

## NÜKLEOTİDLER VE NÜKLEİK ASİTLER

### ***Nükleotidler ve nükleik asitlerle ilgili temel kavramlar***

Nükleotidler, bütün hücrelerdeki metabolik süreçleri (temel olarak biyosentezleri) yürüten enerjice zengin bileşiklerdir; hücre metabolizmasına çok önemli destekleyici rollerinin çokluğu ile bizzat katılan biyomoleküllerdir. Nükleotidler, aynı zamanda hormonlara ve diğer ekstrasellüler uyarılara cevap veren sellüler sistemlerde kimyasal sinyal olarak görev görürler; ayrıca bir grup enzim için kofaktör ve metabolik ara ürünlerin yapısal komponentleridirler.

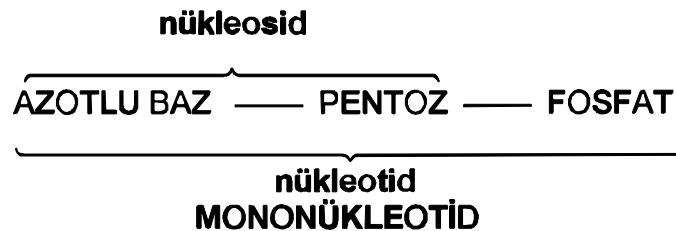
Nükleik asitler, nükleotidlerin polimerleridir ve bir hücrede meydana gelen her şey için önceden planlayıcıdır. Başlıca nükleik asitler, deoksiribonükleik asit (**DNA**) ve ribonükleik asit (**RNA**)'dır.

DNA molekülleri bölünme evresinde olmayan ökaryotik hücrede **kromatini** oluştururlar; hücrenin bölünme evresinde ise genellikle **kromozomlar** denen yapıları oluştururlar. Bir organizmadaki her protein molekülünün amino asit dizisi ve her RNA molokülünün nükleotid dizisi, organizmanın DNA molekülleri tarafından belirlenir; protein veya RNA yapısı için gerekli bilgi, DNA'daki nükleotid dizisinin karşılığı olarak bulunur. DNA, genetik bilginin saklandığı yerdir ve genetik bilginin depolanması DNA'nın bilinen tek fonksiyonudur. Protein veya RNA gibi bir fonksiyonel biyolojik ürünün sentezi için gereken bilgiyi saklayan bir DNA segmenti veya bir kromozom bölümü **gen** olarak adlandırılır. Bir hücre tipik olarak binlerce gene sahiptir ve bunun gereği olarak DNA molekülleri çok büyük olma eğilimindedirler.

Hücrelerde her biri farklı fonksiyonlu birkaç RNA sınıfı bulunur. Ribozomal RNA'lar (rRNA), protein sentezinin gerçekleştiği büyük kompleksler olan ribozomların yapısal komponentleridirler; haberci veya mesenger RNA'lar (mRNA), genetik bilgiyi bir veya birkaç genden uygun proteinlerin sentezlenebildiği ribozomlara taşıyan nükleik asitlerdir; taşıyıcı veya transfer RNA'lar (tRNA), bir mRNA'daki genetik bilgiyi bir spesifik amino asit dizisi haline çeviren uyarlayıcı moleküllerdir.

### ***Nükleotidlerin bileşenleri***

Nükleotidler, bir azotlu baz, bir pentoz ve bir fosfat olmak üzere üç karakteristik komponente sahiptirler. Azotlu baz ve pentozun birbirine  $\beta$ -N-glikozit bağıyla bağlanmasıyla nükleozid oluşur, nükleozide fosfatın bağlanmasıyla nükleotid (mononükleotid, nükleozid monofosfat) oluşur:



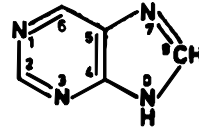
*Pentoz ile fosforik asidin birbirine bir ester bağı ile bağlanması sonucu oluşan birim de pentid veya ribotid olarak tanımlanır.*

