

MOLEKÜLER BİYOLOJİ

DOÇ. DR. MEHMET KARACA

PROKARYOTLARDA KALITSAL MOLEKÜLÜN ORGANİZASYONU

BAKTERİLERDE VE ARKEALARDA KALITSAL MOLEKÜL, GENELLİKLE HALKA BİÇİMİNDE VE ÇİFT SARMAL YAPIDA DNA MOLEKÜLÜDÜR. BAZI TÜRLERDE RNA KALITSAL MATERYAL ALRAKTA BULUNUR.

HÜCREDE KALITSAL MOLEKÜL YOĞUNLAŞMIŞ DURUMDA BULUNDUĞU BÖLGE “NÜKLEOİT” OLARAK ADLANDIRILIR.

NÜKLEOİTE EK OLARAK, BAZI TÜRLERDE SAYILARI BİR VEYA DAHA FAZLA GENELLİKLE KÜÇÜK, HALKA BİÇİMİNDE ÇİFT ZİNCİRLİ DNA MOLEKÜLLERİ OLAN “PLAZMİTLER” BULUNUR.

ÖKARYOTLARDA KALITSAL MOLEKÜLÜN ORGANİZASYONU

ÖKARYOTLARDA KALITSAL MOLEKÜLÜN BÜYÜK BİR KISMI NUKLEUSDA (ÇEKİRDEK), BİR MİKTARI DA BAZI ORGANELLERDE (MİTOKONDİRİ VE KLOOROPLAST) BULUNUR.

KALITSAL MOLEKÜL OLARAK ORGANİZMALAR GENELLİKLE ÇİFT SARMALLI DNA'YA SAHİPTİRLER.

NÜKLEUSTA, SAYILARI TÜRLERE GÖRE DEĞİŞEN DOĞRUSAL BİÇİMLİ DNA MOLEKÜLLERİ BULUNUR. BU DNA MOLEKÜLLERİ “KROMOZOM” OLARAK ADLANDIRILIR.

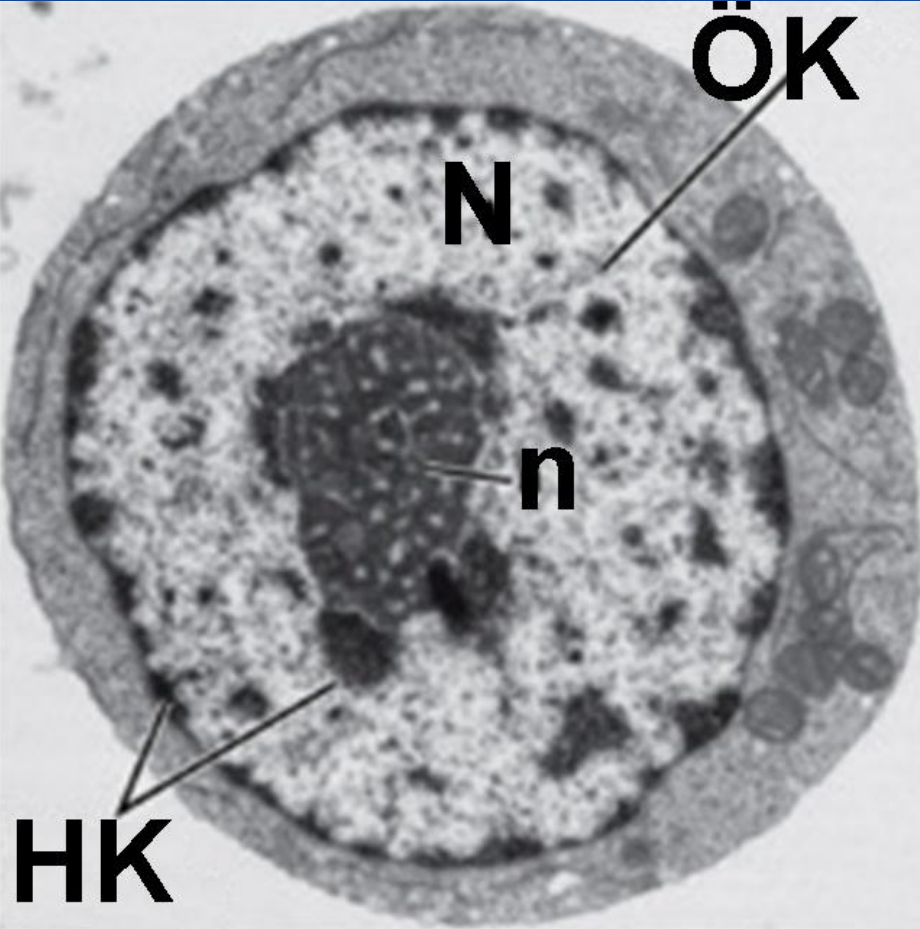
KROMATİN

Nükleusta kalıtım materyali olan DNA, özel proteinler ve RNA ile birlikte oluştuğu yapı "kromatin"dir. Elektron mikroskobu ile bakıldığında, kromatin "ökromatin" ve "heterokromatin" olarak adlandırılan, birbirinden farklı iki kısımda görülür.

Açık renkli "ökromatin" nükleusun metabolizma bakımından çok aktif olan bölümü, koyu renkli kısım ise heterokromatin metabolik bakımdan az aktif olan kromatin olarak görülebilir.

Çekirdeğinin aktifliği çok azalmış olan hücrelerde hemen bütün kromatin kitlesi heterokromatin görünümündedir. Bir hücrenin çekirdeğinin ölümünde (**PIKNOZ**) tüm kromatinin heterokromatine dönüşmüş olduğu saptanır.)

KROMATİN



ÖKROMATİN VE
HETEROKROMATİN
ÖKARYOTİN NÜKLEUSUN
ELEKTRON
MİKROSKOBUNDA
GÖZLEMLENİR.

KOYULUK DNA
PAKETLENMESİNİN YÜKSEK
OLDUĞUNU GÖSTERİR.

NÜKLEOLUS: rRNA VE RİBOZOMALARIN SENTEZİ

NÜKLEUS

Bakteriler, Arkealar, Virüsler ve yeşil algler dışında kalan bütün hücrelerde bulunan ve iki katmanlı bir membran ile hücrenin geri kalan bölümünden ayrılan özelleşmiş, hücrenin büyüme ve metabolizma gibi işlevlerini düzenleyen ve denetleyen, kalıtımla kuşaktan kuşağa taşıyan deoksiribonükleotitlerden oluşan ökaryotik hücrelerin en belirgin organelidir.

Nüklear Genom bitkilerde 1.2×10^8 ile 1×10^{11} baz çifti arasında değişmektedir.

Ökaryotlar prokaryotlardan çok daha fazla DNA içerirler.

Ökaryotlarda kromozomların içindeki genler hücrenin çekirdek genomunu oluşturur, mitokondri ve kloroplast genomları ise genellikle maternal kalıtım gösterir.

NÜKLEOLUS

Nükleolus (çekirdekçik) nükleusun içinde bulunan ayrı, yoğun bir yapı olup etrafı bir membranla çevrili değildir ve bazen ayrı bir “*organelcik*” olarak da adlandırılır.

“Nucleolus Organizer Region” NÜKLEOLUSUN oluştuğu bölge olup rRNA'lara ait DNA dizilerinin ard arda bulunduğu, ribozomal RNA'ların transkripsiyonu ve işlendiği bölgedir.

BİTKİLERDE 5.8S, 18S, 28S RİBOZOMAL RNA DNA'LARI HAYVAN HÜCRELERİNDE OLDUĞU GİBİ ARD ARDA BULUNMAKTADIR.

ÖKARYOTİK GENOMUN DİZİ ÖZELLİKLERİ

Ökaryotlarda DNA “dizi özelliklerine” göre farklı bölgeler bulunur.

1. Tekrarlanmayan DNA dizileri. Genomda genellikle tek (ender olarak 2-3) kopyası bulunan diziler. Yapısal genlerin çoğu bu tip dizilerden oluşur.

