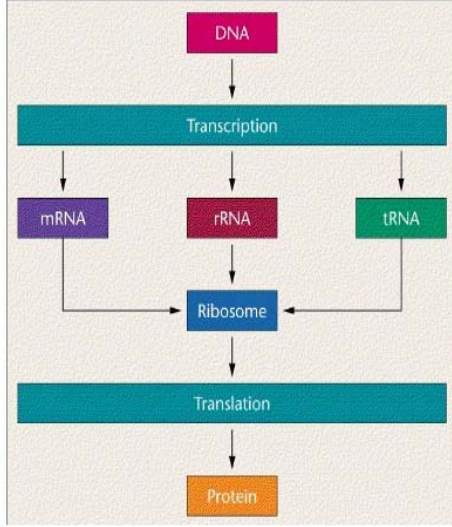


# MOLEKÜLER GENETİK-1

## Santral Dogma

DNA -transkripsiyon--> RNA -translasyon--> Protein



### Genetik Materyalin Özellikleri

- \*Replikasyon
- \*Bilgi depolama
- \*Depolanmış bilgiyi ifade etme
- \*Mutasyonlar ile varyasyon sağlama

DNA genetik materyaldir...

[ fakat bazı, retrovirüleri, HIV & TMV, gibi RNA içerir]

## - DeoxyriboNucleic Acid → DNA

-tekrar eden nükleotid monomerlerinden oluşan polimer

Nükleotid= 1 azotlu baz + 1 pentoz şekeri (5 C'lu bir şeker) + 1 fosfat grubu içerir

### BAZLAR

iki halkalı pürinler (A, G)

tek halka içeren pirimidinler (C, T, U)

A, G, C DNA ve RNA'da ortak bulunur

T → DNA'da, U → RNA'da bulunur

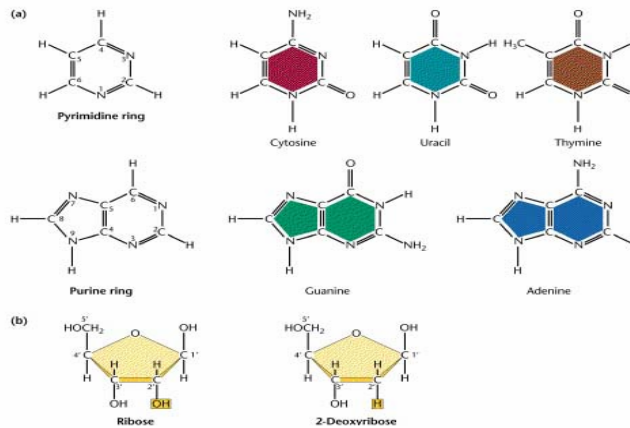
### ŞEKERLER

Nükleik aside adını taşıdığı şeker verir.

Ribonükleik asitlerde-**RİBOZ**

Deoksiribonükleik asitlerde-**DEOKSİRİBOZ** bulunur.

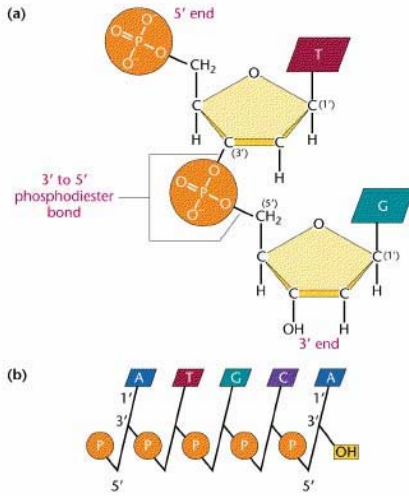
Deoksiribozun ribozdan farkı C-2' pozisyonunda OH grubu olmamasıdır



- İki mononükleotit arasında bağ yapısında, iki şekere bağlı fosfat grubu yer alır oluşan bağ **fosfodiester bağıdır**, çünkü fosforik asit her iki taraftaki alkol grubu (iki şekerdeki OH grubu) ile ester bağı yapar. Aynı bağ, RNA da da bulunur.

