

MOLEKÜLER BİYOLOJİ

DOÇ. DR. MEHMET KARACA

A	α	Alfa		N	ν	Ni
B	β	Beta		Ξ	ξ	Ksi
Γ	γ	Gamma		O	o	Omikron
Δ	δ	Delta		Π	π	Pi
E	ϵ	Epsilon		P	ρ	Ro
Z	ζ	Zeta		Σ	σ	Sigma
H	η	Eta		T	τ	Tau
Θ	θ	Teta		Y	u	Upsilon
I	i	Iota		Φ	ϕ	Fi
K	κ	Kappa		X	χ	Khi
Λ	λ	Lambda		Ψ	ψ	Psi
M	μ	Mi		Ω	ω	Omega

PROKARYOTLARDA & ÖKARYOTLARDA DNA REPLİKASYONU

HER İKİ SİSTEMDE REPLİKASYON REPLİKASYON
KÖPÜĞÜNDEKİ “REPLİKASYON ORJİNİNDEN”
BAŞLATILIR.

REPLİKASYON “REPLİKON” ÜZERİNDE GERÇEKLEŞİR.

REPLİKASYON GENELLİKLE ÇİFT YÖNLÜDÜR.

REPLİKASYON YARI KORUMALI VE YARI DEVAMLIDIR.

DNA POLİMERAZLAR REPLİKASYON ENZİMİDİR.

PROKARYOTLARDA & ÖKARYOTLARDA DNA REPLİKASYONU

YENİ SENTEZLENEN SARMAL 5'=>3' YÖNÜNDEDİR.

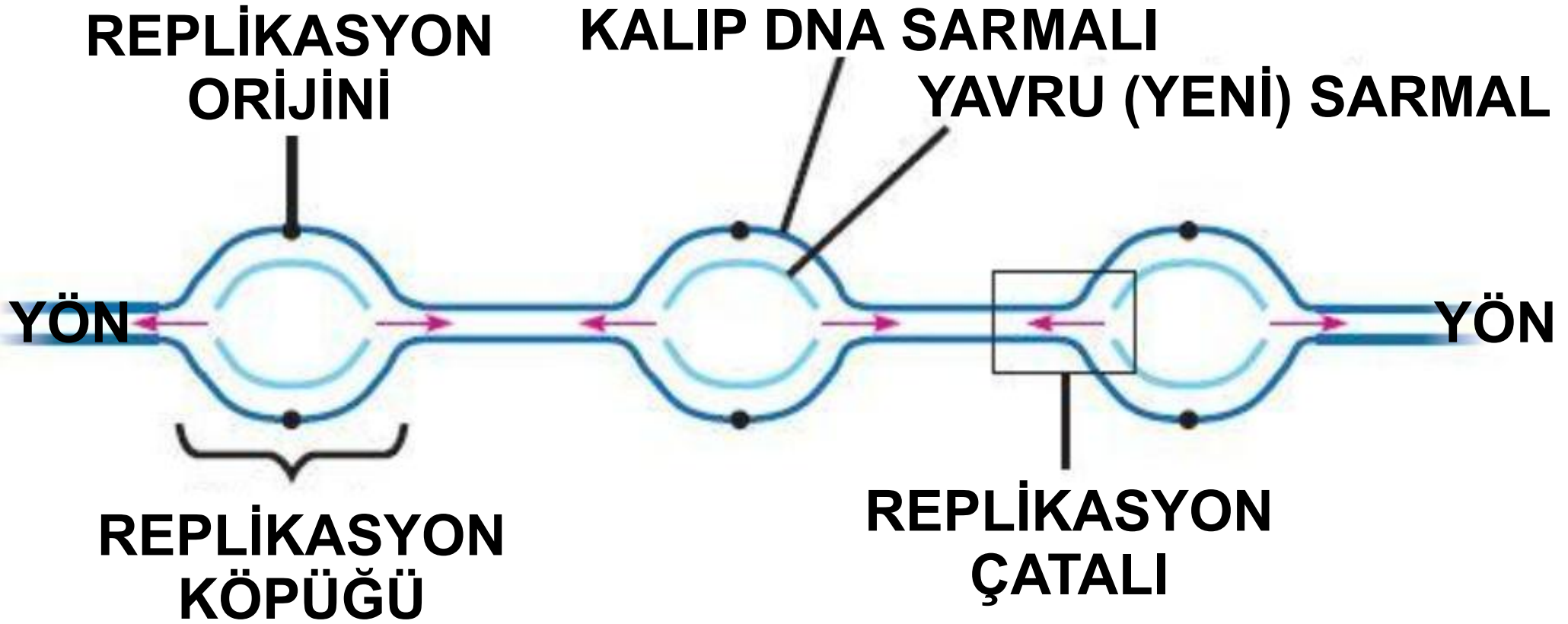
DNA REPLİKASYONU SIRASINDA NÜKLEOTİTLERİN DEOKSİRİBONÜKLEOTİTTRİFOSFAT (dNTP) FORMLARI KULLANILIR.

REPLİKASYONLARA “KALIP DNA” OLMADAN OLMAZ

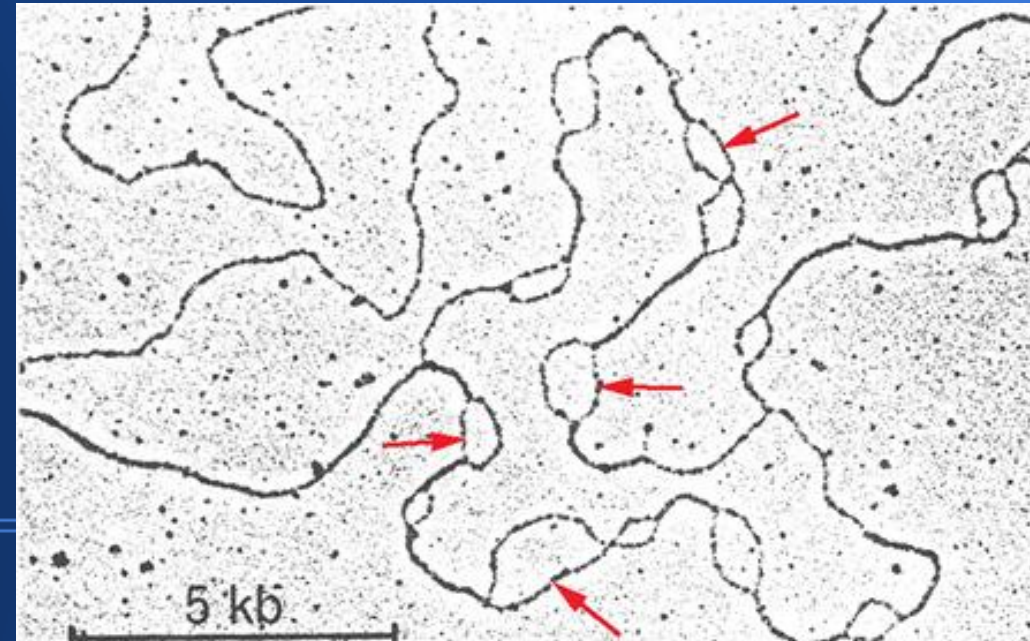
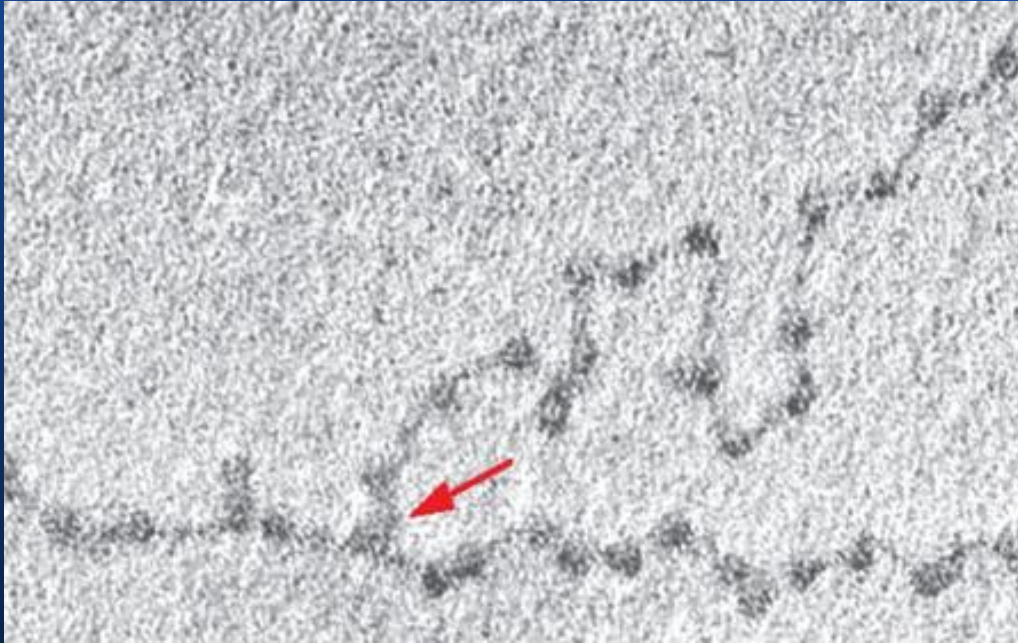
REPLİKASYONLAR “PRİMERSİZ” OLMAZ

MİTOZ VE MAYOZ BÖLÜNMELEERDE
REPLİKASYONLARA İHTİYAÇ DUYULUR.

TERMİNOLOJİ



ÖKARYOTİK REPLİKASYON KÖPÜĞÜ (KABARCIĞI) & ÇATALI



TERMİNOLOJİ

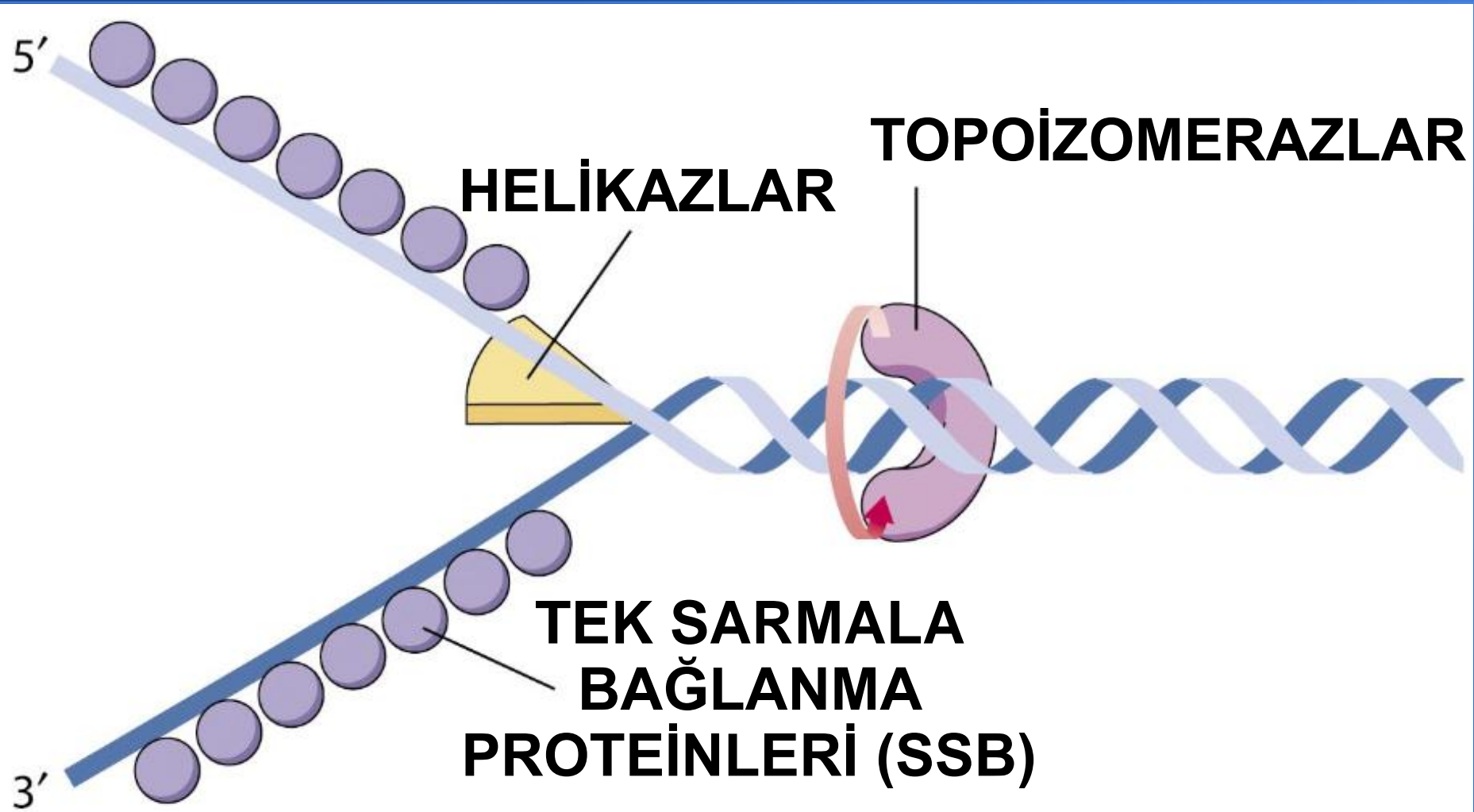
Replikasyon Çatalı: Çift sarmalın açılması ile replikasyonun ilerlediği yönde Y- şeklinde bir bölge olup replikasyon orijininde oluşur.