2. Tekrarlanan DNA dizileri. Genomda birden fazla kopyası olan diziler.

a) Orta düzeyde tekrarlanan DNA dizileri

b) Yüksek düzeyde tekrarlanan DNA diziler

3. Ters yönde tekrarlanan diziler

ÖKARYOTİK GENOMUN DİZİ ÖZELLİKLERİ

Orta düzeyde tekrarlanan diziler, kopya sayıları genellikle 10-100 arasındadır. Tekrarlanan birimler kısa (200-500 bp) veya uzun (1000-5000 bp) dizilerden oluşur. Yapısal genlerden bazıları (örneğin, histon genleri), rRNA ve tRNA genleri bu tip dizilerden oluşur.

Yüksek düzeyde (çok sayıda) tekrarlanan diziler, kopya sayıları 10^4 - 10^6 arasındadır. Tekrarlanan birimler genellikle kısa ve genomda *ardışık* olarak bulunan dizilerdir. Çoğunlukla gen kapsamına girmeyen diziler.

ÖKARYOTİK GENOMUN DİZİ ÖZELLİKLERİ

3. Ters yönde tekrarlanan diziler (Inverted Repeats).
Genomun çok az kısmını kapsayan birbirinin tamamlayıcısı olan diziler.



TERS TEKRAR

DÜZ TEKRAR

Direct Repeats



Inverted Repeats



DNA'NIN ORGANİZASYONU

İnsan nüklear genomunun uzunluğu yaklaşık 2.9 milyar baz olup (1.9 METRE) bu bilginin nükleusda küçük hacimde tutulması ancak DNA'nın paketlenmesi ile mümkündür.

DNA molekülü aktivitesini yitirmeden paketlenmesi gerekir. DNA'nın en aktif olduğu paketlenme şekli NÜKLEOSOM, ve daha üst düzey paketlenmelerde aktivite azalır. Örneğin METAFAZ kromozomu göreceli olarak en az aktiviteye sahip DNA'dır

Çıplak DNA molekülünden kromozom şekline DNA'nın paketlenmesinde 1. histon proteinleri, 2. histon olmayan proteinler, 3. HMG ve 4. RNA molekülleri görev yapmaktadır.

HİSTON PROTEİNLERİ

Histonlar ökaryotlarda H1, H2A, H2B, H3, H4 ve arkealarda bulunan arkeal histon olmak üzere 6 tiptir.

Ökaryotik nükleozomun yapısında 8 adet histon bulunur ve bunlar H2A, H2B, H3, H4 dimerleridir.

H1 ise nükleozomun yapısındaki kor histonlar olarak adlandırılan bu okttomerlerin yapısına katılmaz ama kor histonları birbirleri ile ilişkilendirir.

Histon proteinleri çok sayıda arginin ve lizin amino asidi içerir. Elektriksel olarak pozitif yüke sahiptirler ve DNA'nın negatif yüklü fosfodiester iskeletine kolayca bağlanır.

Her bir histon proteininin primer yapısı tüm organizmalarda hemen hemen aynıdır.

HİSTONLARIN ÖZELLİKLERİ

HİSTON TİPİ	LİSİN VE ARGİNİN DURUMU	AĞIRLIK (DA)
H1	LİSİNCE ZENGİN	23000
H2A	BELİRLİ ORANDA LİSİNCE ZENGİN	14000
H2B	BELİRLİ ORANDA LİSİNCE ZENGİN	13800
H3	ARGİNİNCE ZENGİN	15300
H4	ARGİNİNCE ZENGİN	11300

HİSTONLARIN ÖZELLİKLERİ

Histonların her biri yaklaşık olarak 125 aminoasitten oluşur. Bir nükleozom yapısında bu histon proteinleri çiftler halinde bulunması ile oktomer yapılıdır. Oktomer demek sekizli yapı demektir.

Histonlar ilerki bölümlerde üzerinde durulacak konulardan olan epigenetik mekanizma ve epiallelerin anlaşılmasında önemlilik göstermektedir.

Histonlar genellikle metilasyon, asetilasyon, deasetilasyon, ubikütinasyon ve diğer bazı kimyasal modifikasyonlara uğrarlar. Bu modifikasyonlar gen ifadesinde önemlidir.

Histon Olmayan Proteinler (HOP)

Çoğunlukla bazik özellikte olmayan, boyut ve işlevleri bakımından çok heterojen bir gruptur. Bunlar kromatinin oluşumuna katılan yapısal proteinler, DNA replikasyonunda ve gen anlatımında iş gören enzimler, gen anlatımında düzenleyici proteinler bu gruptadır.

Bir farenin karaciğer hücresinde yapılan araştırmaya göre hücre çekirdeğindeki proteinlerin %11'i histon %19'u histon olmayan proteinlerden oluşmaktadır.

Türlere, bireylere, hatta bireyin doku ve hücre tipine göre büyük değişkenlik göstermeleri HOP proteinlerin, kromatinin yapısal oluşumunun yanı sıra özellikle gen anlatımının düzenlenmesiyle ilişkili olduklarının kanıtı.

Yüksek Hareketli Grup (HMG) Proteinler ve RNA

Küçük molekül ağırlıklı ve yüksek elektrik yüklü, kromatin kitlesinin yaklaşık % 1-5 ini kapsayan proteinler.

Jel elektroforez denemelerinde çok hızlı hareket etmeleri nedeniyle adlandırılmaları: “High Mobility Group”, Yüksek hareketi grup (HMG) proteinleri düşük moleküler ağırlıklarına sahip olmalarına karşın yüksek düzeyde elektriksel yüke sahiptir.

RNA

Kromatin yapısında az oranda (DNA'nın kitlesinin % 10'undan daha az) bulunan tek sarmallı ve küçük boyutlu bazı RNA türleri de mevcuttur. Aktif bir nükleusta RNA'sız bir DNA zaten düşünülemez.

GENOM PAKETLENMESİ

Spermdeki kromatinde, histonlara ek olarak protaminlerin (başka bazı protein grubu) bulunması. DNA'nın spermin baş kısmın sığabilmesi için daha küçük molekül ağırlıklı, DNA'ya bağlanabilen özellikteki protaminlerin DNA'nın çok yoğun paketlenme yapmasında yardımcı olmaları.

Ökaryotik hücrelerin mitokondri ve kloroplastlarında bulunan DNA molekülleri halka biçiminde olup DNA moleküllerinin bazı proteinlerin yardımıyla, kromatindeki gibi düzenli bir organizasyon olmaksızın, yapılarını yoğunlaştırıp paketlenmektedir.