- dinükleotitler & trinükleotitler
- oligonükleotitler (<20)
- polinükleotitler (>20)

**nükleotidler\*** --> **A** adenine (adenin), **C** cytosine (sitozin)  
**T** thymidine (timin), **G** guanine (guanin) --> **polinükleotid\***



-genetik alfabenin **harfleri**... DNA'daki **A, T, G, & C** nükleotidleridir-bilgi ünitesi olan **KODON** = genetik '**kelime**'

polinükleotiddeki üçlü nükleotid yapısı **CAT**

**3 nükleotid = 1 kodon (kelime) = 1 amino asit**  
**kelime (kodon) tanımı = amino asit**

İnsan Genomunun büyüklüğü: **≈ 3,000,000,000 b.ç**

Ve **≈ 500,000,000 kodon** (ya da **amino asit**)

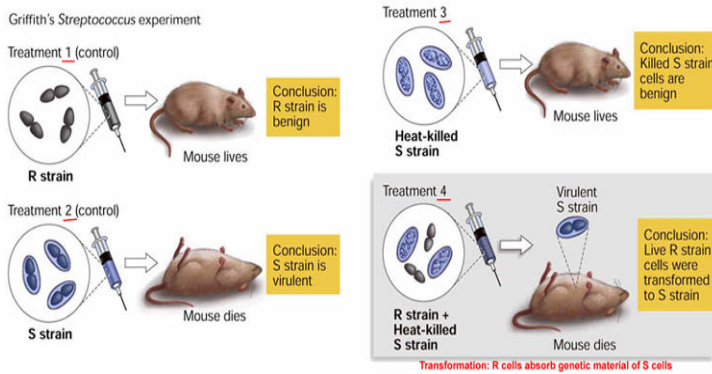
bir kitap sayfasında = ort. 850 kelime varsa, insan genomu **590,000 sayfa** yada **470 adet biyoloji kitabı** demektir.

**3 baz/sn** hızla okuduğunuz da bu kitap yaklaşık **47.6 yılda biter !!!!!**

## Dna'nın Genetik Materyal Olduğunun Deneysel Olarak Kanıtlanması...

### 1\* Fred Griffith'in Transformasyon deneyi... (1920)

*Streptococcus pneumoniae* - **patojenik S strain & non-patojen R strain**  
 genetik materyalin transformasyon '**prensibi**' (R' nin S hücrelere aktarılması)



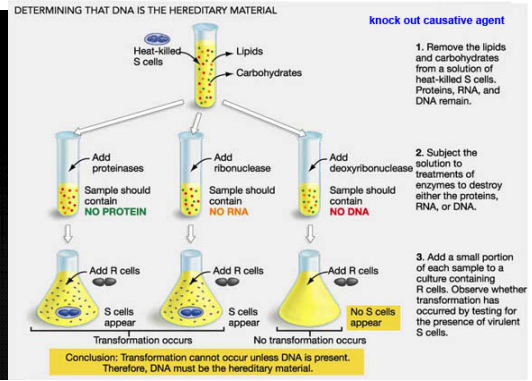
**Canlı IIR ve ısı ile öldürülmüş IIIS hücreleri arasında bir etkileşim olmalıdır.**

**SONUÇ:** Bu etkileşimi "**transformasyon**" olarak adlandırdı. Transformasyon gerçekleştiren ana maddenin polisakkarit kapsülün bir kısmı yada kapsül sentezinde rol alan bir hilesik alabileceğini önerdi

## 2. Oswald Avery, Colin MacLeod, & Maclyn McCarty... (1940's)

transforme olan molekül\* DNA'dır, Genetik materyalin protein değil DNA olduğu ispatlanmıştır

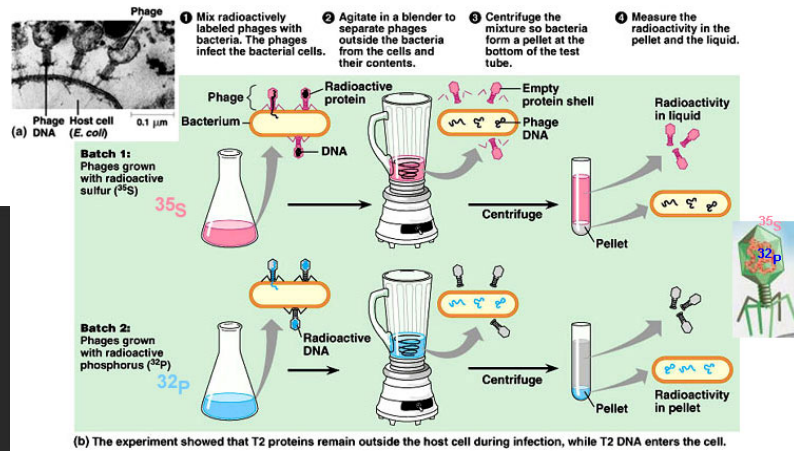
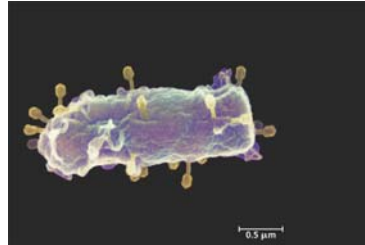
- Isı yardımıyla inaktive edilen *Diplococcus pneumonia* bakterisini, protease, RNase, ve DNase enzimleriyle muamele etmiş
  - Protease: proteinleri parçalar
  - RNase: RNA moleküllerini parçalar
  - DNase: DNA moleküllerini parçalar
- DNase ile yapılan çalışmalarda negatif sonuç alınmış
- Genetik bilginin DNA üzerinde bulunduğu ispatlanmıştır



Transformasyon yapan maddeyi saf olarak elde etmiş ve bu molekülün DNA olduğunu kanıtlamışlardır.