### **Nükleotidlerdeki azotlu bazlar**

Nükleotidlerdeki azotlu bazlar, pirimidin bazları ve pürin bazlarıdır:



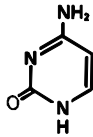
Pirimidin



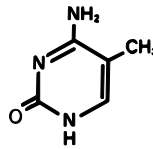
Pürin

Pürin ve pirimidinler heterosiklik bileşiklerdir. Benzen yapısındaki karbon atomlarından ikisinin yerine azot atomlarının geçmesiyle pirimidin halkası oluşmaktadır; pirimidin ve imidazol halkalarının kondense olmalarıyla da pürin halka sistemi meydana gelmektedir.

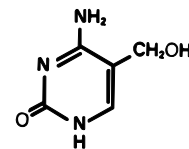
Sitozin (C), Timin (T) ve urasil (U), nükleotidlerde bulunan üç önemli pirimidin bazıdır; 5-Metilsitozin ve 5-Hidroksimetilsitozin ise doğada nadiren bulunan pirimidin bazlarıdır:



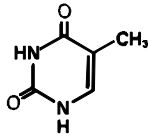
Sitozin (2-oksi-4-aminopirimidin)



5-Metilsitozin

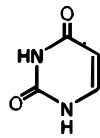


5-Hidroksi metil sitozin



Timin

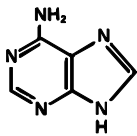
(2,4-dioksi metil pirimidin)



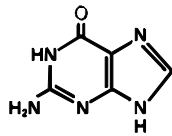
Ürasil

(2,4-dioksipirimidin)

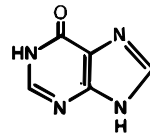
Adenin (A) ve guanin (G), nükleotidlerde bulunan iki önemli pürin bazıdır; hipoksantin ve ksantin ise adenin ve guanin metabolizmasında ara ürünlerdir; insanlar pürin katabolizmasının son ürünü olarak okside bir pürin olan ürik asidi atılıma uğrattır:



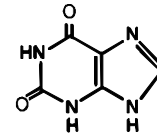
Adenin (6-aminopürin)



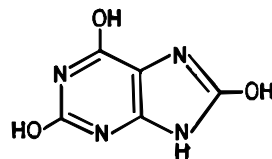
Guanin (2-amino-6-oksipürin)



Hypoksantin (6-oksipürin)

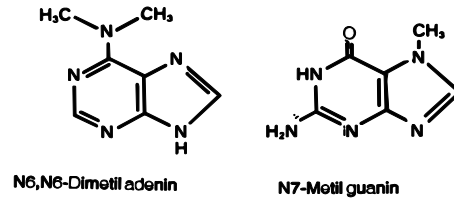


Ksantin (2,6-dioksipürin)