GENOMUN PAKETLENME SIRASI

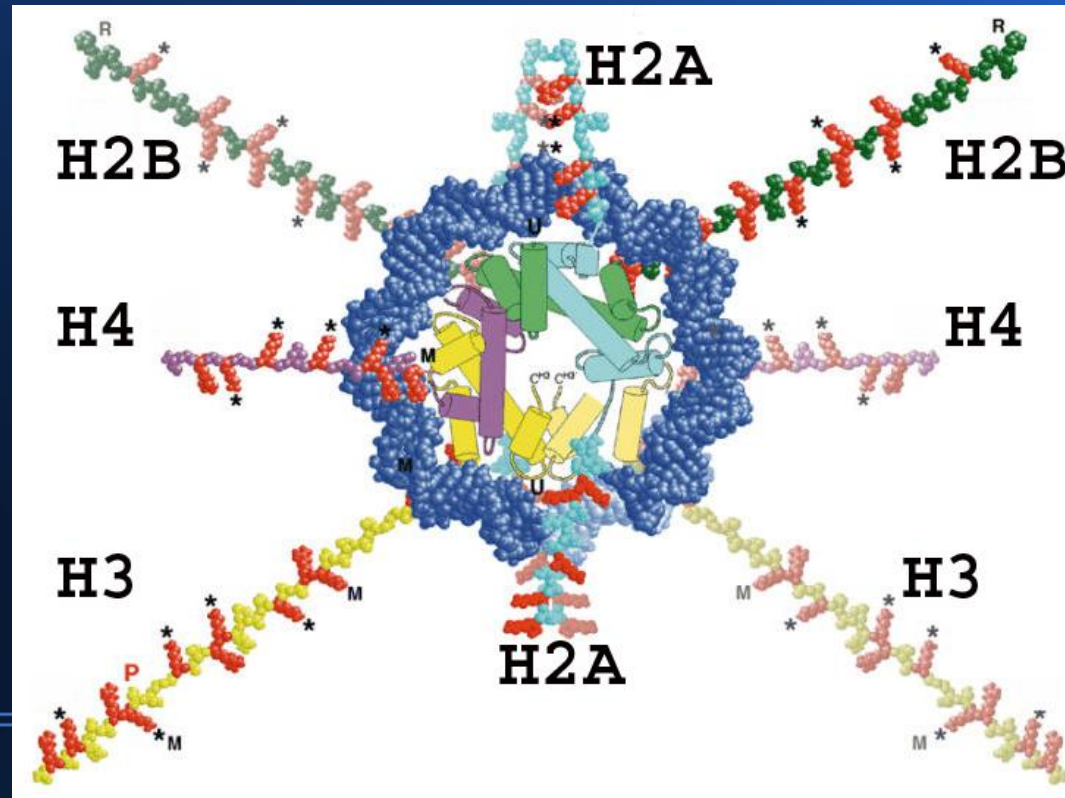
Birinci basamak (aşama), tekrarlanan kromatin birimi olan nükleozom oluşumu. Nükleozom paketlenmenin ilk basamağı ve DNA'nın nükleusta normal halidir. Nükleozom DNA ve histon oktomerlerinin bulunma şeklidir. Nükleozomun yapısına H1 histon proteini katılmaz.

Nükleozom ikişer adet H2A, H2B, H3 ve H4 histon proteinlerinden oluşan sekiz moleküllü bir iç bölge + ~200 bp boyunda DNA'dan oluşur.

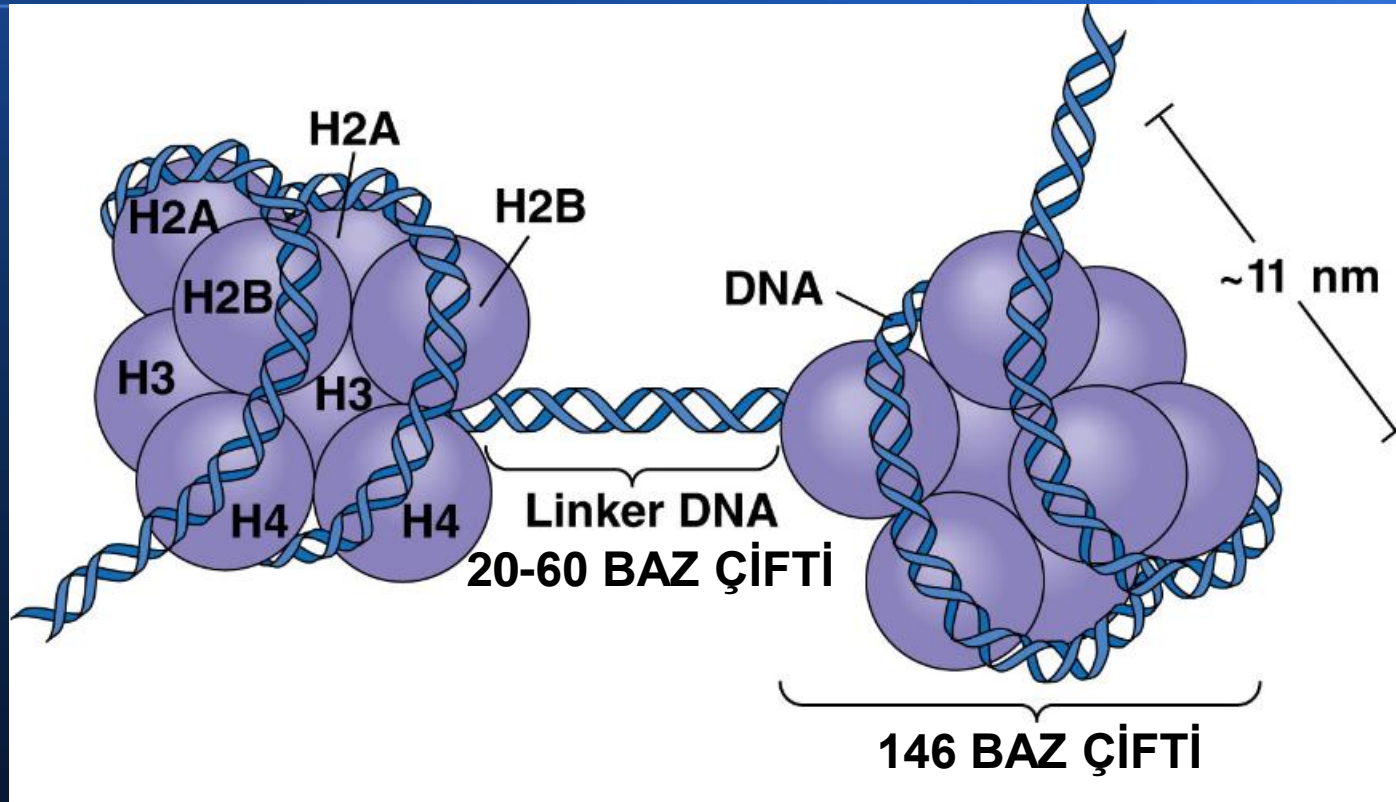
DNA'nın ~146 bp kısmının iç histon kompleksi çevresinde, bir süper kıvrımla, ~1.75 dönüm yapmaktadır.

NÜKLEOZOM

DNA VE KOR HİSTONUN BİRLİKTELİĞİ NÜKLEOZOM OLARAK ADLANDIRILIR. DNA BU AŞAMADA EN AKTİF FORMUNDADIR. KOR HİSTON 8 HİSTON PROTEİNİNDEN OLUŞUR.



NÜKLEOZOM



H1 histonlarının komşu nukleozomları birbirine yaklaştırmasıyla kromatinin *11 nm'lik yapısı oluşur*. Bu aşamada DNA'da yaklaşık 5-10 kat sıkışıp yoğunlaşmıştır.

