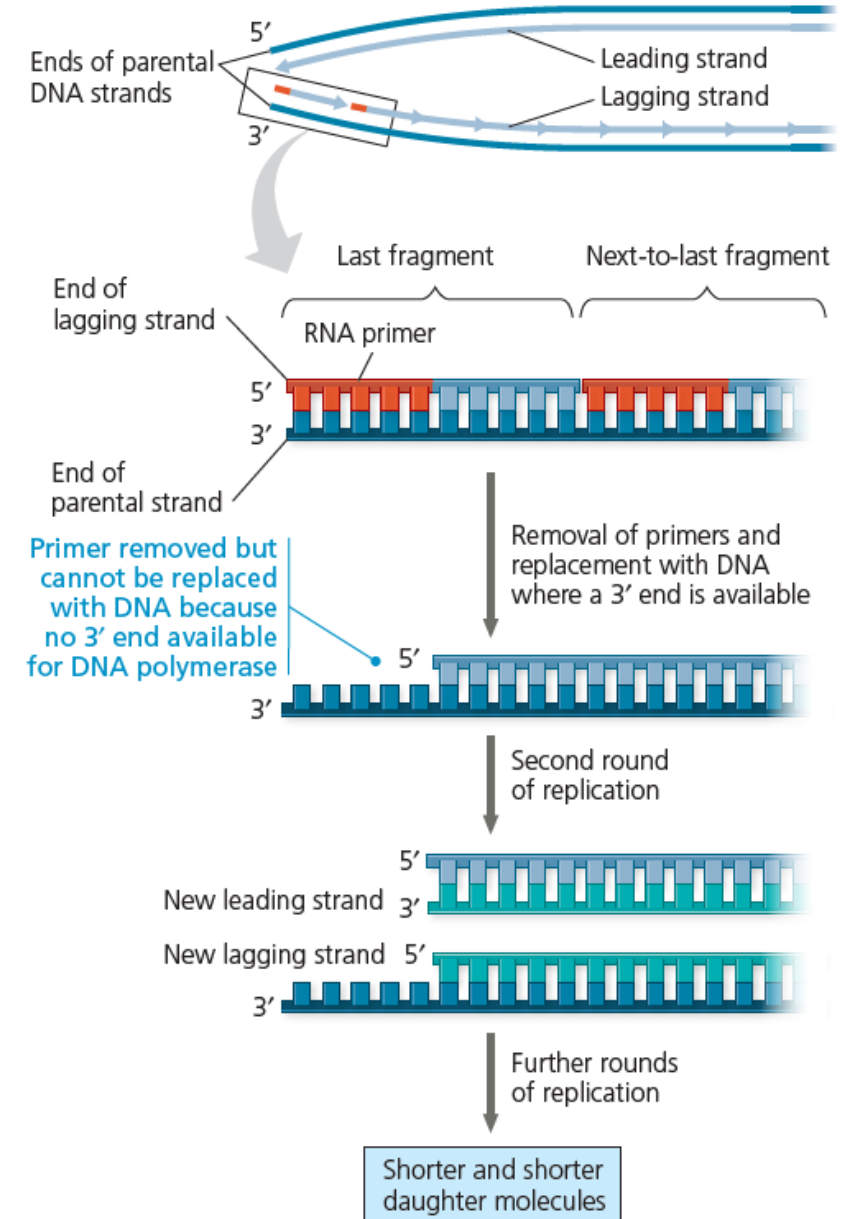
Telomerlerin İki Koruyucu İşlevi

- Telomer DNA'sına bağlanan özgül proteinler basamaklı uçların DNA hasar yanıtını tetiklemesini engeller.
- Telomer DNA'sı, kromozom uçlarında gen kaybını geciktiren bir tampon bölge gibi davranır.
- Telomerler gen erozyonunu tamamen önlemez ancak geciktirir.
- Bu tamponlama, peşi sıra gelen kopyalamalarda genlerin korunmasına katkı sağlar.