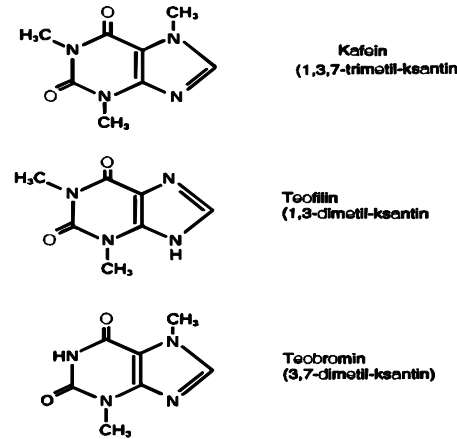


Ürik asid

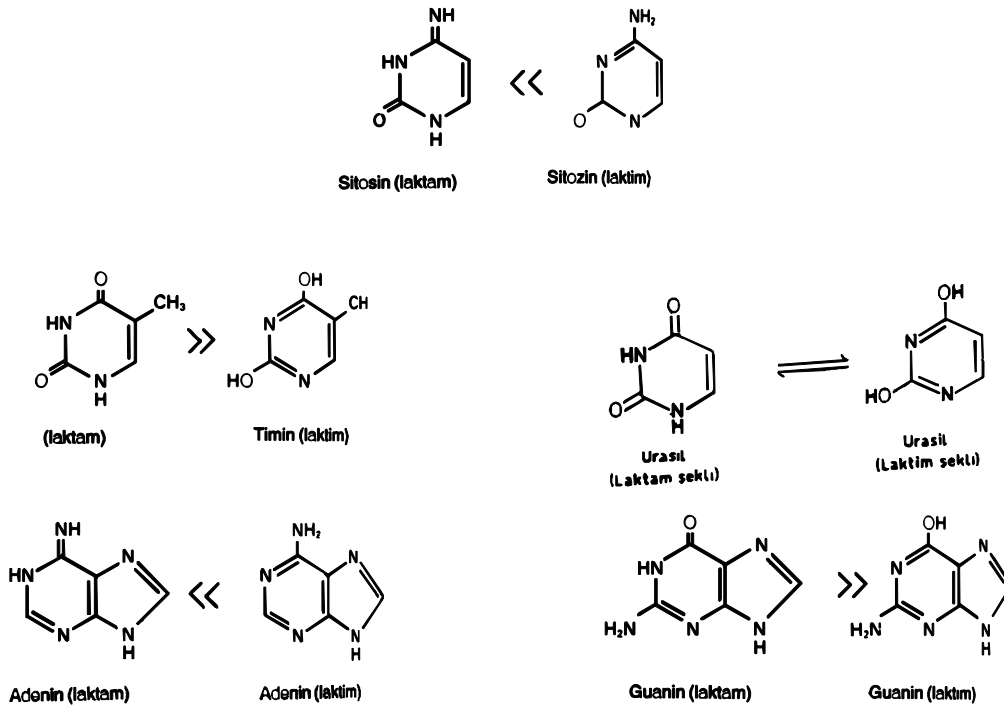
$N^6,N^6$ -Dimetiladenin,  $N^6$ -Metiladenin,  $N^7$ -Metilguanin ve  $N^2$ -Metilguanin doğada nadiren bulunan pürin bazlarıdır:



Kahve, çay ve kakao gibi bitkilerde farmakolojik özellikleri olan metillenmiş pürinler bulunur:



Serbest pirimidinler ve pürinler, zayıf olarak bazik bileşiklerdir; bu yüzden baz olarak tanımlanırlar. Serbest pirimidin ve pürin bazıları, pH'a bağlı olarak iki veya daha fazla tautomerik formda bulunabilirler. Pirimidin ve pürinler, keto-enol tautomeri göstermektedirler:



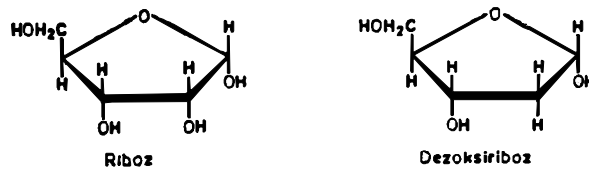
Pirimidin bazlarından sitozin, hem DNA'da hem RNA'da bulunduğu halde timin yalnızca DNA'da, urasil yalnızca RNA'da bulunur. Pürin bazlarından adenin ve guanin, hem DNA'da

hem RNA'da bulunurlar. DNA'nın yapısında adenin (A), guanin (G), sitozin (C) ve timin (T) yer almakta; RNA'nın yapısında ise adenin (A), guanin (G), sitozin (C) ve urasil (U) yer almaktadır.

DNA ve RNA yapısında yer alan pürin ve pirimidin bazları ileri derecede konjuge yapılar oldukları için nükleik asitlerin yapısını, elektron dağılımını ve ışık absorpsiyonunu etkilemektedir. Pirimidinler düzlemsel, pürinler ise düzlemsel yapıya yakın büzülmüş yapı göstermektedirler.