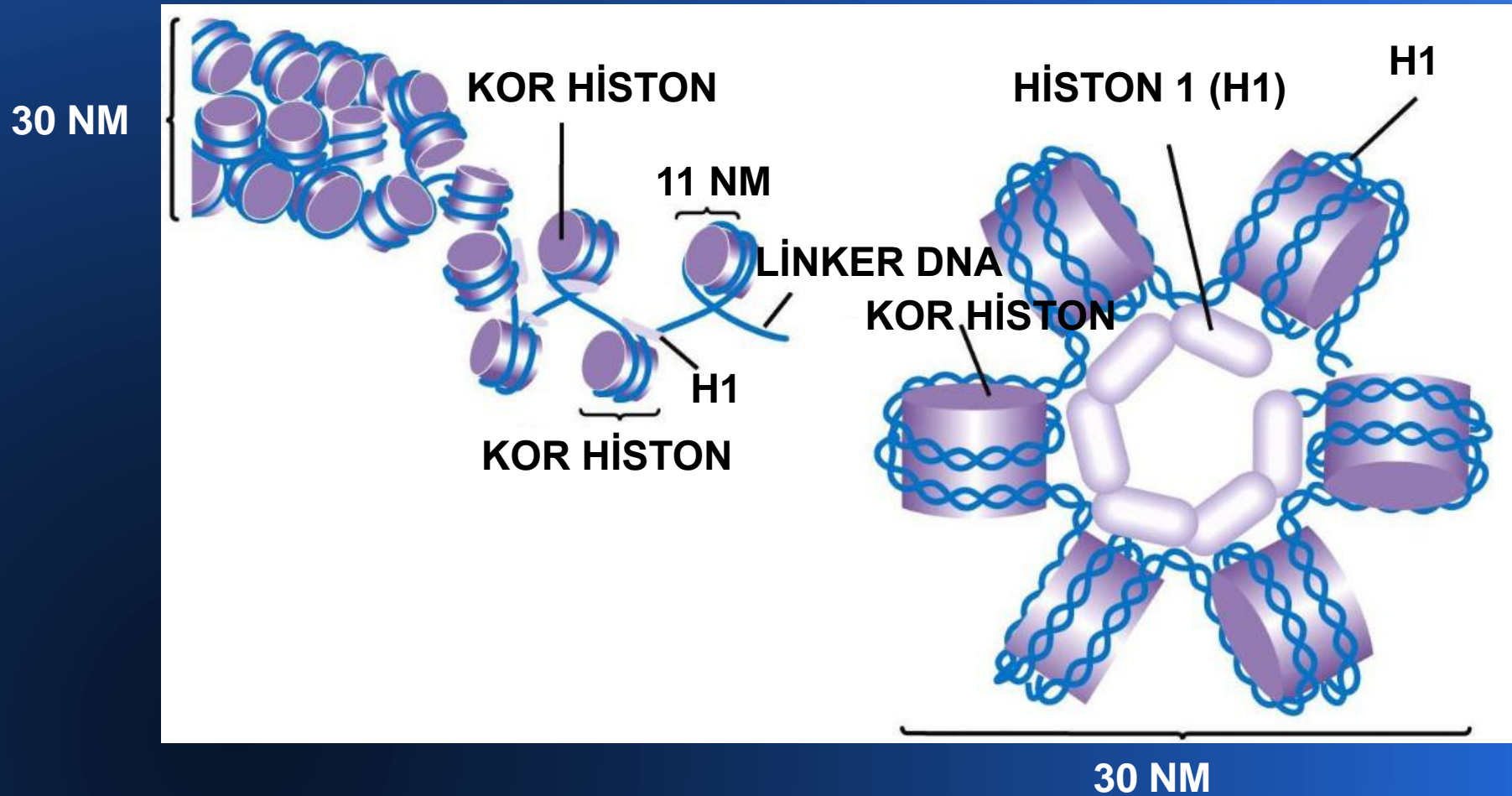
30 NM FİBRE (SOLENOİT)

İkinci aşama interfaz aşamasındaki bir kromatinin doğal yapısının oluşumudur.

11 nm'lik nükleozom yapısının, her dönüşümde ~6 nükleozom bulunacak şekilde, dönüşümler yaparak boyları kısaltılır. Bu aşamada H1 proteinleri katkı sunar.

30 nm yapıda kromatin iplikçiklerinin gerçek çapı olan 25-30 nm'ye ulaşılmıştır. Bu durumda DNA'da en az 6 kat daha yoğunlaşmış ve *DNA'nın başlangıçtaki boyunun ~40-50 kat kısalmıştır.*

30 NM FİBRE (SOLENOİT)



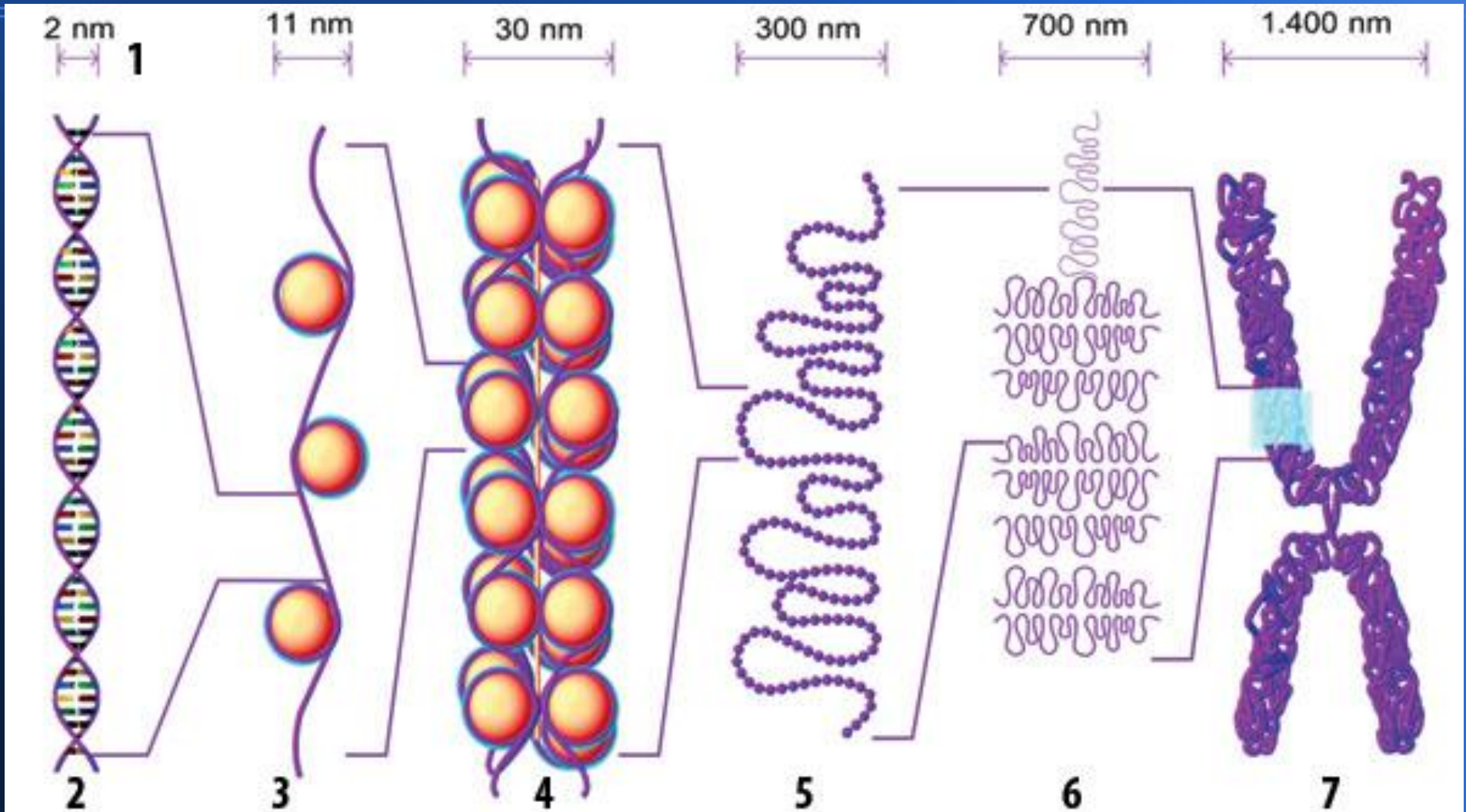
İLMİK (300 NM)

Üçüncü aşama, ilmikler ~30 nm çapındaki kromatin iplikçiklerinin ilmekler yaparak yapılarını yoğunlaştırıp ve boylarını ~100 kat daha kısaltmaları ile oluşur.

İlmiklerin katlanması ile kromatitler oluşur. Kromatitlerin oluşumunda histon oktomerleri, H1, histon olmayan proteinler, HMG proteinler ve RNA'dan yapılmış bir iskelete tutunmuş ~50-60 nm eninde ve 300-800 nm boyunda ilmek şeklinde çıkıntıların birleşimiyle de kromatitler oluşur.

Metafaz kromozomlarındaki DNA başlangıçtaki boyuna göre en az 5000 kat kısalmış duruma gelir.