Replikasyon köpüğü: Replikasyon orijininde çift sarmalın açılması ile oluşan yapılardır. Prokaryotlarda aynı DNA üzerinde bir adet replikasyon köpüğü oluşurken ökaryotlarda tek bir DNA üzerinde yüzlerce yada binlerce sayıdadır.

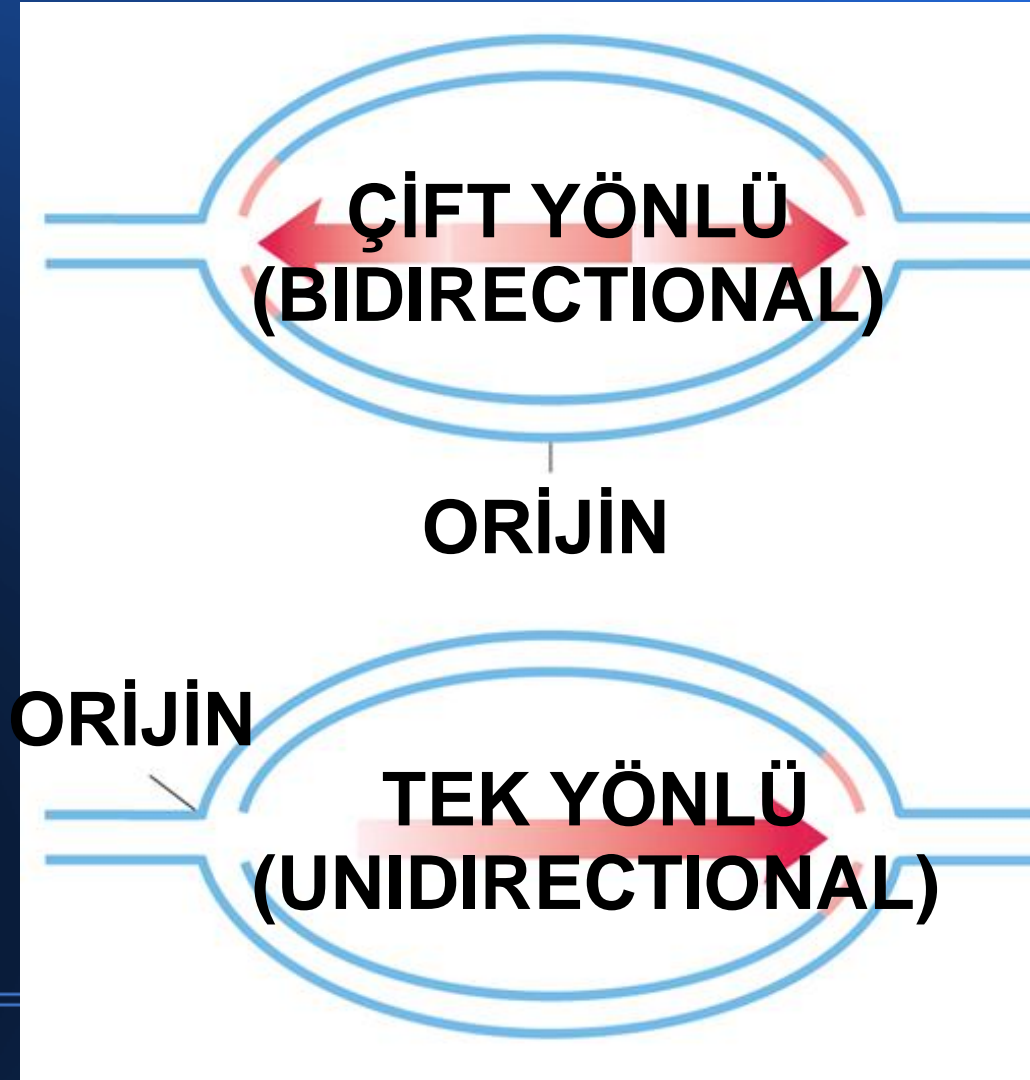
Kalıp DNA: Tamamlayıcısı 5'=>3' yönünde sentezlenecek olan DNA sarmalıdır.

Yavru sarmal: Kalıp DNA sarmalından sentezlenen ve 5'=>3' yönlü sarmaldır.

DNA Replikasyonunda Görevli Bazı Enzim ve Proteinler



TERMİNOLOJİ



DNA Replikasyonunda Görevli Bazı Enzim ve Proteinler

Helikaz: Çift sarmallı DNA moleküllerin bazları arasındaki H bağlarını çözerek heliksi tek sarmal haline dönüştürme yeteneğine sahip enzimdir. Helikazlar tüm canlılar için hayati önem taşıyan bir enzimler. DNA helikaz tek zincirli DNA boyunca 5'=>3' veya 3'=>5 yönünde hareket eder. Bu yön, helikazın DNA molekülünde hangi zincire bağlandığına göre belirlenir.

Nükleik asitlerin fosfodiester omurgası üzerinde hareket ederek birbirlerine hidrojen bağlarıyla bağlanmış nükleik asit sarmallarını (DNA'nın, RNA'nın veya RNA-DNA hibritlerinin) ayrıştırır. Bunun için ATP hidrolizinden açığa çıkan enerjiyi kullanır.

DNA Replikasyonunda Görevli Proteinler

Tek Sarmal Bağlanma Proteinleri:

DNA helikaz tarafından çift sarmalın açılması ile oluşan tek sarmallarına bağlanarak bunların tek sarmal hallerinin devamını sağlayan küçük proteinlerdir.

Nükleozom:

Önceki derslerimizde öğrendiğimiz 11 nm çapında kor histon proteinleri ve DNA molekülünden oluşan yapı DNA replikasyonu sırasında açılması ve yeni sarmallarda yeniden yapılması yanında eski sarmalda yeniden kurulması gerekir.

DNA Replikasyonunda Görevli Enzim ve Proteinler

DNA Topoizomerazlar:

DNA topolojisini düzenleyen enzimlerdir. DNA'da süper kıvrımları oluşturan ya da süper kıvrımları ortadan kaldıran veya her iki görevi de yapan enzimlerdir.

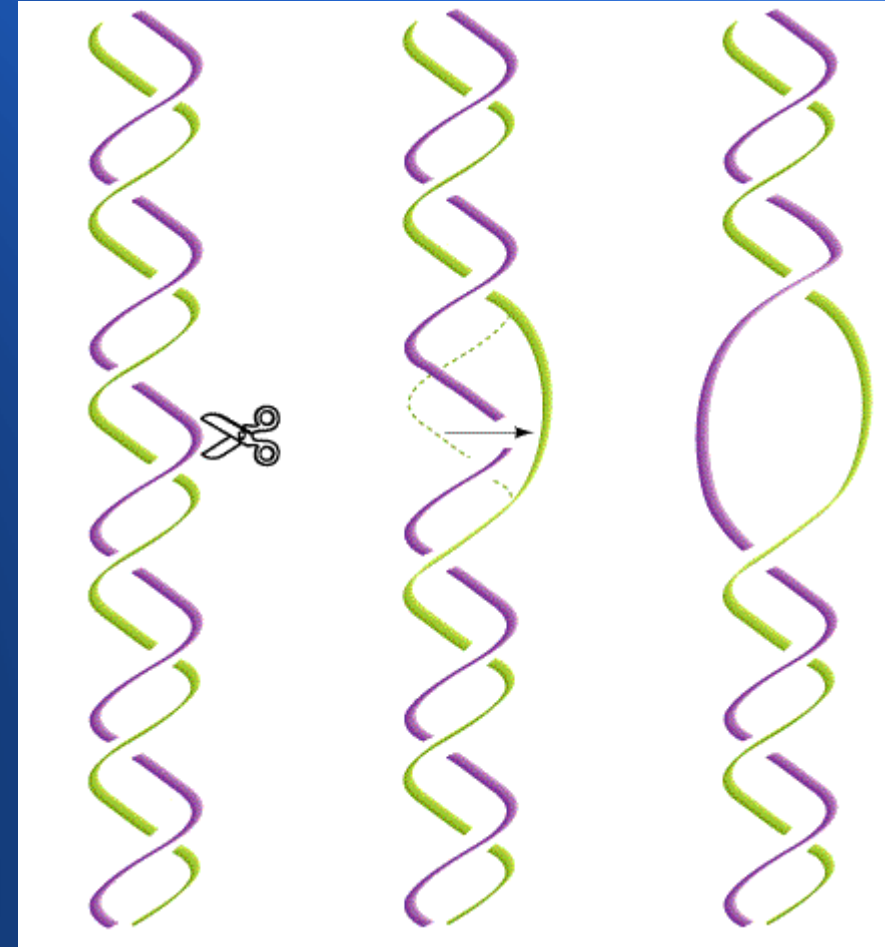
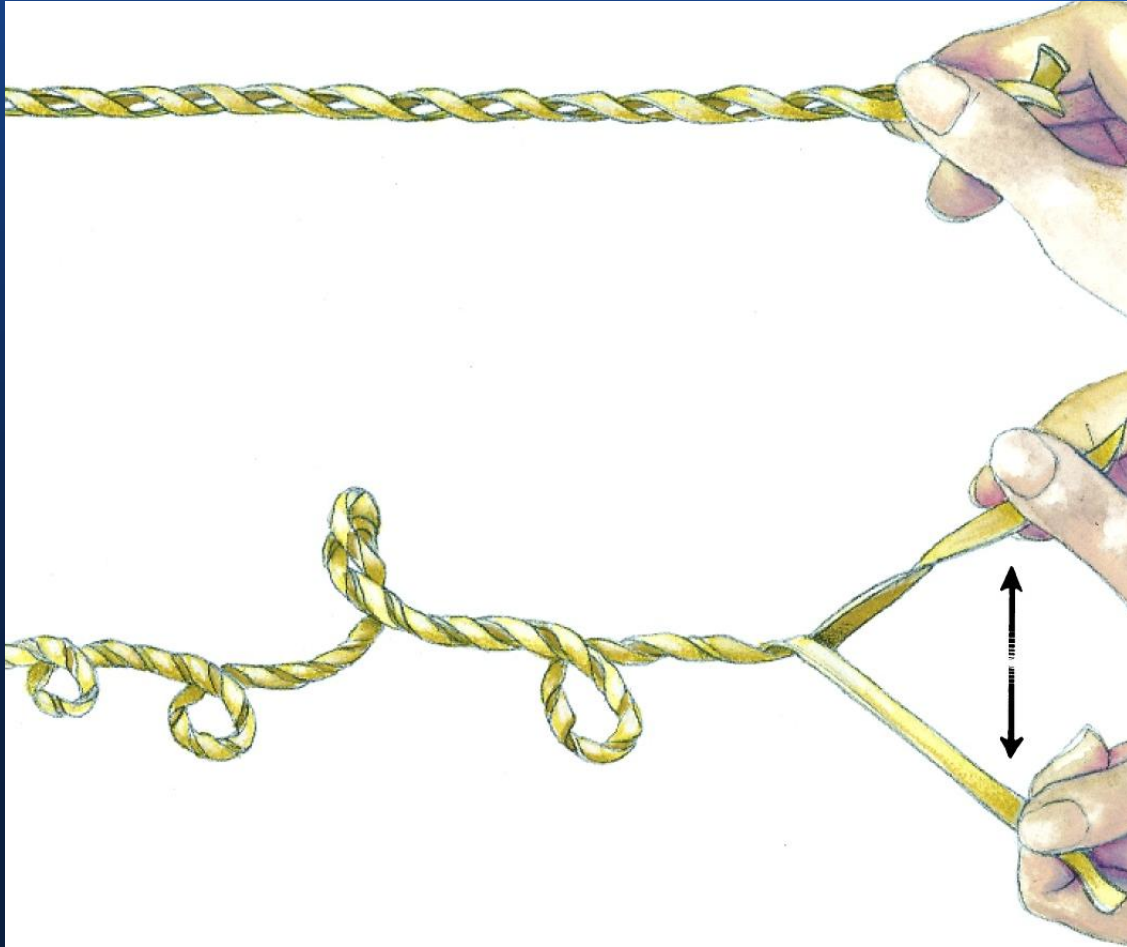
Tip I topoizomerazlar:

DNA'nın tek zincirini kırarak, bir adet bağlantı sayısını değiştirirler. DNA'da bir negatif ya da pozitif süper kıvrımları açarlar.