İzolasyon için, IIIS virülant hücreleri büyük ölçekli (50-75 litre) olarak üretmişlerdir. Santrifüj-->ısı ile öldürme işlemi-->homojenizasyon--> transformasyon kapasitesinde olduğu düşünülen çözünür süzüntü-->proteinleri süzüntüden ayırma-->enzimatik olarak polisakkaritleri ayırma-->etanol ile çöktürme-->ipliksi çökelek (10-25 mg aktif faktör) VE RNase, Proteaz, Dnase ile muamele

## 3. Alfred Hershey & Martha Chase'\* (1952) Bakteriyofaj Deneyleri\*



DNA'nın genetik materyal olduğunu gösteren ikinci önemli bulgu...

E. coli bakterisinin, konakçısı olduğu virüslerden biri olan T2 bakteriyofaj ile enfeksiyonu çalışmalarından elde edilmiştir.

Biyolojik aktivitenin genetik olarak kontrolünün izlendiği (virüs çoğalması)

yeni deney sistemi ... radyoizotopların biyolojide ilk kez kullanımı\*

**SONUÇ** - Genetik materyal kesinlikle DNA'dır ÇÜNKÜ\*\*\*\*\*

virial replikasyonu (<sup>35</sup>S) işaretli proteinler değil (<sup>32</sup>P) işaretli nükleik asitler gerçekleştirir.

## DNA'nın Yapısı . . . . Double Heliksin Keşfi

**Nobel ödülü\*** - JD Watson, Francis Crick, Maurice Wilkins, fakat [ Erwin Chargaff & Rosy Franklin ]....

Watson- Crick'in DNA yapısını aydınlatırken kullandığı en önemli bulgular

- Hidrolize edilmiş DNA'nın baz kompozisyon analizleri (**Chargaff kuralları**)
- DNA'nın X ışını kırınımı çalışmaları
- Şu anda biliyoruz ki: DNA çift zincirli, **helikal**, polinükleotid zincirleri içerir
- 4 nükleotid - **A, T, G, C** (**pürin & pirimidin**)  
2 polinükleotid zincirinde (**polimer zincirler**) yerleşir
- iki zincir antiparaleldir ve zayıf H bağları ile bir arada tutulur. & **komplementer baz eşleşmesi**

**Chargaff kuralları\***.....

- doğal DNA moleküllerinde adeninin timine veya guaninin sitozine oranı daima 1'e eşittir

(A/T=1 ve G/C=1) ve Pürinler= pirimidinler (A+G=T+C)

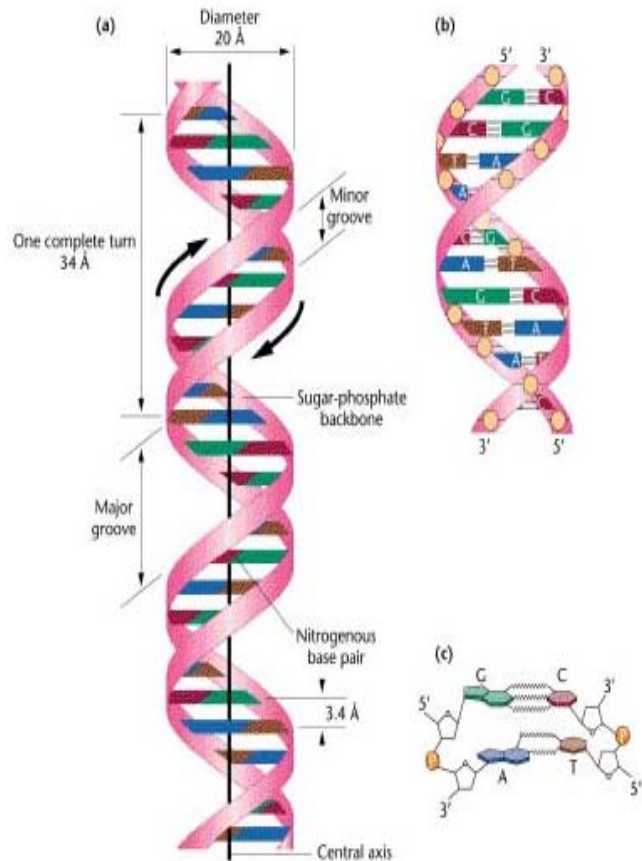
**Viral DNA molekülleri** oldukça küçüktür. Replikatif formlar: Hayat sikluslarında birçok viral DNA daireseldir. Konakçı hücredeki viral replikasyon esnasında replikatif formlar oluşur. Linear DNA dizileri dairesel (sirküler), tek zincirli DNA çift sarmal DNA oluşturabilir.