DNA PAKETLENMESİ



PAKETLENME ORANI

Kromozom oluşumuna kadar süren organizasyon sırasında DNA'nın geçirdiği kısalma derecesi = *paketlenme oranı* olarak adlandırılır. Paketlenme oranı toplam genom boyunun nükleus veya bakteri, kloroplast, mitokondri, virüs, faj veya plazmit DNA büyüklüğüne bölünmesi ile de bulunabileceği gibi en yaygın olarak kromozom düzeyinde hesaplanır.

DNA'nın uzunluğu

Paketlenme oranı = -----

Kromozomun boyu

Örneğin, memelilerde ortalama 5 cm boyundaki bir DNA molekülünün, ~5 µm boyunda bir kromozomu oluşturması (⇒ paketlenme oranı ~ x10.000).

NÜKLEOTİTLERİN BİYOSENTEZİ

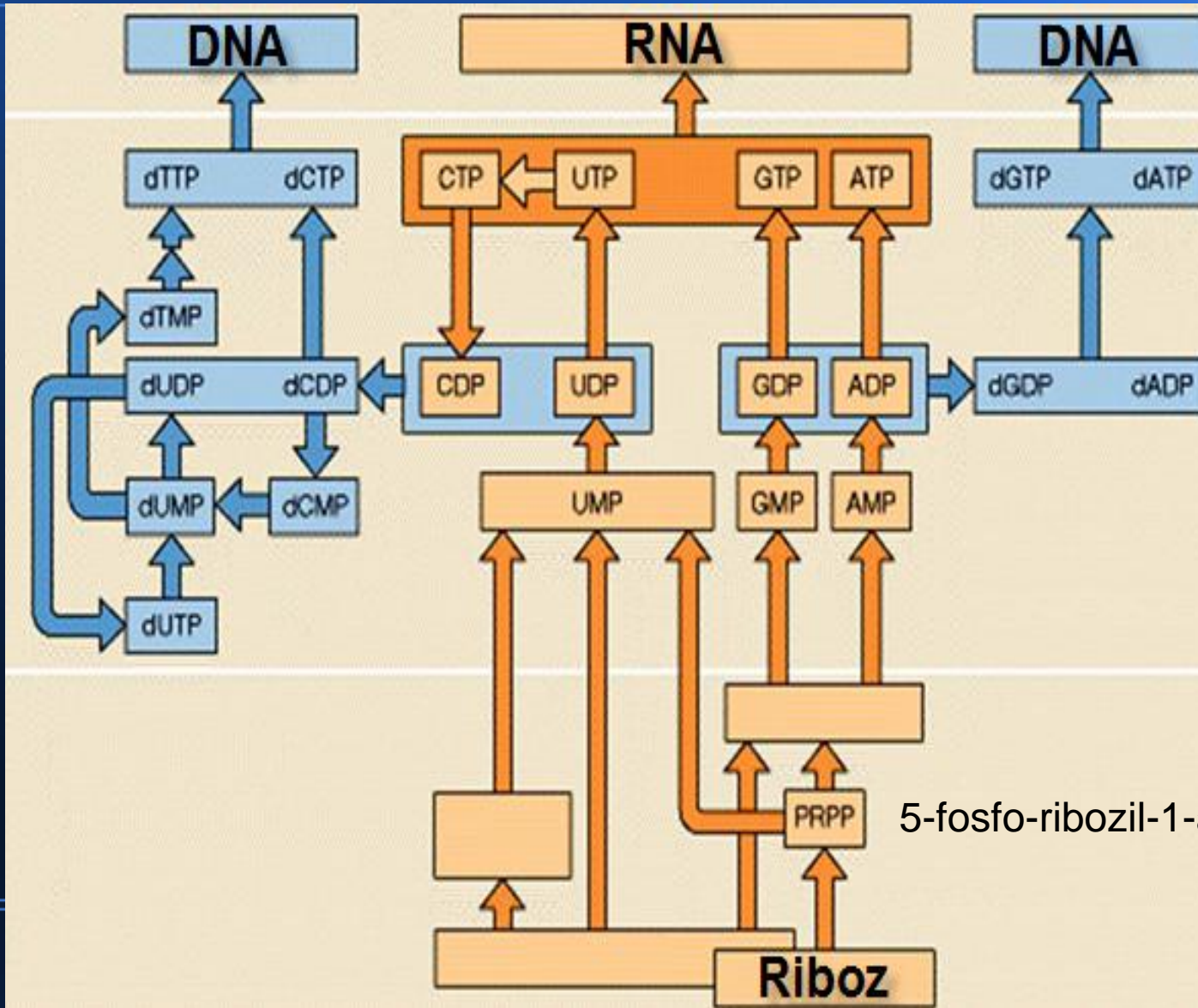
Nükleotidlerin hücrede biyosentezi sitozolde ve organellerde (mitokondri & kloroplast) gerçekleşmektedir.

Biyosentezi iki değişik patika ile sentezlenirler. Bunlar *De Novo* (Baştan) Patikası ve diğeri ise Kurtarma ("Salvage") Patikasıdır.

DNA/RNA BİYOSENTEZİNDE RİBOZ VE FOSFORİK ASİT HÜCREDE DAHA ÖNCE ÜRETİLEN RİBOZ VE DIŞARIDAN ALINAN FOSFORİK ASİT KULLANILIR.

RİBOZ GLİKOLİZE PARALEL OLAN DİĞER PATİKA "PENTOZ FOSFAT PATİKASI" DA ÜRETİLİR.