Tip II topoizomerazlar:

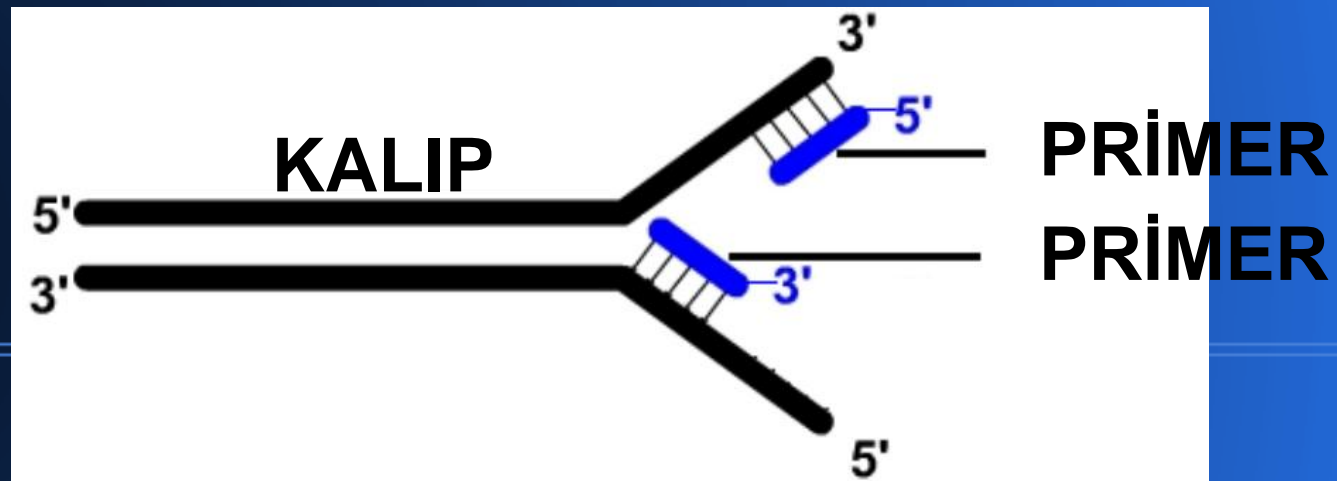
DNA'nın her iki zincirini de kırarak iki adet bağlantı sayısını değiştirirler. DNA'ya iki süper kıvrımları ilave ederler.

DNA Replikasyonunda Görevli Enzimler



DNA Replikasyonunda Görevli Primerler

Tek sarmallı ve genellikle 10-12 nükleotit uzunluğunda 5'=>3' yönünde DNA veya RNA molekülü olup kalıp DNA molekülüne komplementer DNA dizileri içeren, in vitro ve in vivo DNA replikasyonunda görev yapan nükleotit zincirleridir. DNA replikasyonunda RNA primerleri görev yapar. DNA replikasyonu sırasında DNA polimerazın yeni sarmalı sentezlemesi için 3'-OH sağlayan 10-12 nükleotit uzunluğunda RNA molekülüdür.



FARKLI PRİMER TİPLERİ

Ökaryotik hücre DNA replikasyonu sırasında kullanılan primer RNA nükleotit dizisidir ve primerin sentezlenmesi için başka bir primer dizisi gerekmez.

Önceden sentezlenmiş olan bir DNA/RNA kalıp olarak kullanılarak DNA zinciri uzatılabilir. Örneğin Telomeraz enzimleri ne primere nede kalıp DNA'ya ihtiyaç duyarlar.

Bazı enzimler var olan sarmalı uzatma yeteneğine sahiptirler.

Bazı enzimler DNA veya RNA primerleri kullanmadan özel bir proteini “primer” olarak kullanabilmektedir (protein kalıp DNA'ya bağlanarak 3'-OH uzantısı yapabilmektedir).

SENS/ANTİSENS/LİDER/ DEVAMLI/DEVAMSIZ SARMAL

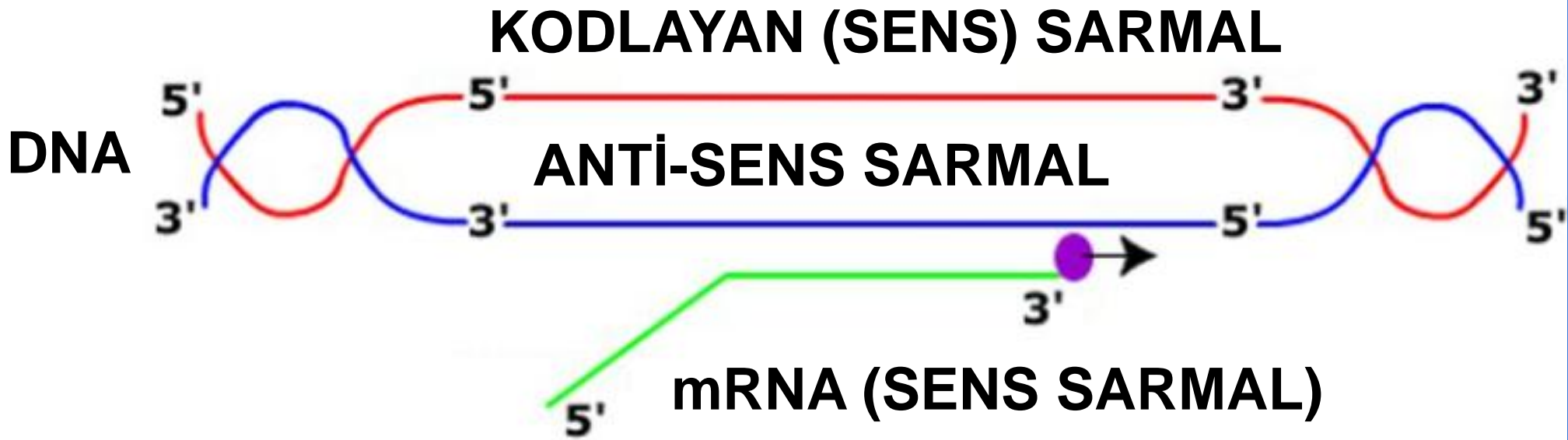
DNA'NIN 5'=>3' YÖNÜNDEKİ SARMALI BAZEN SENS SARMAL OLARAK ADLANDIRILIR.

DNA'NIN 3'=>5' YÖNÜNDEKİ SARMALI BAZEN SENS SARMAL OLARAK ADLANDIRILIR (KALIP DNA)

ÖNDE (LEADING) SARMAL= DEVAMLI SARMAL=KESİNTİSİZ SARMAL: KALIP DNA'SI 3'=>5' YÖNÜNDE OLAN YAVRU SARMALDIR.

GECİKEN (LAGGING) SARMAL=KESİNTİLİ SENTEZLENEN SARMAL KALIP DNA'SI 5'=>3' YÖNÜNDE OLAN YAVRU SARMALIDIR.

DNA TRANSKRİPSİYONU TERMİNOLOJİSİ



DNA Replikasyonunda Görevli Enzim ve Proteinler

DNA Primaz (“DNA primeraz”): Bir çeşit RNA polimeraz olup kalıp DNA molekülünü kullanarak kısa bir dizi RNA molekülü sentezler. Bu DNA replikasyonunun primeridir. Primer ve primaz olmadan DNA replikasyonu gerçekleştirilemez.

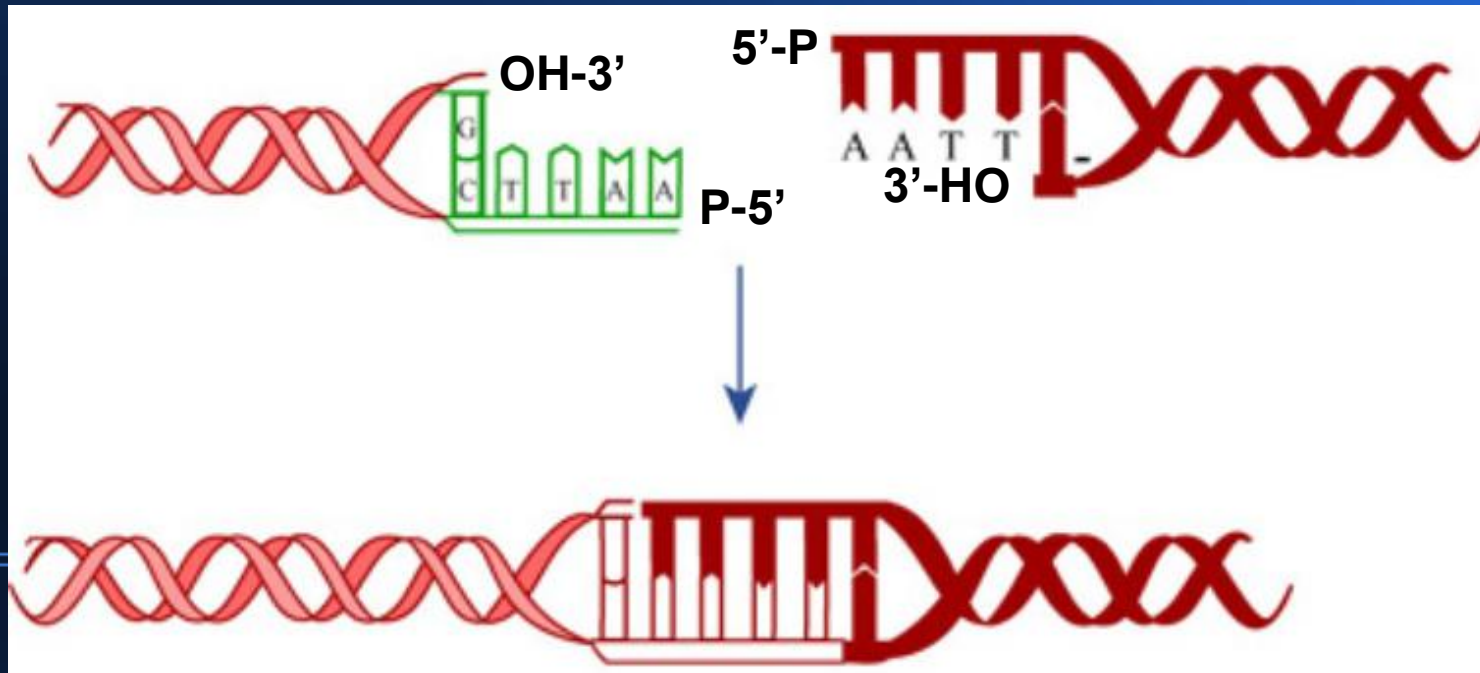
Önde sarmal için replikasyon orijininde tek bir adet, duraksayan sarmal için ise çok sayıda RNA Primerini sentezleyen enzimdir.

Primaz tarafından sentezlenen RNA molekülü 5'=>3' eksonükleaz enzimi tarafından kaldırılır.

DNA Replikasyonunda Görevli Enzim: DNA LİGAZ

Bir DNA molekülünün 3' hidroksil ucu ile diğer bir DNA molekülünün 5' fosfat ucu arasında bir "fosfodiester" bağ oluşturan enzimdir.