### Nükleotidlerdeki pentozlar

Nükleotidlerdeki pentozlar, D-riboz ve 2<sup>i</sup>-deoksi-D-Ribozdur ki her iki pentoz tipi nükleotidlerde β-furanoz formunda bulunurlar:



DNA'daki nükleotidler 2<sup>i</sup>-deoksi-D-riboz içerir; RNA'daki nükleotidler D-riboz içerirler.

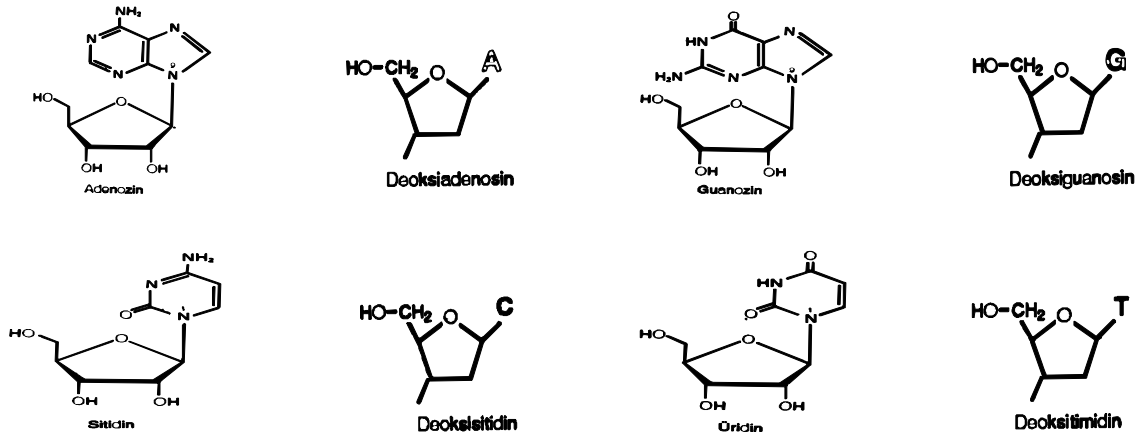
### Nükleotidlerdeki fosfat

Nükleotidlerdeki fosfat, fosforik asittir (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>); pentozun 5<sup>i</sup>-C atomuna ester bağı ile bağlanır:



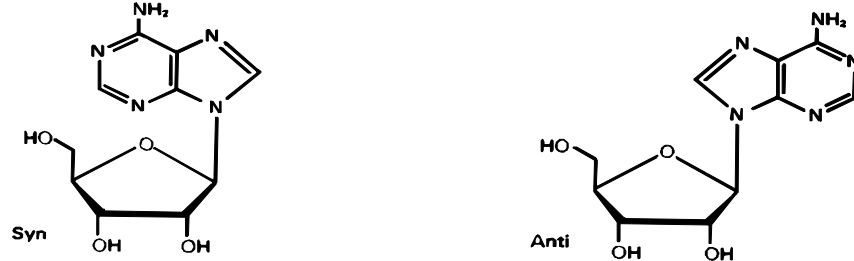
### Nükleozidler

Nükleozidler, aside oldukça dayanıksız bir β-N-glikozit bağı ile pürin veya pirimidine bağlanan (pürinlerde N<sup>9</sup> konumunda pirimidinlerde N<sup>1</sup> konumunda) bir pentozdan (genelde D-riboz veya 2-deoksi-D-riboz) oluşmuşlardır; içerdikleri azotlu baza göre adlandırılırlar:



Nükleozidler, pürin ve pirimidin bazlarına bağlı bir pentoz içermektedirler ki beş karbonlu bir monosakkarit olan D-riboz, RNA yapısında yer alır; 2-deoksi-D-riboz ise DNA yapısında yer alır.