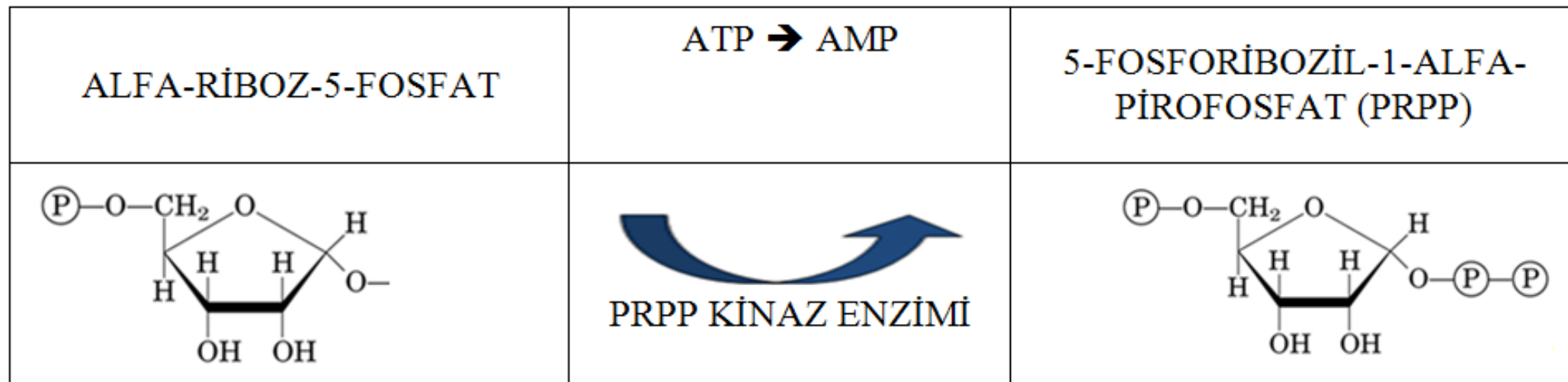
NÜKLEİK ASİTLERİN BİYOSENTEZİ



5-fosfo-ribozil-1-alfa pirofosfat

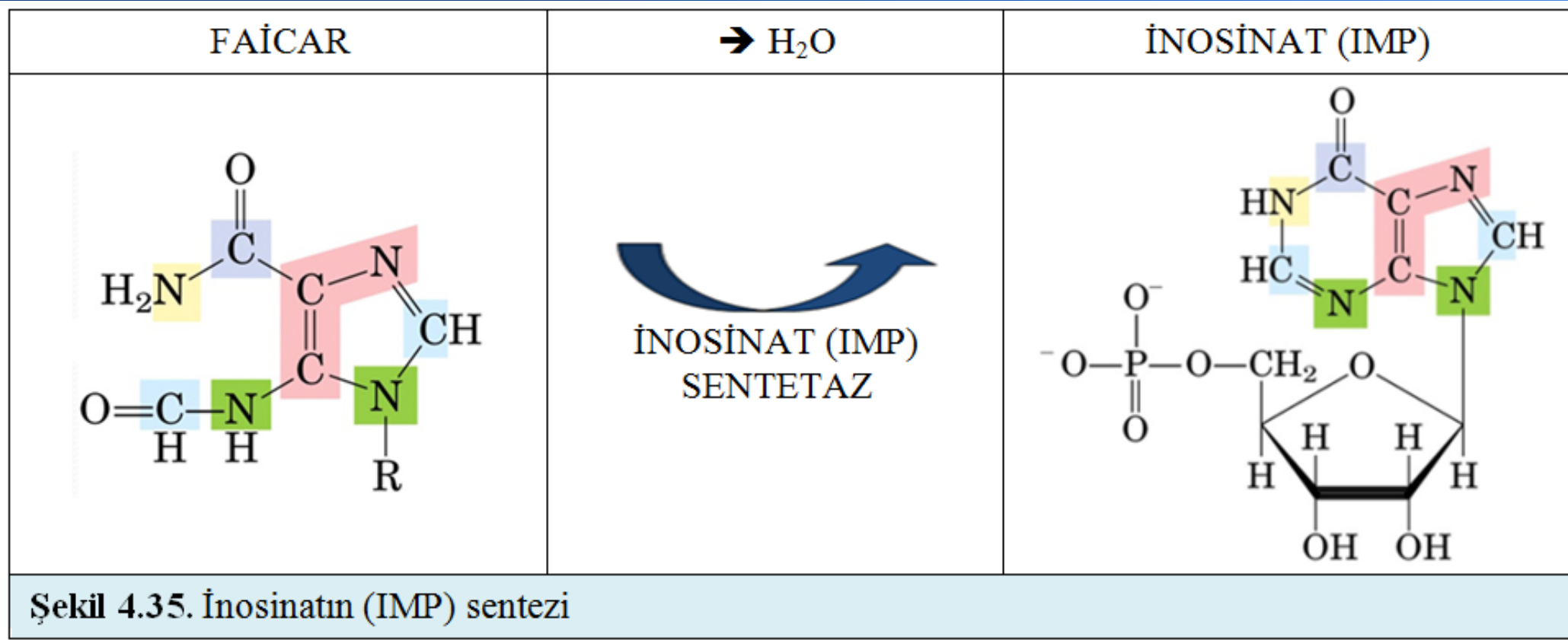
De Novo PURİN SENTEZİ

Pürin biyosentezinde ilk işlem riboz aktivasyonu işlemidir. Bu işlemde ATP molekülünden iki fosfat grubu transfer edilerek 5-fosfo-ribozil-1-alfa pirofosfat (PRPP) sentezlenir. PRPP sentezlenmesi için gerekli olan enerji ATP'den karşılanır (Şekil 4.27).

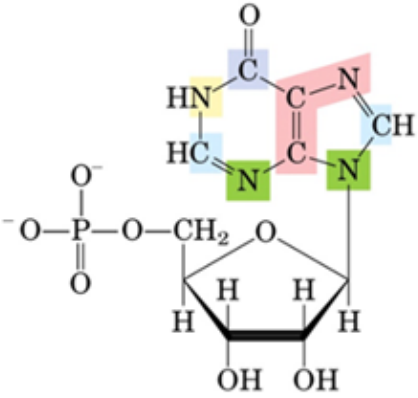

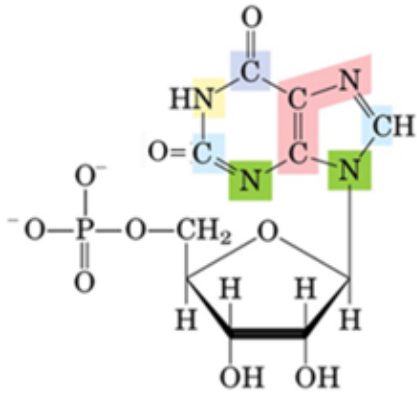
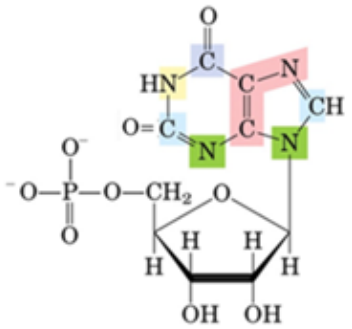

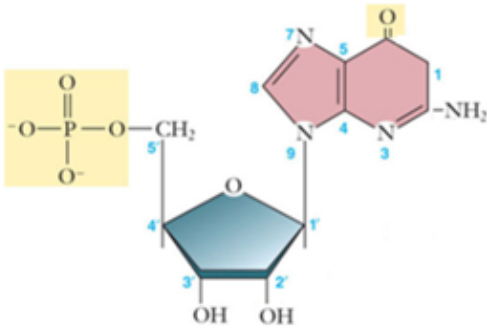


Şekil 4.27. PRPP'nin sentezlenmesi

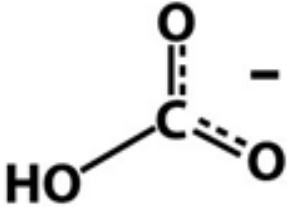

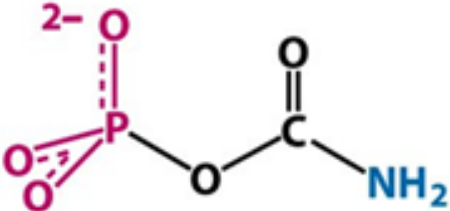
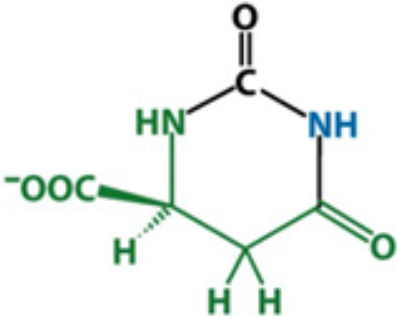