Telomer Kısalması ve Yaşlanma Bağlantısı

- Telomerler her replikasyon turunda kısalır.
- Çok kez bölünmüş kültür hücrelerinde ve yaşlı bireylerin somatik hücrelerinde telomerler daha kısadır.
- Bazı dokuların yaşlanma süreciyle telomer kısalması arasında bir bağlantı önerilmiştir.
- Bu ilişki, organizma düzeyinde yaşlanma ile olası bağlantılar bakımından araştırılmaktadır.





Germ Hücrelerinde Telomeraz Etkinliği

- Germ hücrelerinde telomerlerin her döngüde kısalması gametlerde gen kaybına yol açmaz.
- Telomeraz enzimi telomerleri uzatarak replikasyonla oluşan kısalmayı telafi eder.
- Enzim kendi RNA kalıbını taşıyarak ön zinciri uzatır ve art zincirin uzunluğunu korumasına imkân verir.
- Germ hücrelerindeki telomeraz etkinliği zigotta telomerlerin en uzun düzeyde olmasını sağlar.





Telomerazın Dokuya Göre Değişen Etkinliği

- Telomeraz çoğu insan somatik hücresinde aktif değildir.
- Enzimin etkinliği dokular arasında değişkenlik gösterebilir.
- Bu farklılık doku tiplerine göre hücresel bölünme potansiyeliyle ilişkilidir.
- Germ hattındaki yüksek etkinlik kalıtsal bütünlüğü destekler.





Telomer Kısalması ve Kanser Arasındaki İlişki

- Telomerlerin normal kısalması somatik hücre bölünmelerine doğal bir sınır getirerek kansere karşı koruyucu olabilir.
- Büyük tümörlerden alınan hücrelerde telomerler çok kısadır ve bu durum yoğun bölünme öyküsüyle uyumludur.
- Daha fazla kısalma tümör hücrelerinin kendi kendini yok etmesine yol açabilir.
- Bu gözlemler, telomer uzunluğu ile tümör biyolojisi arasında bağlantı olduğunu düşündürür.





Kanserde Telomeraz ve Tedavi Araştırmaları

- Kanserli somatik hücrelerde telomeraz etkinliği anormal derecede yüksektir ve telomer uzunluğunu kararlı tutarak kalıcılığı destekleyebilir.
- Pek çok kanser hücresi sınırsız bölünebilme kapasitesi sergiler ve bu durum kültürde “ölümsüz” hatlarda da görülür.
- Telomerazın baskılanması üzerine yapılan deneysel çalışmalar tümör hücrelerinin ölmesine yol açabilmiştir.
- Ancak bazı hücreler telomer uzunluğunu alternatif bir yolakla geri kazanmıştır ve araştırmalar bu alanda sürmektedir.



Kromozom ve DNA Paketlenmesine Giriş

- DNA'nın yapısı ve eşlenmesini gördükten sonra, genetik bilgiyi taşıyan yapılar olan kromozomlarda DNA'nın nasıl paketlenildiğini ele alıyoruz.
- Bakterilerde genomun ana bileşeni, nispeten az proteinle ilişkili, çift iplikli dairesel tek bir DNA molekülüdür.
- Bu yapı “bakteriyel kromozom” olarak adlandırılrsa da, çok miktarda proteinle ilişkili doğrusal DNA'dan oluşan ökaryotik kromozomdan belirgin biçimde farklıdır.



Bakteriyel Kromozomun Kapsamı

- *E. coli*'de kromozomal DNA yaklaşık 4,6 milyon nükleotit çifti içerir ve yaklaşık 4.400 gen barındırır.
- Bu miktar, tipik bir virüste bulunan DNA'nın yaklaşık 100 katıdır.
- Buna karşın, bu büyüklük, bir insan somatik hücreesindeki DNA'nın yaklaşık binde biri kadardır.



DNA'nın Sığdırılması ve Nükleoid

- Uzatıldığında bir *E. coli* hücresinin DNA'sı yaklaşık 1 milimetre olur ve bu, hücrenin uzunluğunun yaklaşık 500 katıdır.
- Hücre içinde belirli proteinler DNA'yı kıvrır ve “süpersarmal” hâle getirerek çok yoğun biçimde paketler.
- Bu yoğun DNA bölgesi zarla çevrili değildir ve “nükleoid” olarak adlandırılır.