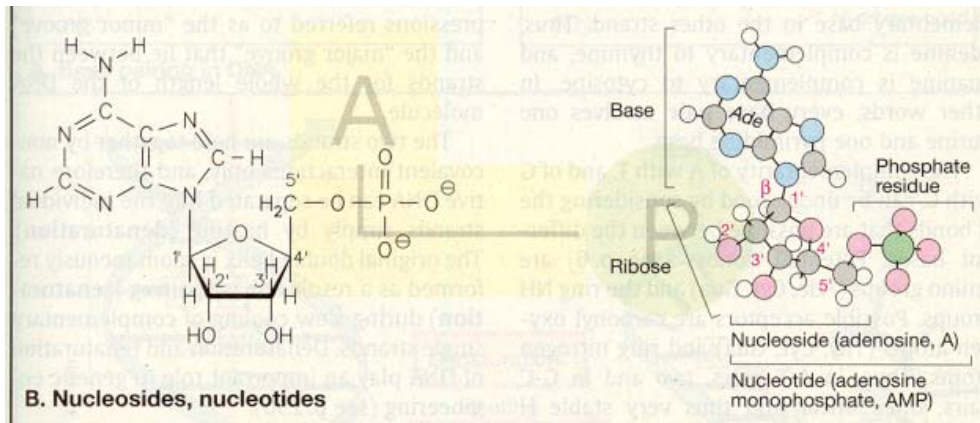
Nükleozidlerde N-glikozit bağı etrafındaki rotasyon ile ilgili olarak *sin* ve *anti* konformasyonları mümkündür ki doğal olarak bulunan nükleozidlerde anti konformasyonu egemendir:



Adenzinin *sin* ve *anti* konformasyonları.

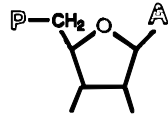
### Nükleotidler (Mononükleotidler)

Nükleotidler, sadece pentozun hidroksil gruplarının fosforillenmiş olduğu nükleozidlerdir:

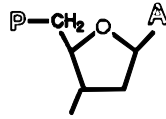


Nükleozidlerin fosfat esterleri olan nükleotidler, yapılarında bulunan nükleozide göre adlandırılırlar:

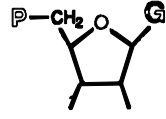
BAZ	NÜKLEOZİD	NÜKLEOTİD
SİTOZİN	SİTİDİN	SİTİDİLİK ASİD, CMP
ÜRASİL	ÜRİDİN	ÜRİDİLİK ASİD, UMP
TİMİN	TİMİDİN	TİMİDİLİK ASİD, TMP
ADENİN	ADENOZİN	ADENİLİK ASİD, AMP
GUANİN	GUANOZİN	GUANİLİK ASİD, GMP
HİPOKSANTİN	İNOZİN	İNOZİNİK ASİD, IMP
KSANTİN	KSANTOZİN	KSANTİLİK ASİD, KMP



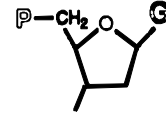
Adenosin-5'-monofosfat  
(Adenililik asit, AMP)



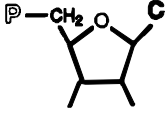
Deoksiadenosin-5'-  
monofosfat (Deoksi-  
adenililik asit, dAMP)



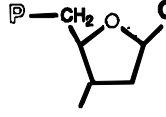
Guanosin-5'-monofosfat  
(Guanililik asit, GMP)



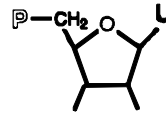
Deoksiguanosin-5'-  
monofosfat (Deoksi-  
guanililik asit, dGMP)



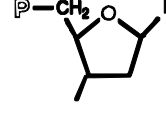
Sitosin-5'-monofosfat  
(Situdilik asit, CMP)



Deoksisitosin-5'-  
monofosfat (Deoksi-  
situdilik asit, dCMP)



Uridin-5'-monofosfat  
(Uridilik asit, UMP)



Deoksitimidin-5'-  
monofosfat (Deoksi-  
timidilik asit, dTMP)