DNA ligaz, DNA replikasyonunda ve onarımında ve rekombinasyon süreçlerinde önemli rol oynar.



OKAZAKİ DNA PARÇASI (FRAGMANI)

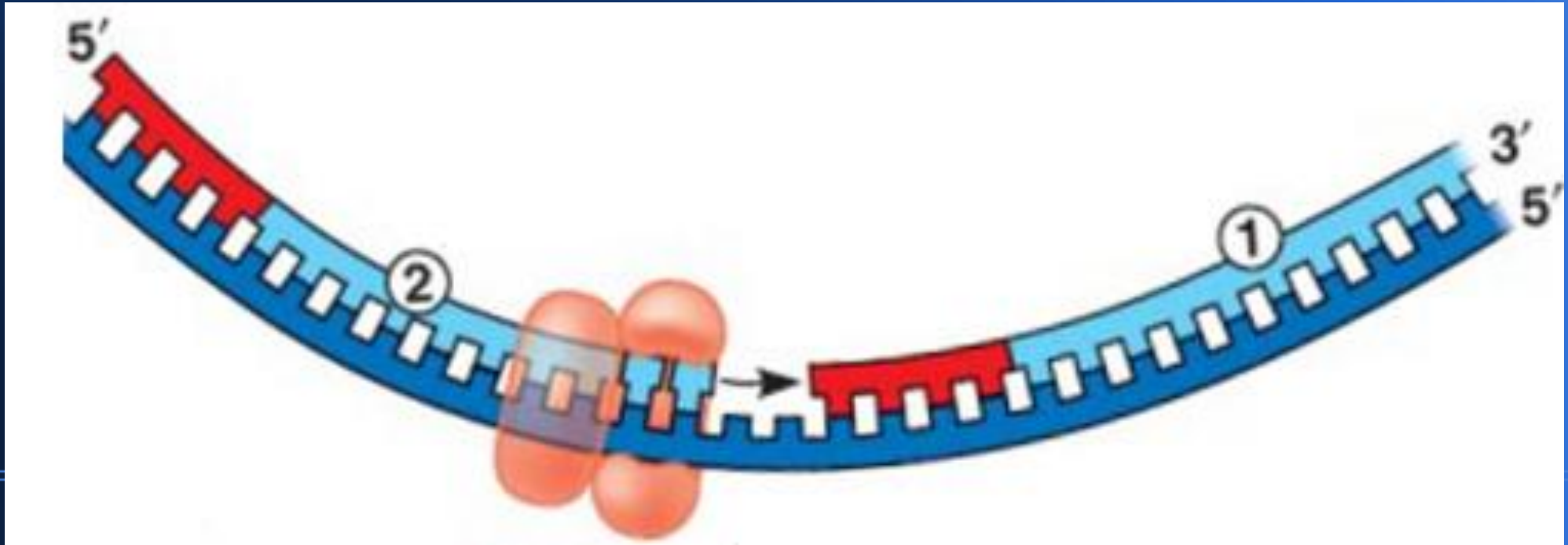
5'=>3' yönündeki kalıp DNA sarmalından duraksamalı (kesintile, geriden gelen) olarak sentezlenen yavru DNA parça parça sentezlenir. Bu her bir parçaya Okazaki DNA parçası adı verilir.

Prokaryotlarda her bir Okazaki DNA parçası “1000-2000 bp” iken Ökaryotlarda bunların boyu çok daha kısadır (“100-400” bp).

Diğer bir tanımla Okazaki Fragmanı duraksamalı sarmal üzerinde sentezlenen 2 RNA primerinin arasında sentezlenmiş olan DNA parçasıdır.

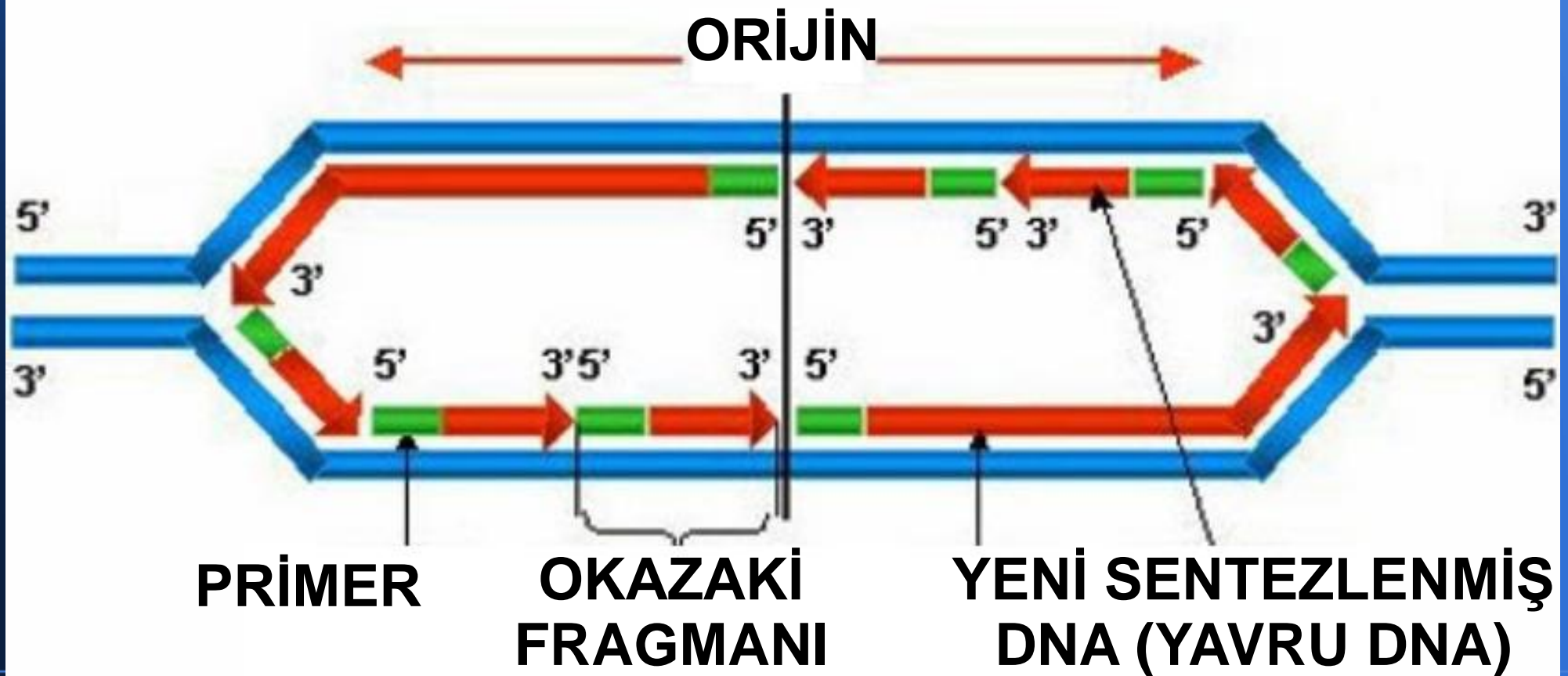
OKAZAKİ DNA PARÇASI (FRAGMANI)

Kesintili sarmaldaki çok sayıdaki primer DNA polimeraz II tarafından kaldırılıp yeni DNA parçaları sentezlendikten sonra eski sentez ile yeni sentez arasındaki bağlantılar diğer bir söylemle fosfodiester bağları DNA ligaz enzimi tarafından bağlanır.



OKAZAKİ DNA PARÇASI

Okazaki fragmanlarının uzunlukları bakterilerde 1000-2000 bp, ökaryotlarda 100-400 bp.



(Reiji Okazaki)

DNA REPLİKASYONU

DNA replikasyonu, DNA çoğalması, DNA ikileşmesi ya da DNA sentezi, canlının yaşamını sürdürebilmesi için zorunlu süreçtir.

DNA replikasyonu sırasında 3 farklı hata durumu ortaya çıkabilir. 1. Bazın eklenmemesi, 2. fazla bazın eklenmesi ve 3. yanlış bir bazın eklenmesidir. Her DNA polimeraz 3'=>5' hata düzeltim aktivitesinden dolayı bu hata yapma şanslarını azaltırlar.

Ayrıca DNA 1. iyonizasyon radyasyonu ile heliks iskeleti kırılabilir, 2. Metabolitler – baz yapısını değiştirebilir, 3.

UV Radyasyonu – primidin dimerleri oluşturur.

REPLİKASYONU İÇİN KURALLAR

Yeni sentezlenen DNA sarmalı daha önce var olan diğer bir sarmalın (Kalıp Sarmalı) komplementeridir.

Kalıp Sarmal: DNA replikasyonunda var olan çift sarmallı DNA, yeni sentezlenecek olan diğer sarmal için kalıp görevi görür.

DNA sentezi sırasında sadece tek baz eklenir, bu işlem bitince sıradaki baz eklenir. Eklenen baz her zaman üç fosfatlı nükleotitlerdir (Nükleotit trifosfat)

Sentez trifosfatın parçalanması ve monofosfatın eklenmesi ve pirofosfatın uzaklaştırılması ile gerçekleşir.

Yeni sentezlenen sarmal her zaman 5' den 3' yönünde gerçekleştirilir. Uzatılacak sarmalın 3'-OH ucuna eklenecek nükleotitin 5' fosfatlı ucuna eklenir.

Primer dizileri ve kalıp DNA sarmal mutlaka gereklidir.

REPLİKASYONU İÇİN KURALLAR

DNA REPLİKASYONU “PROKARYOTLARDA” TEK BİR BÖLGEDEN BAŞLATILIR VE BELİRLİ BİR BÖLGEDE TAMAMLANIR.

ÖKARYOTLARDA İSE REPLİKASYON “ÇOK SAYIDA” BÖLGEDEN BAŞLATILIP TAMAMLANABİLMEKTEDİR.

DNA REPLİKASYONU “REPLİKON” OLARAK İSİMLENDİREN BİR BÜTÜN NÜKLEİK ASİT ÜZERİNDE GERÇEKLEŞTİRİLİR.

TEK BİR DNA MOLEKÜLÜ İÇEREN ORGANİZMALARA TEK BİR REPLİKON, ÇOK SAYIDA DNA MOLEKÜLÜ İÇEREN ORGANİZMALARDA İSE ÇOK SAYIDA REPLİKON VARDIR.

OLASI DNA REPLİKASYON MODELLERİ

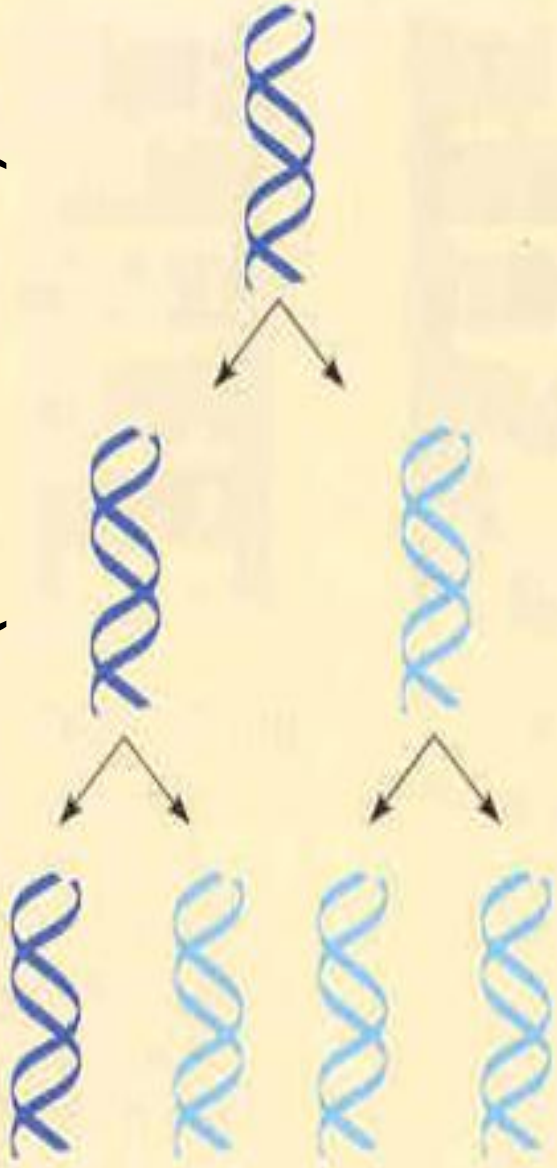
DNA replikasyonunun nasıl gerçekleştiği Meselson ve Stahl 1957 izotop kullanarak yarı-orijinal (semi-conservative replication) veya diğer adıyla **YARI KORUMALI DNA** replikasyon olarak saptamışlardır.