**Bakterilerde halkasal çift zincirli kromozomal ve ekstra kromozomal DNA (plazmid) bulunur.** Ökaryotik hücrelerde prokaryotlardan

daha fazla DNA vardır.

## WATSON-CRICK DNA MODELİNE GÖRE;

1. İki uzun polinükleotid zinciri, bir merkez eksen etrafında kıvrılarak, sağ-el ikili sarmal yapısını oluşturur.
2. İki zincir birbirine **antiparaleldir**; yani, iki zincirin C-5' ucundan C-3' ucuna doğru olan yönleri birbirine göre terstir.
3. Her iki zincirin bazları düzlemsel yapıdadır ve düzlemleri eksene diktir; bazlar aralarında 3.4 Å (0.34 nm) mesafe olacak şekilde birbiri ardına "istiflenir" ve sarmalın içinde yer alır.
4. Karşı zincirlerdeki azotlu bazlar, **hidrojen bağları** ile bağlanarak birbirleri ile eşleşirler (aşağıda tartışılmıştır); DNA'da sadece, A = T ve G = C eşleşmesi mümkündür.
5. Sarmalın her bir tam bir dönüşü 34 Å (3.4nm)'dir; böylece her bir dönüşte 10 baz yer alır.
6. Molekülün herhangi bir bölümünde, eksen üzerinde sıra ile daha geniş olan büyük (**majör**) oluklar ve daha dar olan küçük (**minör**) oluklar yer alır.
7. Sarmalın çapı 20 Å (2 nm)'dur.



## Farklı DNA formlarının özellikleri

	A form	B form	Z form
Helical sense	Right handed	Right handed	Left handed
Diameter	~26 Å	~20 Å	~18 Å
Base pairs per helical turn	11	10.5	12
Helix rise per base pair	2.6 Å	3.4 Å	3.7 Å
Base tilt normal to the helix axis	20°	6°	7°
Sugar pucker conformation	C-3' endo	C-2' endo	C-2' endo for pyrimidines; C-3' endo for purines
Glycosyl bond conformation	Anti	Anti	Anti for pyrimidines;

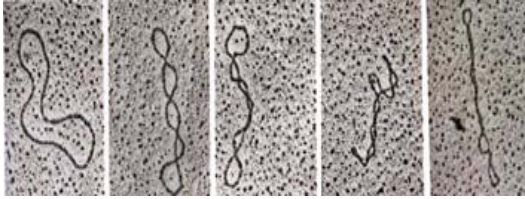
- Fizyolojik koşullarda en stabil DNA B formundadır.
- A formu su dışında birçok çözültide oluşan bir formdur.
- Z formu: sola doğru dönen heliks yapısındadır ve genlerin regülasyonunda rol almaktadır.

## DNA'nın PAKETLENMESİ

DNA Replikasyonu ve Transkripsiyonu için önemlidir

- Superkırımlar
- Kromatini oluşturmak üzere histon proteinleri etrafındaki dönümler ile gerçekleştirilir.

**Süperkırımlar.** Tipik bir telefon kordonu bir DNA heliksi gibi kıvrılır ve kıvrılan bu kordon kendi üstüne tekrar kıvrılarak bir süperkırım (supercoil) oluşturabilir. Küçük, dairesel viral DNA'larda süperkırımların ilk tespit tarihi 1965'tir (Vinograd J. ve ark)

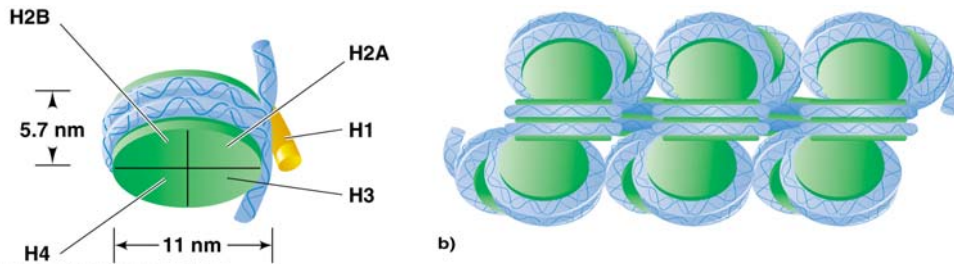


Çoğu DNA negatif süper dönümlüdür. Topoizomerazlar ile bu yapı açılır.