Ökaryotik Kromozomun Ölçeği

- Her bir ökaryotik kromozom, tek bir doğrusal çift sarmal DNA molekülü içerir.
- İnsanlarda bu molekül ortalama yaklaşık $1,5 \times 10^8$ nükleotit çifti uzunluğundadır.
- Tamamen uzatıldığında yaklaşık 4 cm'ye ulaşır ve bu uzunluk, çekirdek çapının binlerce katıdır.



İZLE



Kromatin ve Çok Kademeli Paketleme

- Ökaryotik DNA, çok miktarda proteinle hassas biçimde birleşerek “kromatin” adı verilen kompleksi oluşturur.
- Kromatin, çekirdeğe sığmayı sağlayan ayrıntılı ve çok kademeli bir paketleme sistemiyle düzenlenir.

Bi Dünya Biyoloji

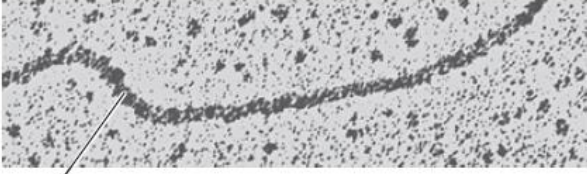


Bektaş Tepe
gezimania_tr

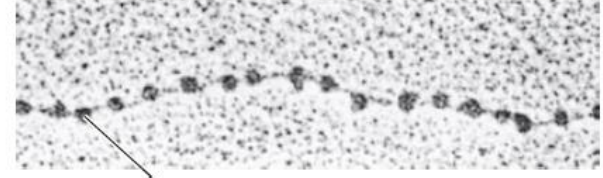
İZLE



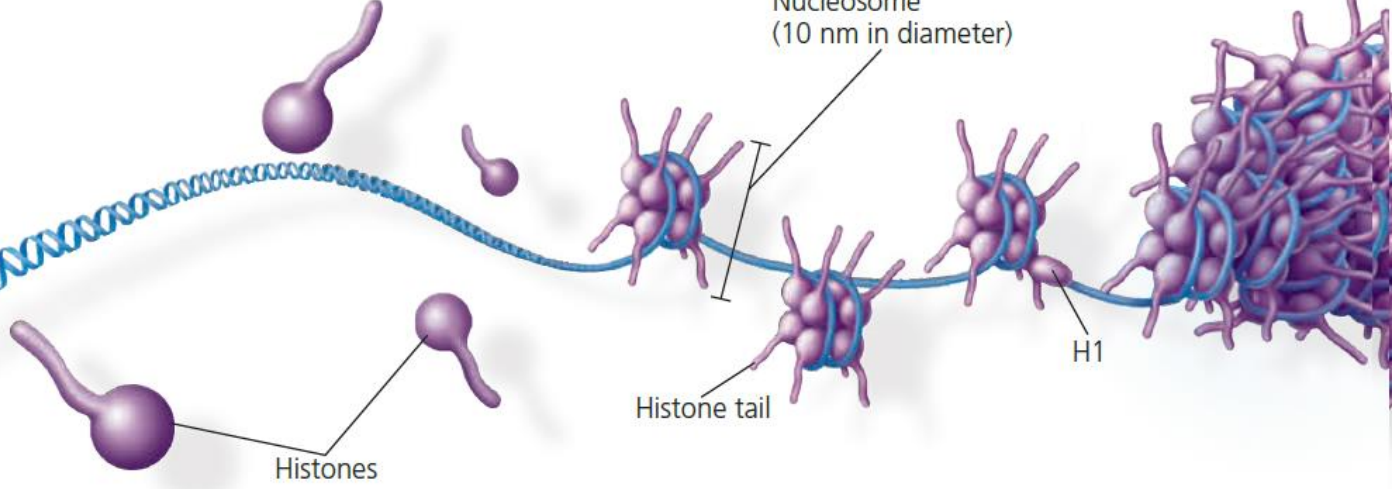
 Bi Dünya Biyoloji



DNA
double helix
(2 nm in diameter)



Nucleosome
(10 nm in diameter)