Nükleotidler, bir azotlu baz, bir şeker ve şekerin 5'-hidroksil grubuna kovalent bağ ile bağlanmış bir veya daha çok sayıda fosfat grubu içerirler. Nükleotidlerdeki fosfat grupları, şekerden başlamak üzere sırasıyla  $\alpha$ ,  $\beta$  ve  $\gamma$  olarak adlandırılmaktadır. Nükleotidlerin biyosentez ve enerji dönüşümlerinde kullanılan aktif şekilleri, difosfat ve trifosfat şekilleridir:

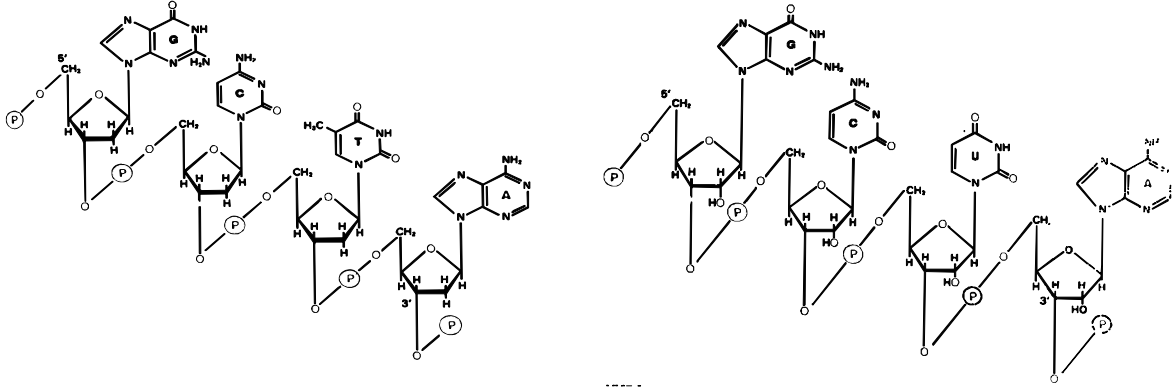
Baz	Ribonükleozid 5'-		
	Monofosfat	Difosfat	Trifosfat
Adenin	AMP	ADP	ATP
Guanin	GMP	GDP	GTP
Sitozin	CMP	CDP	CTP
Urasil	UMP	UDP	UTP
Baz	2'-deoksiribonükleozid 5'-		
	Monofosfat	Difosfat	Trifosfat
Adenin	dAMP	dADP	dATP
Guanin	dGMP	dGDP	dGTP
Sitozin	dCMP	dCDP	dCTP
Timin	dTMP	dTDP	dTTP

**DNA**, dAMP, dGMP, dCMP ve dTMP'nin polimeridir; **RNA** ise AMP, GMP, CMP ve UMP'nin polimeridir. Nükleotidlerin yazılmasında kullanılan *d* ön takısı, 2'-deoksi-D-ribozu tanımlamaktadır.

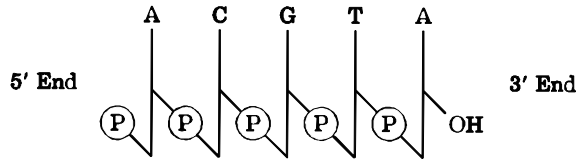
Yukarıdaki nükleotid yapılarının istisnaları vardır. Örneğin tRNA'larda riboz, alışılmadık N-C bağından ziyade bazen urasilin 5. atomuna C-C bağı ile bağlanır ki alışılmadık dışındaki bu bileşik psödouridin ( $\psi$ uridin)'dir. tRNA'lar, ek olarak TMP ve  $\psi$ MP da içerirler. Bazı DNA'larda, adenin, guanin, sitozin, major bazlarının metillenmiş formları olan N<sup>6</sup>-metil adenin, 5-metil sitozin ve N<sup>2</sup>-metil guanin de bulunabilir; bazı viral DNA'larda bazı bazlar hidrosimetillenmiş veya glikozillenmiş olabilir ki DNA moleküllerinde böyle değişmiş veya olağan olmayan bazlar, birçok durumda genetik bilgiyi koruma ve düzenleme için spesifik sinyallerdir.