Denemelerinde *E. coli* kültürünü ^{15}N nitrogen (ağır bir izotop) başlatmışlar daha sonra kültürde ^{14}N (hafif) bir kültürde devam ettirmişlerdir.

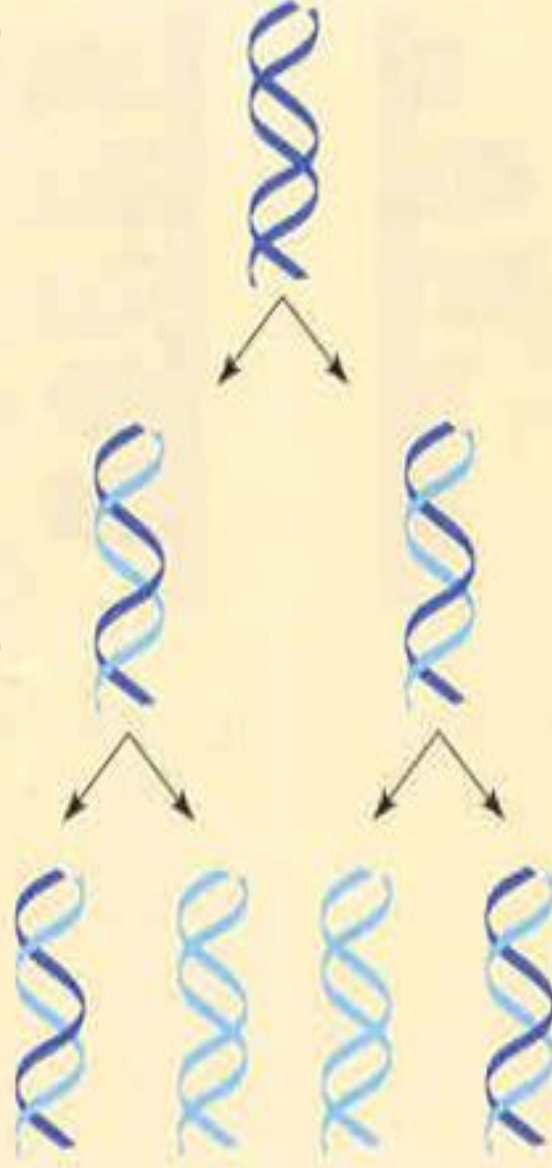
Bakteri DNA'larını izole ederek Sezyum Klorit (cesium chloride) santrifüjlemesi sonucunda yeni oluşan bakteri DNA'larının bir sarmalında ^{14}N , diğer sarmalında ise ^{15}N saptamışlardır.

OLASI DNA REPLİKASYON MODELLERİ

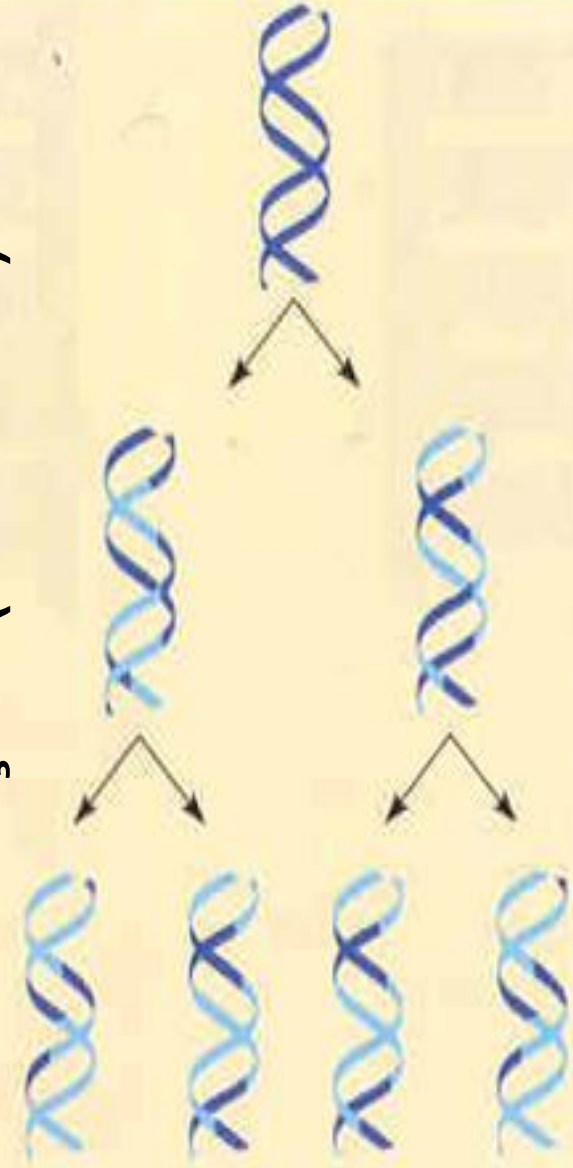
KORUMALI (KONSERVATİF)



YARI-KORUMALI (SEMİKONSERVATİF)



PARÇALI (DİSPERSİF)



REPLİKON

Bir başlangıç noktasından başlayarak replikasyon geçiren DNA'nın tümüdür. Başlatıcı (*“initiator”*) , sonlandırıcı (*“terminator”*) ve ikisi arasındaki DNA dizilerinden oluşan CİS bölgeleri içerir.

Replikonda replikasyon başlatılması için trans faktörlerinin bağlandığı kısım bazen REPLİKATÖR olarak da adlandırılır.

CİS elementi replikonun fiziksel bir parçası iken TRANS elementi ise protein veya replikon dışı diğer moleküllerdir.

BAKTERİDE DNA REPLİKASYONU

DNA replikasyonu başlıca üç ana kısım altında incelenebilir.

Bunlar:

Başlama (inisasyon),

İlerleme (elongasyon)

sonlanma (terminasyon)

olarak adlandırılabilir.

İNİSASYON

Replikasyonun replikasyon orijininde başlatılabilmesi için kompleks bir yapıya ve enzimlere ihtiyaç duyulur. ÇOĞALMA ÖNCESİ KOMPLEKSİ olarak adlandırılan bir komplekse ihtiyaç vardır.

DnaA proteini DnaA kutusunda bağlanır. DnaA'nın bağlandığı OriC'de 245 bp uzunluğunda bir DNA ünitesidir.

E. coli'de 5 DnaA kutusu bilinmektedir. Bu diziye DnaA dimer proteinlerinin bağlanması negatif süper kıvrım oluşturur.

İNİSASYON

Bu durum OriC de bulunan ve toplam 3 adet (K, L ve M) DnaB kutusunda kısmi denatüre olmasına neden olur.

DnaB6-DnaC kompleksi (hekzamer) denatüre olmaya başlayan sarmallardaki M ve L kutularına bağlanırken DnaC proteini ATP'nin hidrolizi ile DnaB6-DnaC kompleksinden ayrılır.

DnaB6 kompleksi önde giden sarmaldaki M DnaB kutusuna, Diğer DnaB6 kompleksi ise duraksamalı sarmalın R kutusuna bağlanır.

İNİSASYON

DNA replikasyonun devamı için tek sarmala bağlanma proteinleri bağlanır.

Helikaz (DnaB) proteinin oluşturmuş olduğu negatif süper kıvrımın uzaklaştırılması için DNA giraz (Topoizomeraz I) ihtiyaç duyulur.

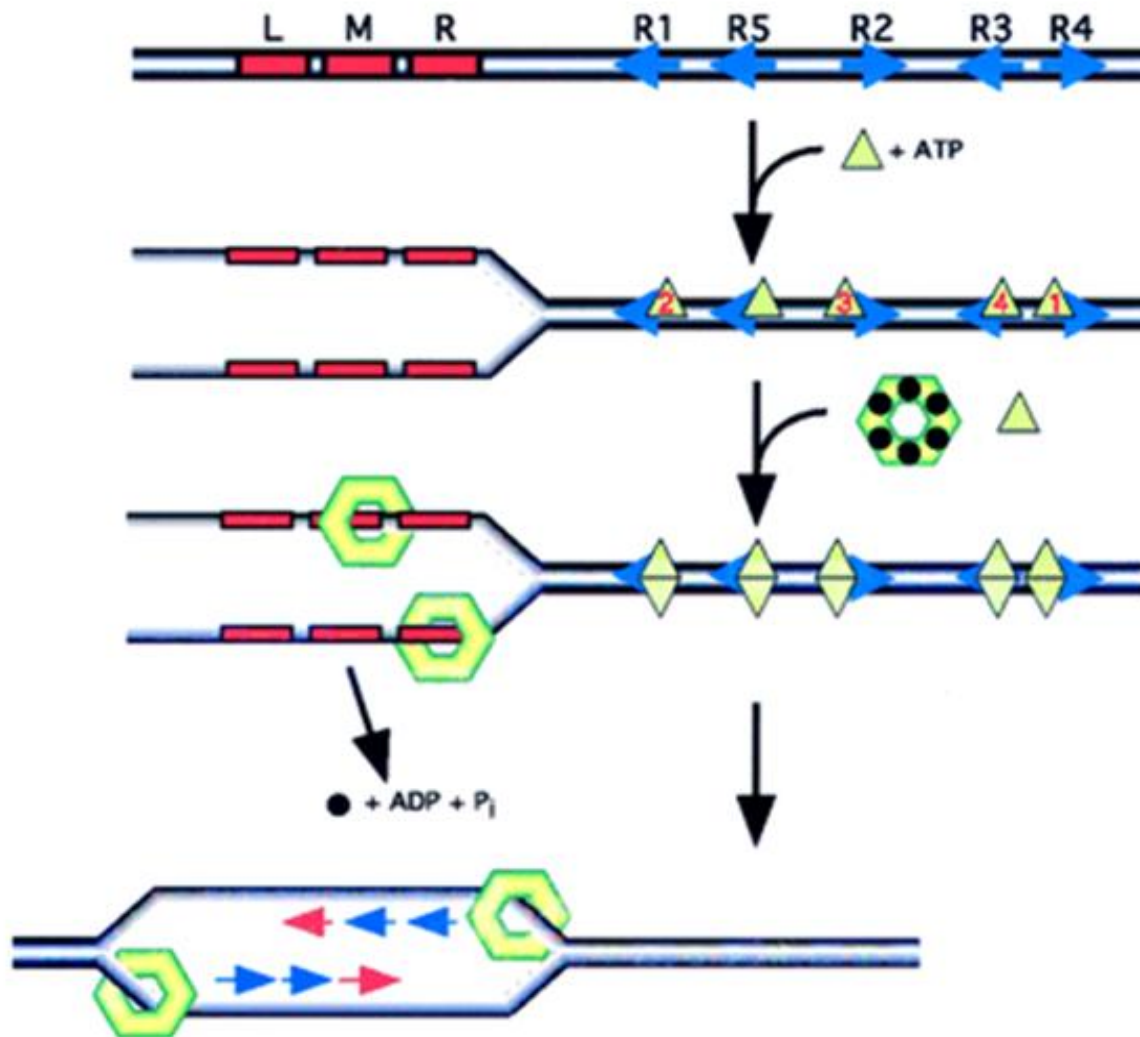
Giraz, çift sarmalı kendi ekseninde döndürerek açılmayı sağlar (bir sarmalı diğerinin etrafında döndürür).

İNİSASYON

DnaG proteini (primaz) 5'→3' yönünde 10-12 nükleotit uzunluğunda nükleotit dizilerin (RNA) sentezler ve inisasyon kompleksi oluşturulmuş olur.

İnisasyon kompleksinin oluşumundan sonra OriC bölgesinde protein-protein interaksiyonları sonucu oluşmuş olan açıklığa replikasyon balonu ya da köpüğü, replikasyon köpüğü oluşur.