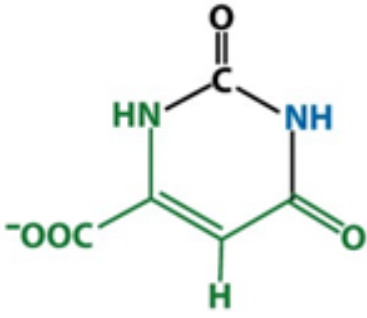
De Novo PURİN SENTEZİ

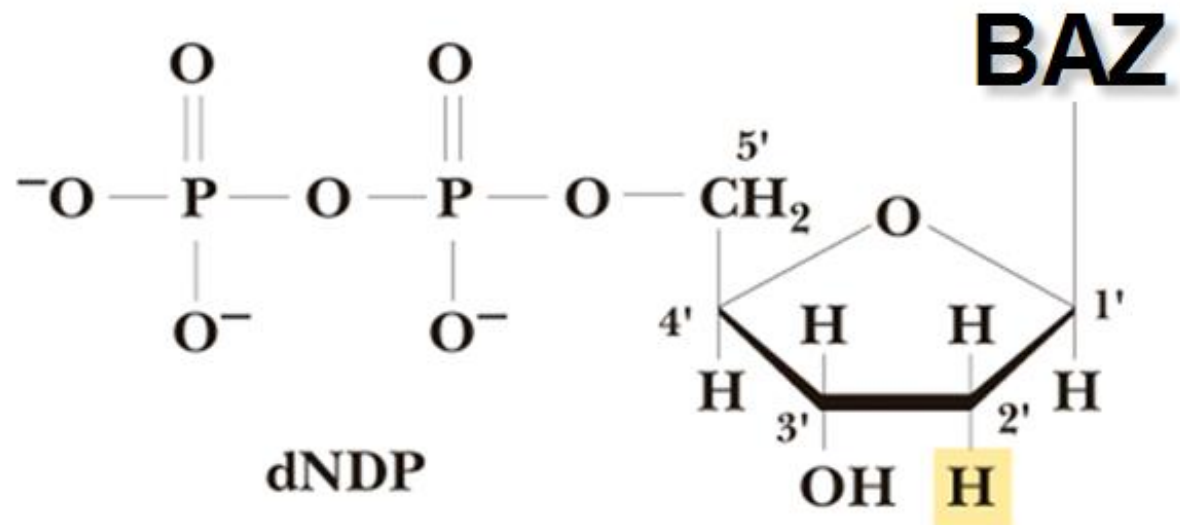
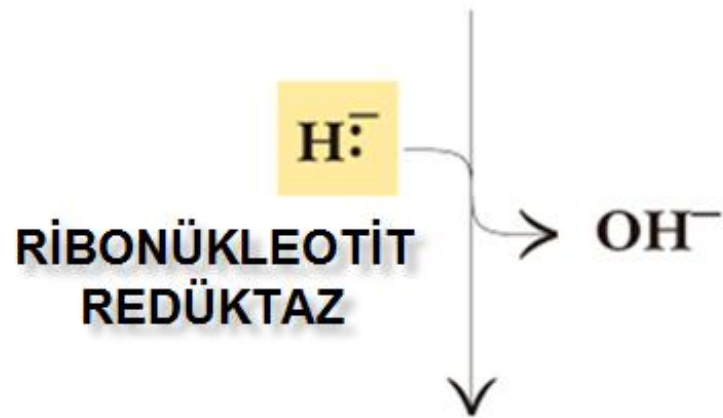
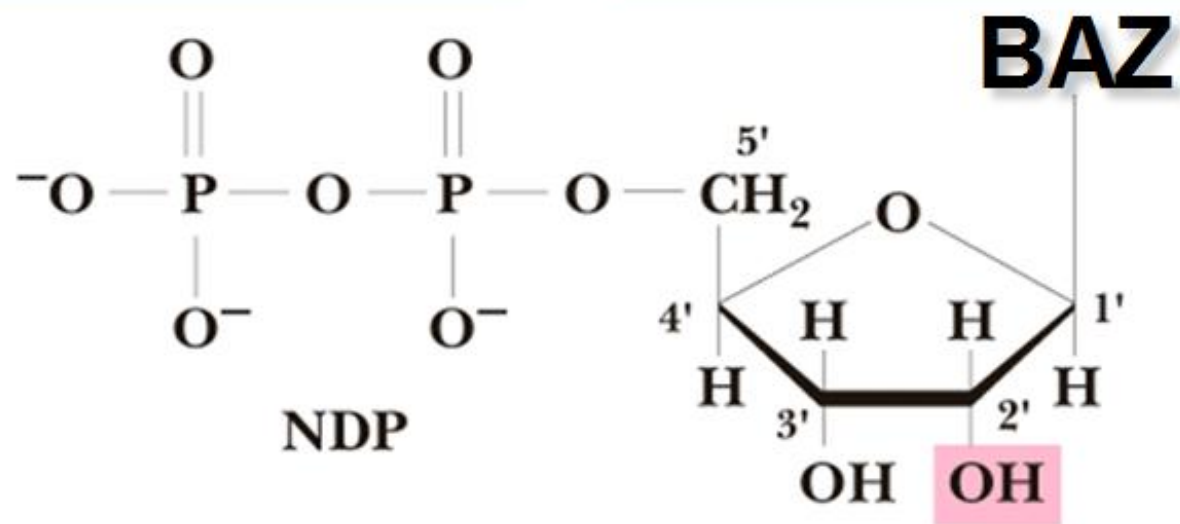


De Novo PURİN SENTEZİ

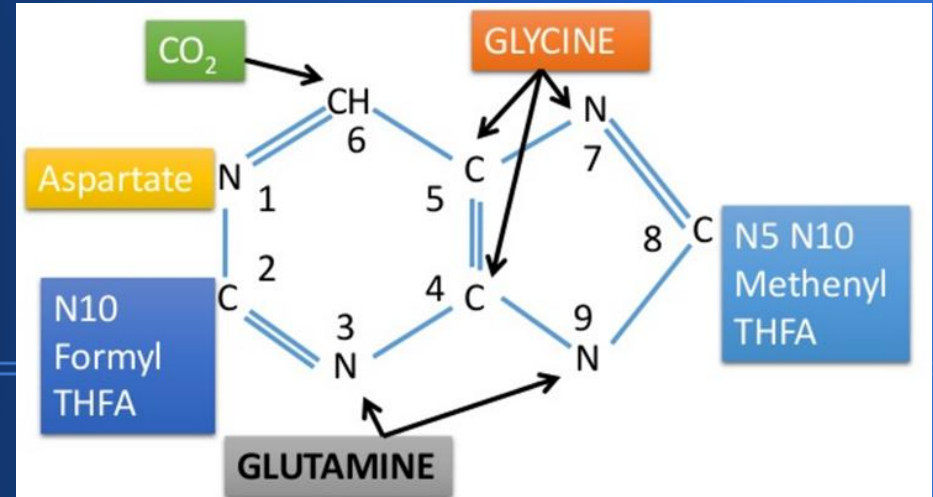
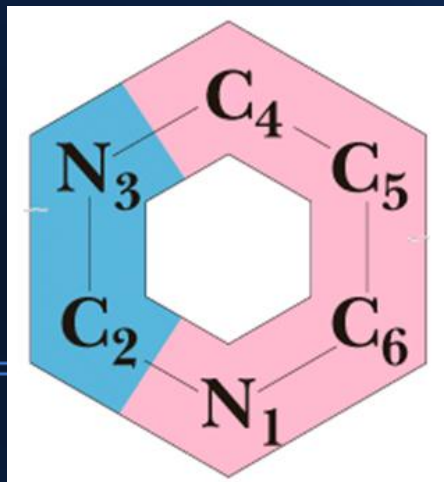
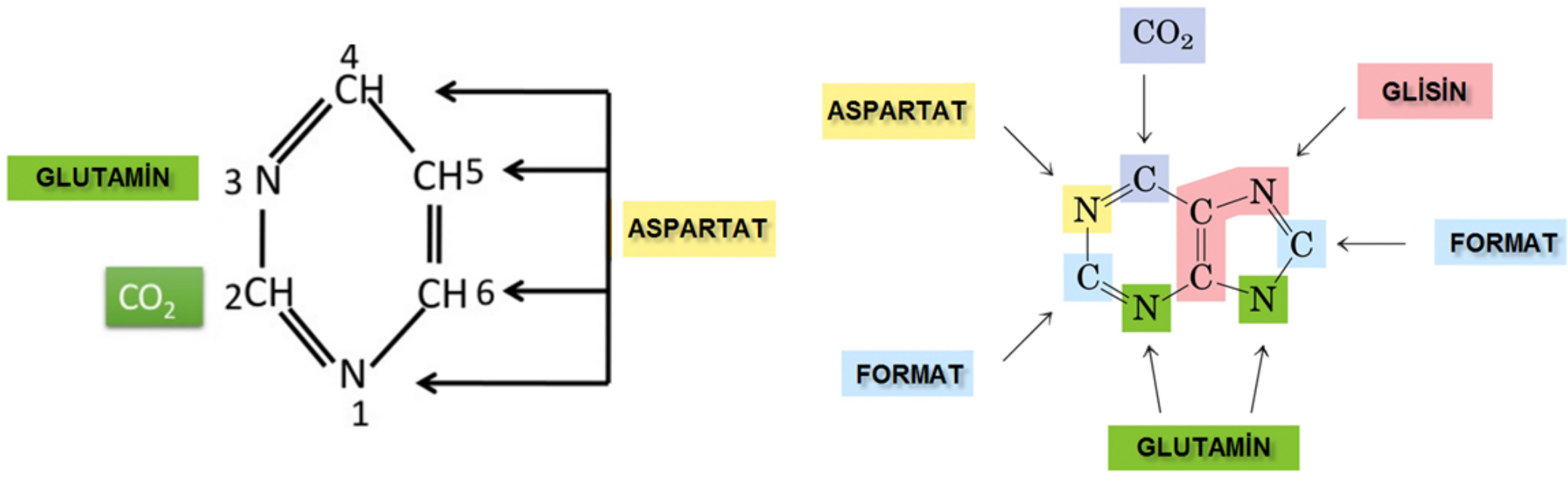
İNOSİNAT (IMP)	$\text{NAD}^+ + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{NADH} + \text{H}^+$	KSANTİN
	 <p>IMP DEHİDROGENAZ</p>	
KSANTİN	$\text{GLUTAMİN} + \text{ATP} \rightarrow \text{GLUTAMAT} + \text{ADP} + \text{PPi}$	GUANİLAT (GMP)
	 <p>KSANTİLAT GLUTAMİN AMİDO TRANSFERAZ</p>	
Şekil 4.37. Guanilatın (GMP) sentezi		