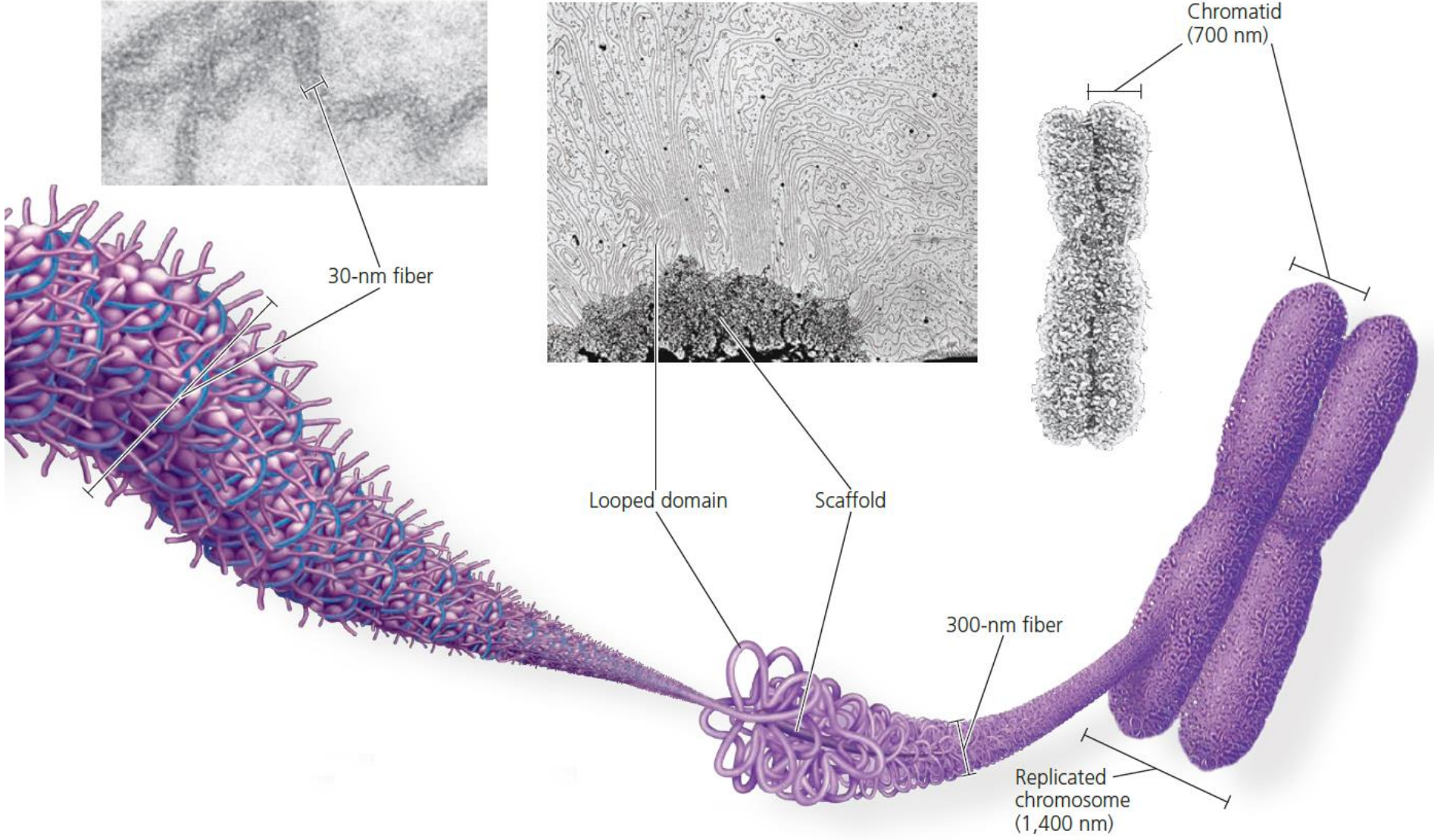


Bektaş Tepe
gezimania_tr

İZLE



Bi Dünya Biyoloji

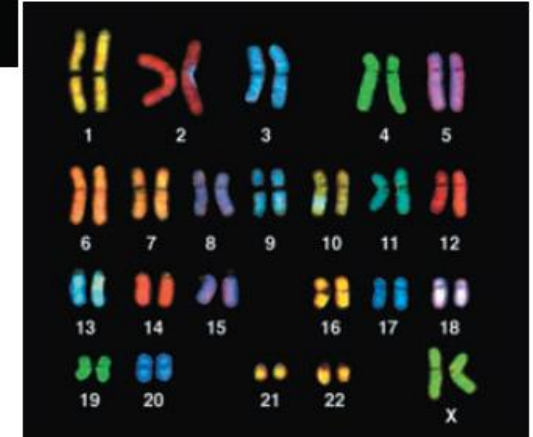


Bektaş Tepe
gezimania_tr



Hücre Döngüsünde Yoğunluk Değişimleri

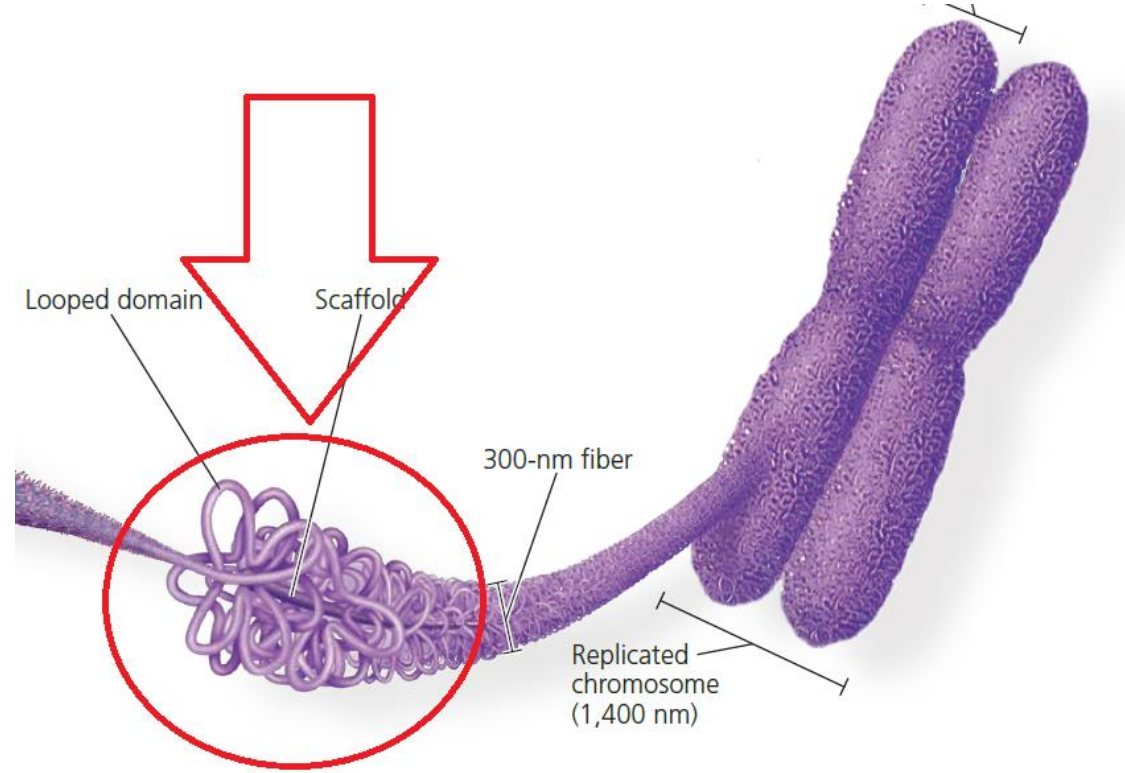
- Kromatin, hücre döngüsü boyunca paketlenme derecesinde belirgin değişimler gösterir.
- İnterfazda, ışık mikroskopunda genellikle çekirdek içinde yaygın ve dağınık bir kitle gibi görünür.
- Mitoza hazırlanırken kromatin kıvrılıp katlanır ve kısa, kalın metafaz kromozomlarına yoğunlaşır; bu kromozomlar ışık mikroskopunda ayırt edilebilir.