İNİSASYON



K, L ve M B-kutuları olup 13 baz çiftlik DnaB kutusu 5'-GATCTNTTNTTTT-3'

➔ : DnaA Kutusu, Her bir kutuda 9 baz çiftlik 5'-TTATCCACA-3' dizisi bulunur.

▲ : DnaA proteini

● : DnaC proteini

■ : 13 nükleotid uzunluğundaki DNA dizileri (13 mer) L, M, R olarak OriC'nin sol tarafında dizilmişlerdir.

⬡ : DnaB6

SSB, PRİMAZ, DNA GİRİZ

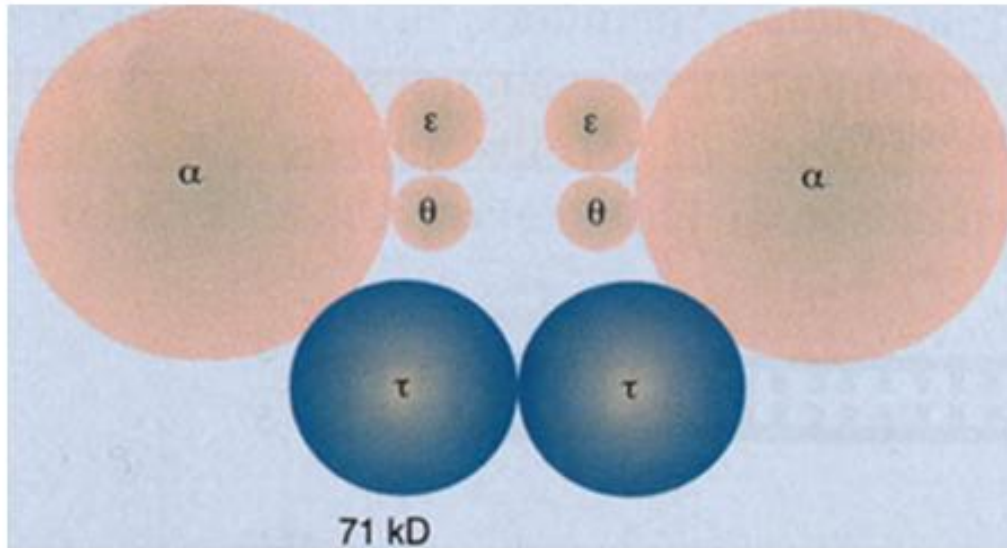
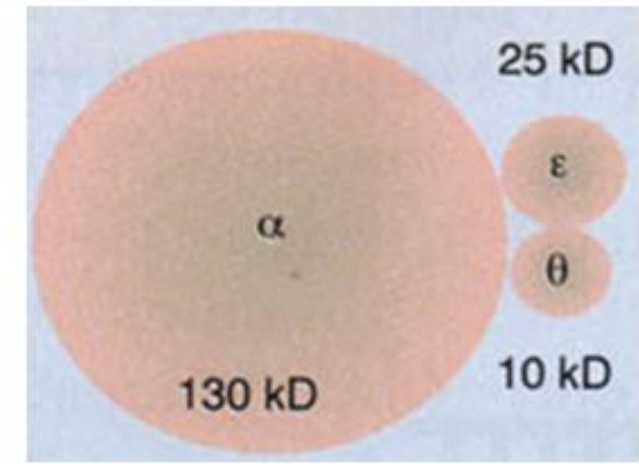
ELONGASYON

Primer eklendikten sonra (her bir sarmal için 5'→3' yönünde) DNA polimeraz III holoenzim yapısında DNA'ya bağlanarak replikasyonun uzaması (sentez, uzatma, elongasyon) sağlanır.

DNA polimeraz III için Mg^{++} iyonu gereklidir. Divalent katyon 3'-OH uç ile bir 5 fosfatlı nükleotidin alfa fosfatının bağlanmasını sağlar ve ortaya 2 fosfat (pirofosfat) çıkar.

DNA POLİMERAZ III

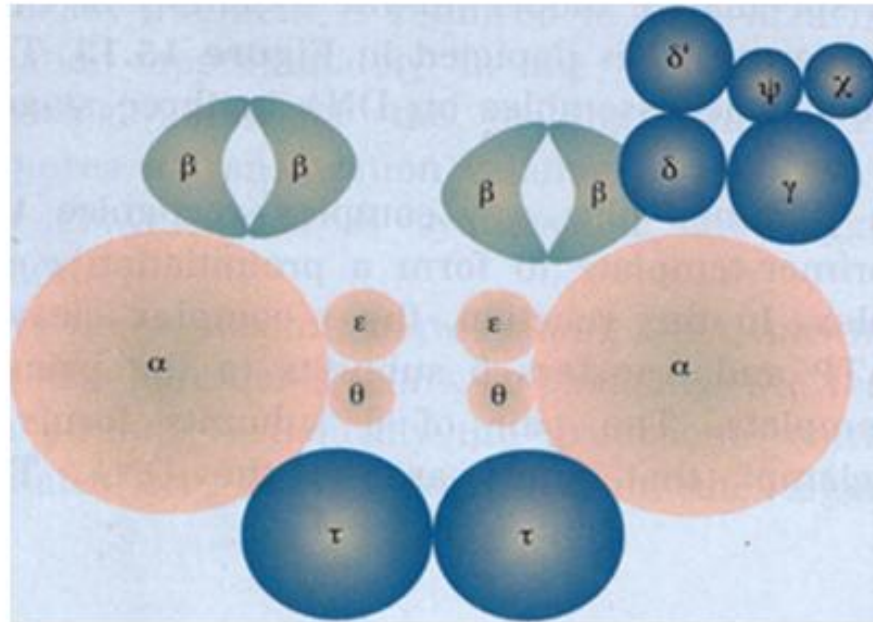
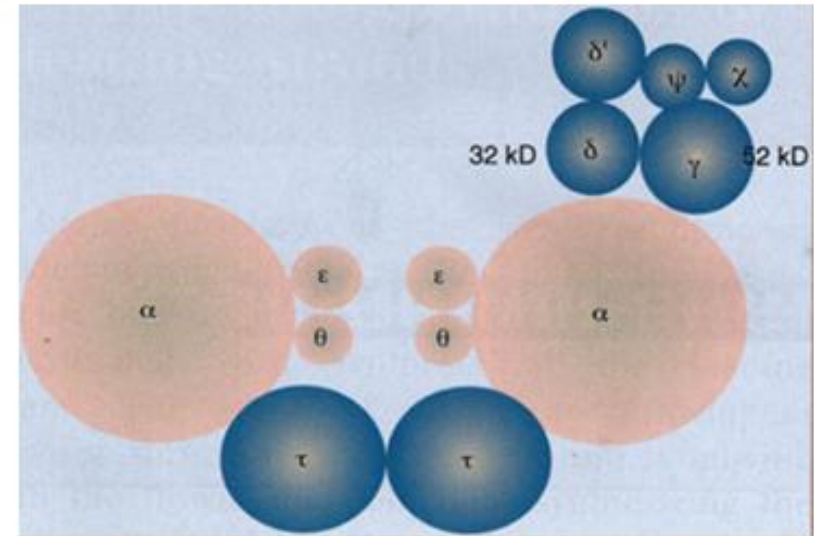
DNA polimeraz III'ün çekirdek (temel yapısında) yapısında alfa, epsilon ve teta alt ünitelerinden oluşur. α , ϵ ve θ oluşan enzim DNA'ya bağlanabilmekte ve yaklaşık 11 nükleotit oluşturabilmekten fazla ileriye gidememektedir.



İki DNA Pol III Temel (çekirdek) sentez üniteleri ve onları bağlayan 2 tau alt ünitesi 470 kD'luk DNA polimeraz III* oluşturur.

DNA POLİMERAZ III

DNA polimeraz III* bir gamma, bir ki, bir psi, bir delta ve bir delta üssü ünitelerinin eklenmesiyle oluşur



Holoenzim yapısında dimer halinde iki adet β ünitesi (her bir sarmala yüzük şeklinde bağlanmak üzere), İki alfa ünitesi ve bu üniteleri bir arada tutan ikişer adet ϵ , θ) bu yapıya bağlanır. İki adet Tau (τ) alt ünitesi ve δ' , δ , Ψ , X , γ holoenzim yapısı oluşur.

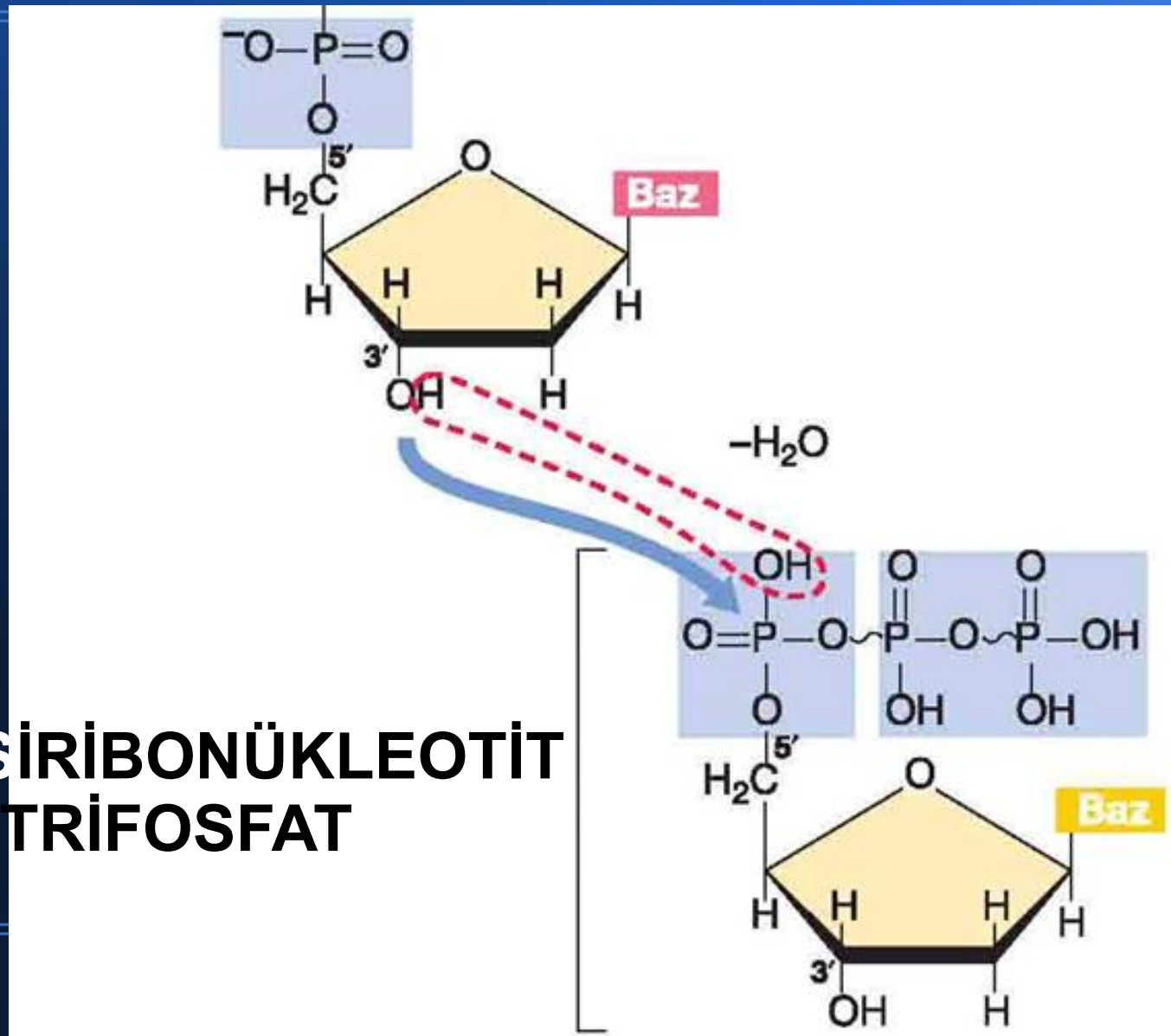
Öncü veya devamlı (Leading) sarmalda 2β , α , ϵ , Φ ve τ , duraksamalı sarmalda (lagging) sarmalda ise bunlara ilaveten δ' , δ , Ψ , X , γ alt üniteler görev yapar.