De Novo PİRİMİDİN SENTEZİ

BİKARBONAT	$2 \text{ ATP} + \text{GLUTAMİN} \rightarrow \text{ADP} + \text{GLUTAMAT} + \text{P}_i$	KARBOMOYL FOSFAT
	 KARBOMOYL FOSFAT SENTETAZ II	
DİHİDROORATAT	$\text{NAD} \rightarrow \text{NADH} + \text{H}^+$	ORATAT
	 DİHİDROORATAT DEHİDROGENAZ	



PÜRİNLERİN DE NOVO SENTEZİ (MİTOKONDİRİ, KLOROPLAST VE STOZOL)



ADIM ADIM PURİN KURTARMA (SALVAGE) PATİKALARI

ADENOSİN	ATP →	AMP
	<p>ADENOSİN KİNAZ</p>	
ADENİN	PRPP →	AMP
	<p>ADENİN FOSFORİBOSİLTRANS FERAZ</p>	
5-FOSFORİBOZİL-1-ALFA-PIROFOSFAT (PRPP)		

Şekil 4.51. Pürin salvage (kurtarma) patikası

ADIM ADIM PİRİMİDİN KURTARMA (SALVAGE) PATİKALARI

Pirimidin bazlarının veya pirimidin nükleositlerinin kurtarılma patikalarında Urasil bazı yine PRPP kullanılarak urasil fosforibosiltransferaz enzimi ile UMP'ye, Uridin nükleositi ise uridin veya sitidin kinaz enzimi yardımıyla UMP'ye dönüştürülür.

Serbest Timidin nükleositleri ise timidin kinaz enzimi yardımıyla dTMP'ye dönüştürülerek kurtarılmaktadır.

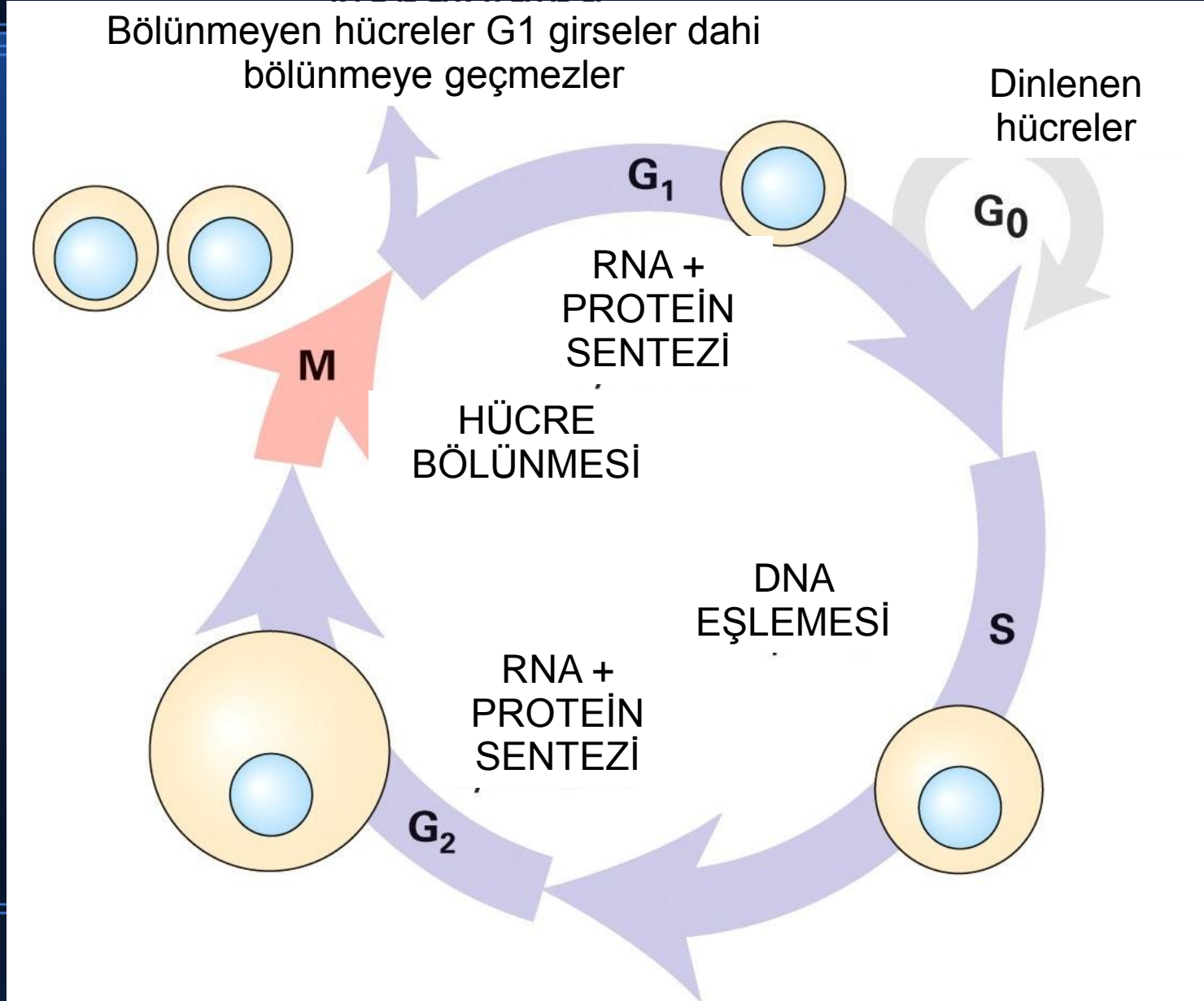
SALVAGE PATİKASININ ÖNEMİ

1. ENERJİ TASARIFI SUNAR
2. BAZI DOKU VE ORGANLARDA NÜKLEİKASİTLER DE NOVO SENTEZİ OLMAZ (BEYİN VE KEMİK İLİĞİ)
3. İÇSEL NÜKLEOTİTLERİN YIKIMI (ÖRNEĞİN mRNA)

LESCH-NYHAN HASTALIĐI

PURİN SALAVAGE PATİKASI ENZİMİ OLAN HİPOKSANTİN-GUANİN-FOSFORİBOSİLTRANSFERAZ (HGPRT)' EKSİKLİĞİNDEN KAYNAKLANIR. HASTALIK X-KROMOZOM İLE İLETİLMEKTEDİR. HASTA ZİHİNSEL ÖZÜRLÜ OLDUGU GİBİ FİZİKSEL OLARAKTA SORUNLUDUR.

HÜCRE DÖNGÜSÜ (SİKLU)SÜ)



MOLEKÜLER BİYOLOJİNİN ANA KURALI