İnterfaz Kromatininde Daha Yüksek Düzen

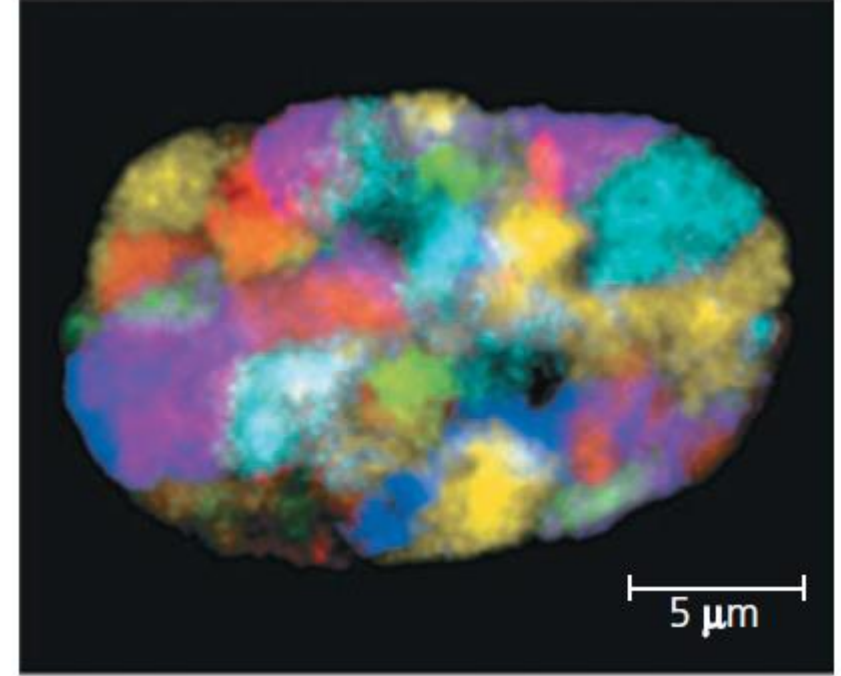
- İnterfaz kromatini, mitotik kromozomlara göre daha gevşek olsa da, daha üst düzey paketleme basamaklarının çoğunu taşır.
- Kromatinin bir kısmı 10 nm çapında bir lif hâlindeyken, büyük bölümü 30 nm'lik liflere sıkıştırılır ve bazı bölgelerde bu yapılar “ilmekli alanlar” şeklinde katlanır.
- İnterfaz kromozomu belirgin bir iskele göstermese de, ilmekli alanların nükleer zarfın iç yüzündeki nükleer laminaya ve olasılıkla nükleer matriks liflerine tutunduğu düşünülür.





Çekirdek İçi Yerleşim ve Karışmayan Alanlar

- Bu bağlantılar, genlerin etkin olduğu kromatin bölgelerinin düzenlenmesine yardımcı olabilir.
- Her kromozoma ait kromatin, interfaz çekirdeğinde kendine özgü ve sınırlı bir alan kaplar.
- Farklı kromozomların kromatin lifleri birbirine dolaşmış gibi görünmez.





Heterokromatin ve Ökromatin

- İnterfaz sırasında kromozomların sentromer ve telomerleri ile bazı diğer bölgeler, metafaz benzeri yüksek yoğunlaşmış bir durumda bulunabilir ve bu tipe “heterokromatin” denir.
- Daha gevşek ve dağınık görünen kromatin ise “ökromatin”dir ve genlerin ifadesinden sorumlu hücresel mekanizmaya erişebilir durumdadır.
- Heterokromatindeki sıkı paketlenme, DNA’yı bu mekanizmaya büyük ölçüde ulaşılamaz kılar; buna karşılık ökromatin, genlerin transkribe edilmesine olanak tanır.



Dinamik Kromozom ve Histon Değişimleri

- Kromozom, mitoz, mayoz ve gen etkinliği gibi süreçler boyunca gerektiğinde yoğunlaştırılan, gevşetilen, değiştirilip yeniden düzenlenen dinamik bir yapıdır.
- Histonların kimyasal modifikasyonları, kromatin yoğunluğunu etkiler ve gen etkinliği üzerinde birden çok sonuç doğurur.



Teşekkür ederim

Prof. Dr. Bektaş TEPE