ELONGASYON

Genel olarak “lagging” ve “leading” sarmallarının aynı anda sentezlenmesi ilk bakışta güç gibi görünmesine rağmen replikasyon çatalının yapısı, DNA polimerazın yapısı ve lagging sarmalında oluşturulan Okazaki DNA parçacıkları ve bunları yapan primozomlar sayesinde her iki sarmalın sentezlenmesi aynı yönde mümkün olabilmektedir.

DNA Replikasyonunda Yeni Bir Nükleotidin Eklenmesi

DEOKSİRİBONÜKLEOTİT
TRİFOSFAT



3'=>5' Eksonükleaz (Hata düzeltim) Aktivitesi

Bu aktivite ile DNA polimerazlar yanlışlıkla eklenmiş olan bir nükleotiti önce tanınır, sonra uzaklaştırılır ve yerine doğru nükleotiti 5'=>3' polimeraz aktivitesi ile ekler.

Bu aktivite ile DNA sentezi sırasında oluşabilen hatalar anında düzeltilebilmektedir.

DNA sentezi sırasındaki hata azdır bunun en önemli neden 3'=>5' eksonükleaz aktivitenin varlığıdır.

5'=>3' Eksonükleaz Aktivitesi

•Bu aktivite ile yeni sentezin ileri kısımlarında bulunan RNA primerlerinin uzaklaştırılması gerçekleştirilir. Ayrıca DNA onarımında da kullanılan aktivitedir.

DNA POLİMERAZ I

928 amino asit uzunluğunda (MA: 103118) olup bakteride polA geni tarafından sentezlenir. 5'=>3' polimeraz aktivitesine, 3'=>5' (hata düzeltim) ve 5'=>3' eksonükleaz aktivitelere sahiptir. 2 alt ünitelerden oluşur. Proteaz enizmiyle muamele edilince 2 parçaya bölünebilir.

34 kD N-terminal kısmı 5'=>3' eksonükleaz aktivitesi ve büyük parça 76 kD 3'=>5' eksonükleaz ve 5'=>3' polimeraz aktivitesine sahiptir. Büyük parça "Klenow" enzimi olarak bilinir (Hans Klenow).

Polimeraz aktivitesi çok düşüktür (20 nt/saniye).

Bakteride oldukça çok sayıda (400 molekül) bulunur ve işlemciliği oldukça düşüktür (bağlanma kopma kolay)

DNA replikasyonunda primerlerin uzaklaştırılması ve yerlerine DNA sentezi yapmakla görevlidir.

DNA POLİMERAZ III HOLOENZİMİN ALT BİRİMLERİ

Alt birim	İşlev	Gruplama
α	5'–3' polimerizasyon	"Çekirdek" enzim: Polinükleotit zincirini uzatır ve hata okur
ϵ	3'–5' ekzonükleaz	
θ	çekirdek yapısının kurulması	
γ	Enzimi kalıba yükler (Kıskaç yükleyici görevi görür)	γ kompleksi
δ		
δ'		
χ		
ψ		
β	Kıskaç yapısını kaydırır (işlerlik faktörü)	
τ	Çekirdek Kompleksini Dimer Haline Getirir	

BAKTERİYEL DNA POLİMERAZ

	Pol I	Pol II	Pol III
Gen adı	polA	polB	polC
3'=>5' hata düzeltme aktivitesi	+	+	+
Alt ünite sayısı	1	>4	>10
5'=>3' eksonükleaz aktivitesi	*	-	-
Saniyede eklediği nükleotit sayısı	16-20	5-10	250-1000
Bağlanım ayrıldığında eklediği nükleotit	3-200	10000	500000
MA	103000	88000	830000

ELONGASYON

Okazaki parçalarının başlarında bulunan primerler RNase H ve DNA polimeraz I tarafından uzaklaştırılır.

Bu primerlerin uzaklaştırılmasında yine aynı enzimin DNA polimeraz I ve RNase H'nin 5'→3' eksonükleaz aktivitesiyle gerçekleşir.

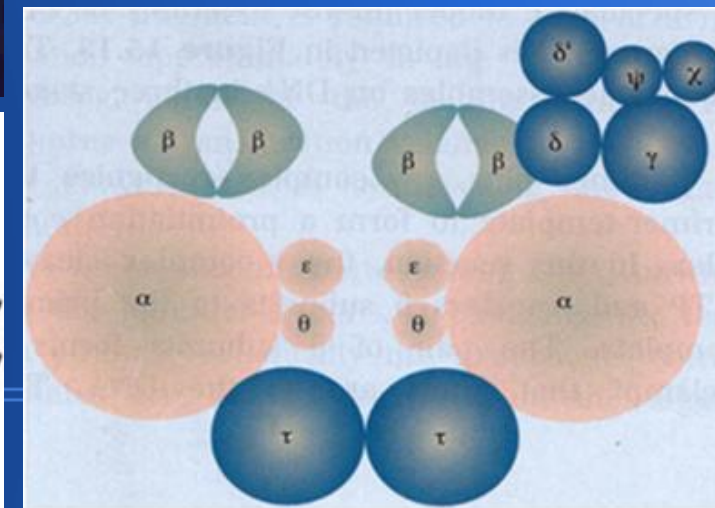
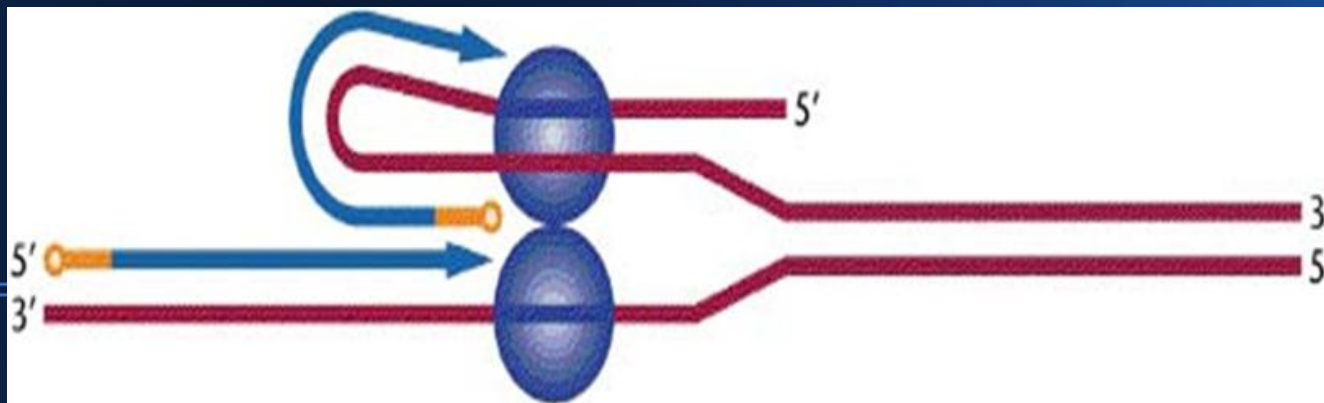
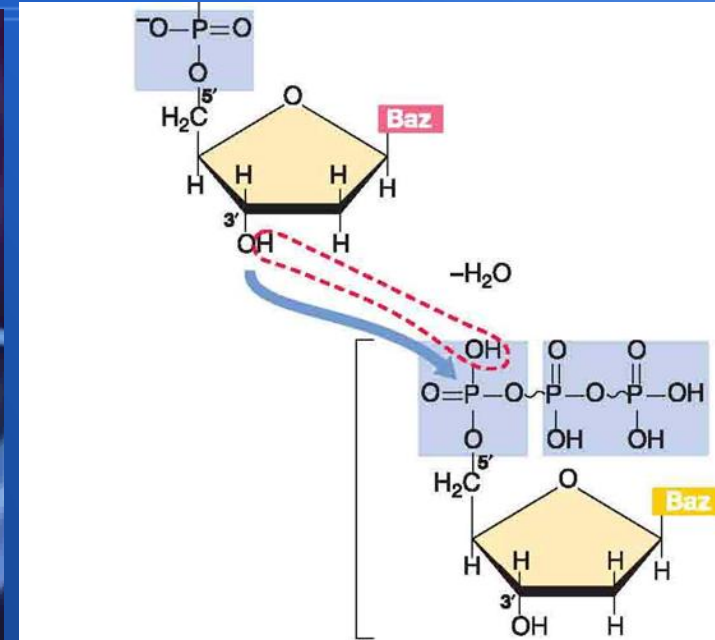
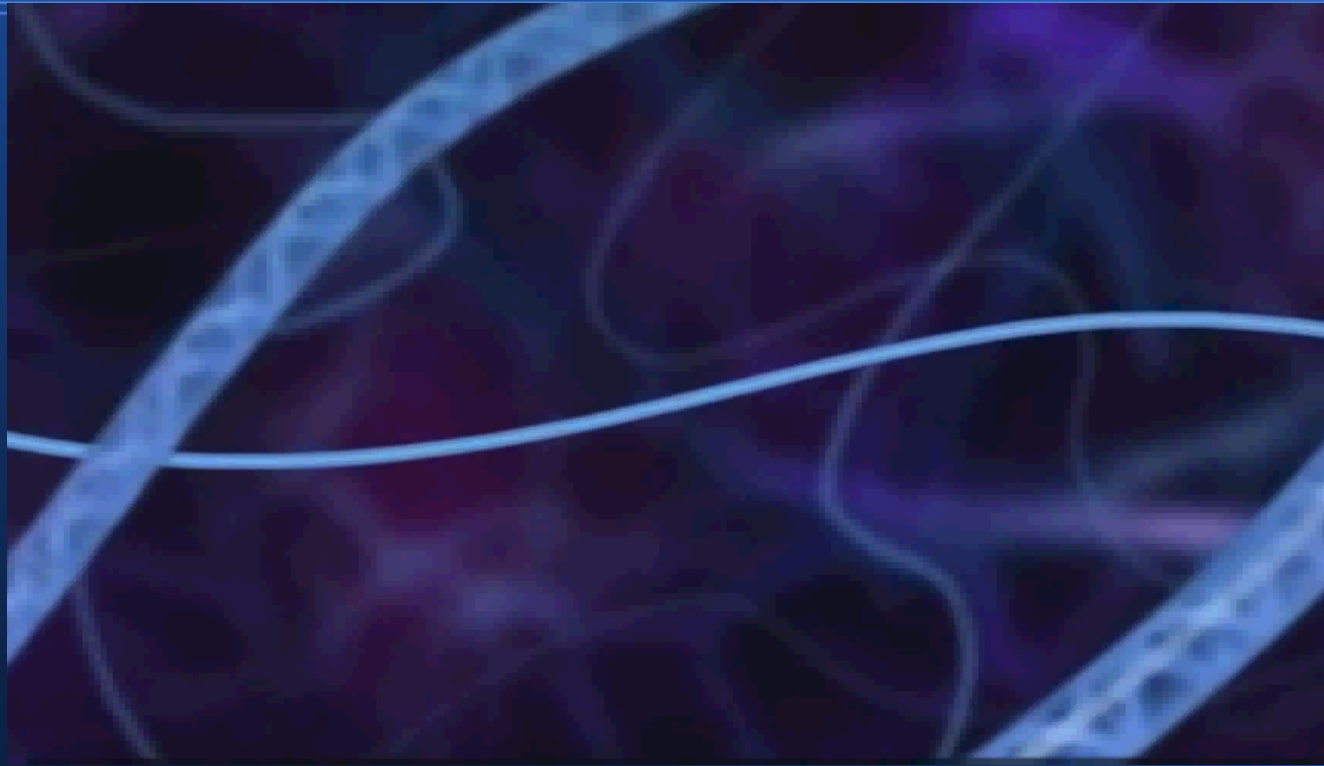
DNA polimeraz I enzimin 5'→3' polimeraz aktivitesiyle bu boşluklara yeni DNA parçacıkları sentezlenir.

ELONGASYON

Bu yeni sentez önceki Okazaki DNA parçasındaki serbest 3'-OH inden başlatılır. Bu çentik translasyon mekanizmasına çok benzer tek farklılık burada DNA yerine RNA parçacığının bulunmasıdır.

DNA Ligaz enzimi iki Okazaki DNA parçacığını birbirine bağlayan enzimdir. Bu enzim prokaryotlarda ve ökaryotlarda mevcuttur.