- İnsan genomu  $\approx 3 \times 10^9$  bp
- İnsan diploidtir, her çekirdek  $6 \times 10^9$  bp yada  $\approx 2$  m DNA içeriyorsa 5-10 mm çapındaki çekirdeğe nasıl sığmaktadır? CEVAP
- **Nükleozom-DNA etkileşimi ile:** H2A, H2B, H3 ve H4 histonları (H2A)<sub>2</sub>, (H2B)<sub>2</sub>, (H3)<sub>2</sub> ve (H4)<sub>2</sub> şeklinde düzenlenerek oktomer yapısı oluşturur. DNA üzerine sarılır. (nükleozom yapısı)

H1 Histonu nükleozomlar arasındaki DNA ya bağlanır.

- Nükleozom yapısındaki 4 protein: H2A, H2B, H3, ve H4
- H3 ve H4 are arjinine zengin, yüksek oranda korunmuş, H2A ve H2B lizine daha zengin
- Arjinin ve lizin histidin, histon proteinlerinin bazik ve pozitif yüklü olmasına neden olur.



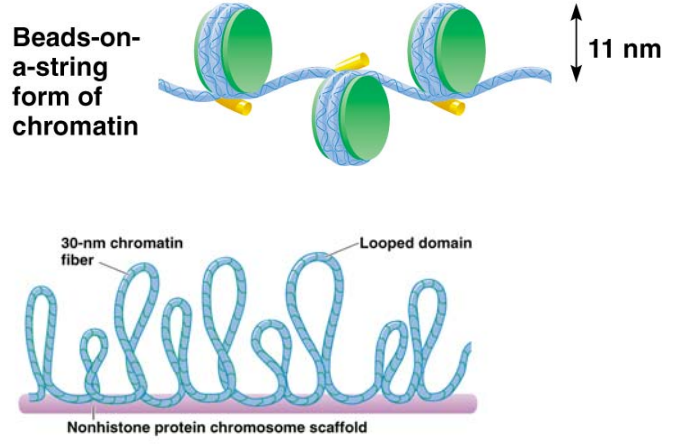
### Packing of DNA into chromosomes:

Level 1 Winding of DNA around histones to create a nucleosome structure.

Level 2 Nucleosomes connected by strands of linker DNA like beads on a string.

Level 3 Packaging of nucleosomes into 30-nm chromatin fiber.

Level 4 Formation of looped domains.



2nm çapındaki DNA→11 nm çapında nükleozom→ 30 nm kromatin iplikleri (solenoid) oluşturur.Mitotik kromozomda sayısız 30 nm solenoidler→ 300 nm çapında kromatin iplikleri→ metafaz kromozomundaki kromozom kolları olan kromatidleri oluşturmak üzere kıvrılır→700 nm çapında kromatit→ kardeş kromatitler→ 1900 nm uzunluğunda kromozom

**Kromatin:** Bölünmeyen ökaryotik hücredeki kromozomal materyale denir. Amorf ve nükleus'ta rasgele dağılmıştır.

**Histon:** Bir kromatinde DNA'nın sıkıca bağlantılı olduğu proteinler. H1, H2A, H2B, H3 ve H4 histonları

**Nükleozom:** Histonlar ve DNA nükleozom adı verilen yapılar üniteler içinde katlanırlar.

### DNA'nın Özellikleri

**U.V ışığının soğurulması** (254-260 nm arasında max. absorban)

**Cökme Davranışı**- gradiyent santrifügasyon işlemleri ile molekülün yoğunluğu kütlesi ve biçimine bağlı--> [Svedberg katsayısı (S)]

**DNA'nın denatürasyonu**- Yapıdaki H-bağlarının ısı yada kimyasal yolla kırılması ile çift zincir çözülür(kovalent bağlar kırılmaz)  
DNA akışkanlığı azalır, U.V absorpsiyonu ve denge yoğunluğu artar. (GC içeriği fazla ise daha fazla ısı gerekir)

Farklı türlerin nükleik asitleri **hibrid formlar** oluşturabilirler. Türler ne kadar yakınsa hibridizasyon o kadar kolay gerçekleşir. **Isı sonucu oluşan denatürasyona erime-melting denir**