ELONGASYON



TERMİNASYON

Replikasyonda OriC gibi orijin bölgeleri replikasyonun başlaması için yeterli olduğu halde, replike olarak katlanmış olan DNA'nın yavru hücrelere düzenli bir şekilde taşınması için yeterli değildir.

Ökaryotik sistemlerde sentromerler bu işlevi görürken halka şeklindeki DNA replikasyonlarında replike olmuş halkanın önce birbirlerinden ayrılması gerekmektedir

TERMİNASYON

Halka şeklindeki DNA'ların replikasyonlarında uçlar bulunmadığından (telomerler) replikasyonu tamamlanmaları kolay olsa da replikasyonun nasıl bitirileceği bir problemdir.

Bakteride halka şeklinde DNA bulunması replikasyonun tümüyle tamamlanmasını kolaylaştırmakta ancak oluşan 2 yavru halkanın birbirinden ayrılmasında ayrı bir sisteme ihtiyaç duyulmasına neden olmaktadır.

Çift sarmallı iki yavru DNA molekülünün birini Topoizomeraz II keserek diğerinde ayırır.

TERMİNASYON

OriC'den başlayan ve zıt yönlerde hareket eden iki replikasyon çatalı aynı hızla hareket ederek DNA halkasının belli bir noktasında buluşurlar.

Bu noktaya terminasyon veya 'ter' bölgesi ismi verilir. *Ter* bölgesinde 23 baz çifti uzunluğunda bir DNA bölgesi vardır.

DNA sekansı ve genomda sadece bir noktada bulunan bu bölge replikasyonun tamamlandığı bölgedir.

TERMİNASYON

Terminasyonun olabilmesi için ayrıca 'tus' geni tarafından sentezlenen ve 'ter' bölgesine özel olarak bağlanan bir 36 kD bir protein diğer bir deyişle trans elementine ihtiyaç duyulmaktadır.

TUS (terminus utilisation substance) proteini ter elementine bağlanmakta ve helikaz enzimine ters bir aktivite yaparak helikaz aktivitesini durdurur. Bakteriyel genomda iki replikasyon çatalının karşılaştığı (çakıştığı) yerden iki tarafa doğru olan ve yaklaşık uzunluğu 100 kb olan iki bölge daha vardır. Her bölge bir replikasyon çatalı için özeldir.

TERMİNASYON

Replikasyon Orijini (OriC)	
Replikasyon Çatalı (Sol)	
Sağdan gelen replikasyon çatalı sonlandırma bölgesi için	
Replikasyon Çatalı (sağ)	
Soldan gelen replikasyon çatalı sonlandırma bölgesi için	

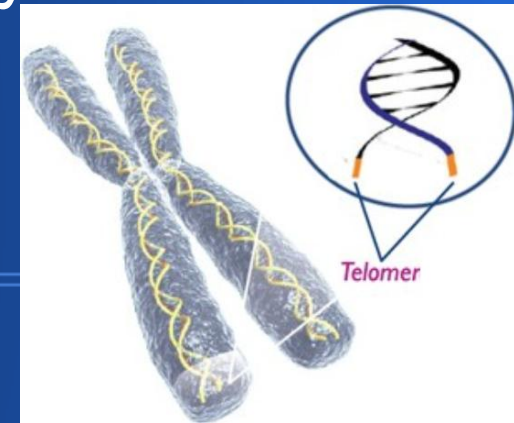
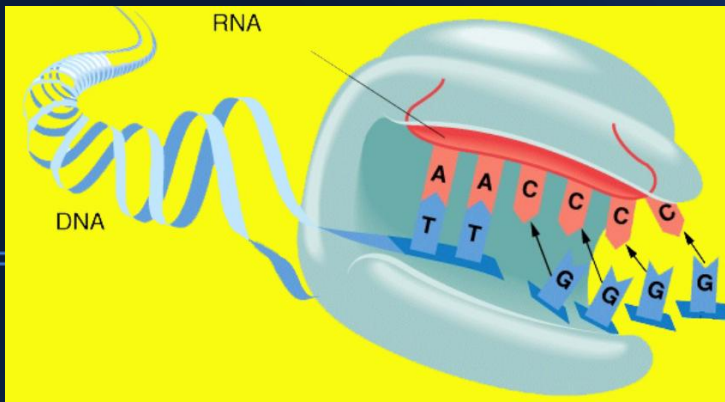
LİNEER DNA UÇLARININ (TELOMERLERİN) REPLİKASYONU

DOÇ. DR. MEHMET KARACA

Telomer adı verilen DNA uçlarındaki nükleotit dizimi her canlıya özgüdür. Örneğin insanlarda 5' GGGTTA 3' kısa dizilim binlerce kez kromozomların uç bölgelerinde tekrar eder.

Telomeraz adındaki enzim beraberinde telomerde tekrar eden dizilime karşılık gelen kısa bir RNA taşır ve bunu kromozom uç bölgelerinin replikasyonu sırasında kalıp olarak kullanır.

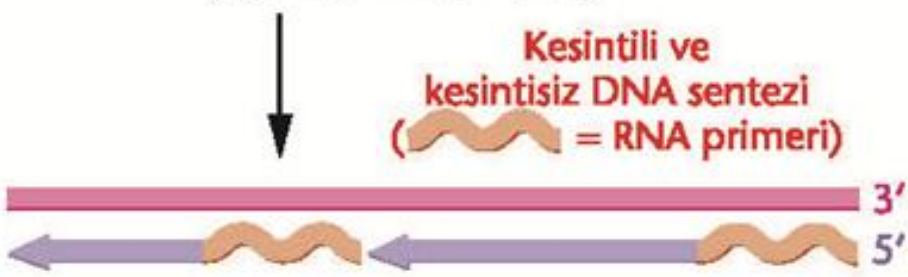
Telomeraz enzimi ancak gene de telomerin DNA uçlarını embryo aşamasından sonra tam anlamıyla uzatamaz.



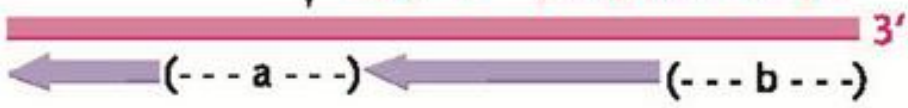
(Kesintili zincir kalıbı)



(Kesintisiz zincir kalıbı)



Kesintili zincirdeki RNA primerleri uzaklaştırılır (- - a - -) ve (- - b - -) boşlukları oluşur



Boşluk (- - a - -) kapatılabilir
Boşluk (- - b - -) kapatılamaz



(Kesintisiz zincir kalıbı)



(Kesintili zincir kalıbı) TTGGGGG 3'



Telomeraz, saç tokası yapısı oluşturan TTGGGGG tekrar dizilerini ilave eder

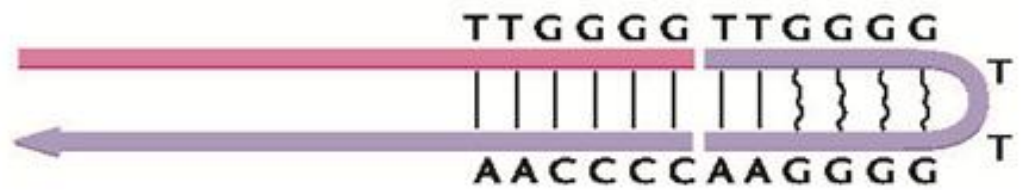


Saç tokası yapısının 3' ucuna nükleotitler ilave edilerek boşluk doldurulur



Boşluk kapatılır
Saç tokası yapısı kesilir

Telomer DNA'sı başarılı bir şekilde replike olur



TELOMERLERİN REPLİKASYONE

DNA TELOMERAZ ENZİMİ

DNA telomerazın diğer DNA polimerazlara benzerlikleri:

- (1) Nukleotid eklemek için bir kalıba gereksinimi olması.
- (2) Sadece DNA'nın 3' ucundan uzatma yapabilmesi.
- (3) Aynı nukleotid öncüllerini kullanması.
- (4) İlerleyici tipte olması.

Telomerazın diğer DNA polimerazlardan farkları:

- (1) RNA bileşeni taşıması.
- (2) Dışarıdan bir kalıp gereksinimi olmaması.
- (3) Tek zincirli DNA kalıbı kullanma yeteneği.
- (4) RNA-DNA helikaz aktivitesi içermesi.

REPLİKONLAR: ÖKARYOT VE PROKARYOT

Prokaryotik hücrelerde tek bir replikon olduğundan tüm bakteri nükleoiti tek bir replikondur. Böyle genomlarda (diğer bir deyişle haploid) replikasyon tektir ve tek kopya olarak isimlendirilir.

Bazı bakteriler plazmidler içerirler. Bu gibi durumlarda tüm bakteri hücrelerinde birden fazla replikon bulunur. Buna da çoklu replikon denir. Her bir plazmit bir replikondur.

Plazmit bakteriyel genomdan bağımsız ve çoğunlukla halka şeklinde bir genom teşkil ettiğinden bakteriyel genomdaki replikasyonun başlama bölgesinden bağımsızdır.

Her faj veya virüs DNA'ları da replikonlara sahiptir.

REPLİKONLAR: ÖKARYOT VE PROKARYOT

Prokaryot ve ökaryotlar arasında en önemli farklılıklardan birisi de replikasyon şeklidir. Her ökaryotik kromozomu çok sayıda replikon içerir. Birden fazla replikonun ökaryotlarda bulunması DNA replikasyonunun bu tür organizmalarda kontrollü ve koordineli olmasını zorunlu kılar.

Ökaryotik kromozomlarda birden fazla replikon olması ve bunların birbirinden bağımsız olarak başlatılabilmesi ve replike olmuş replikonun tekrar replike edilmemesi için belirli sinyallere ihtiyaç vardır.

Öte yandan Kloroplast ve Mitokondri genomları replikon yönünden prokaryotik özellik gösterirler. Kloroplast ve mitokondri genomları hücre döngüsünün S fazı dışında da replikasyonlarını yapabilmektedir.

Bakteri	Unite	Fonksiyonu
Pol I	1	RNA primerinin uzaklaştırılması, DNA tamiri
Pol II	1	DNA tamiri
Pol Kor	3	Replikasyon
Pol Holoenzim	9	Replikasyon
Pol IV	1	Onarım
Pol V	3	Onarım
Ökaryot	Ünite	Fonksiyonu
Pol alfa	4	Primer sentezi
Pol beta	1	Baz kesim tamiri
Pol gamma	3	Mitokondri DNA replikasyonu ve tamiri
Pol delta	3	DNA replikasyonu, nükleotit kesim ve baz kesim tamiri
Pol epsilon	4	DNA replikasyonu, nükleotit kesim ve baz kesim tamiri
Pol teta	1	DNA onarımı
Pol zeta	1	Trans Lezyon Sentezi (Primidin dimer, AP Siteleri)
Pol lambda	1	Mayoz DNA onarımı
Pol mi	1	Somatik hipermutasyon
Pol Kappa	1	Trans Lezyon Sentezi (Primidin dimer, AP Siteleri)
Pol eta	1	Trans Lezyon Sentezi (Primidin dimer, AP Siteleri)

PROKARYOTİK VE ÖKARYOTİK REPLİKASYON

Fonksiyon	<i>E. coli</i> (Bakteri)	HeLa / SV40
Tek sarmalın korunumu	TBS (SSB)	RPA
Bağlanma-işlemcilik	β	PCNA
Replikaz	Polimeraz III	Pol α ve δ
RNA primer sentezi	Primaz (DnaG)	Pol α
Fosfodiester bağı	Ligaz (NAD)	Ligaz (ATP)
Çift Sarmalın Açılımı	Helikaz (DnaB)	T-Ag
RNA primer uzaklaştırma	Polimeraz I	RNaz H1 ve FEN1
Bağlanma-işlemcilik	Gamma Kement yükleme	RFC
Replikon	Tek	Tek veya Çoklu

PCNA “Proliferating Cell Nuclear Antigen” olup ökaryotik DNA replikasyonunda görevli bir kompleks proteindir. SSB: tek sarmala bağlanan proteinlerdir. RPA: replikasyon protein A, RFC: replikasyon faktör C proteini PCNA kompleksini replikasyonda replizomlara bağlar. T-Ag: T antijen proteini. İşlemciliği (processivity) DNA kalıbına bağlanıp polimerizasyon işleminden sonra ayrılmazdır.