## Nükleotidlerin fonksiyonları

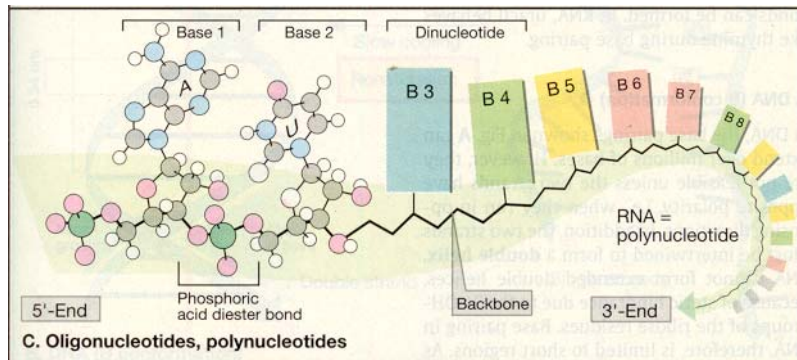
**1) Nükleotidler, nükleik asitlerin alt üniteleridirler.** Pürin ve pirimidin nükleotidleri, DNA ve RNA moleküllerinin monomerik birimleri olarak görev yapmaktadırlar. Hem DNA'da hem RNA'da nükleotidler, fosfat köprüleri vasıtasıyla art arda bağlanmışlardır; özellikle bir nükleotidin 5<sup>I</sup>-hidroksil grubu sonraki nükleotidin 3<sup>I</sup>-hidroksil grubuna bir fosfodiester bağı vasıtasıyla bağlanır. Böylece, nükleik asitlerin kovalent iskeleti, birbiri ardına gelen fosfat ve pentoz kalıntılarından oluşur; karakteristik bazlar, iskelete düzenli aralıklarla eklenmiş yan gruplar durumundadırlar:



Bir nükleotid dizisi, alışkanlık olarak, 5<sup>I</sup> ucu solda 3<sup>I</sup> ucu sağda yani 5<sup>I</sup>→3<sup>I</sup> yönünde gösterilir; 5<sup>I</sup> ucu, 5<sup>I</sup> pozisyonunda bir nükleotidden yoksundur ve 3<sup>I</sup> ucu, 3<sup>I</sup> pozisyonunda bir nükleotidden yoksundur:



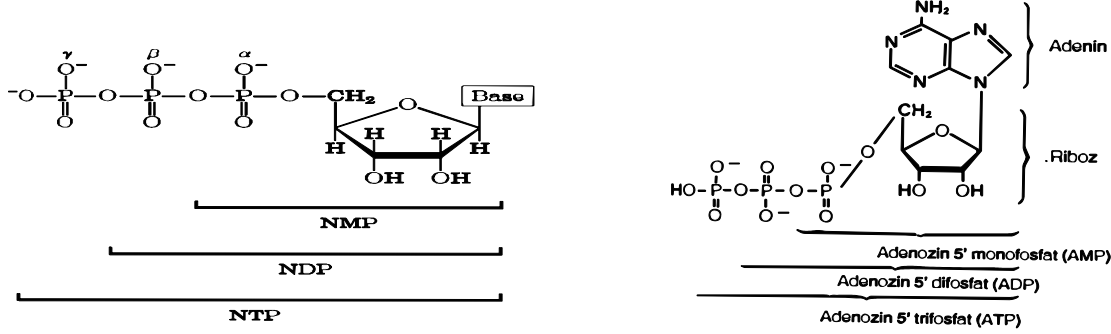
Kısa bir nükleotid dizisi **oligonükleotid** olarak tanımlanır; 50'den fazla nükleotid içeren uzun bir nükleotid dizisi **polinükleotid** olarak tanımlanır:



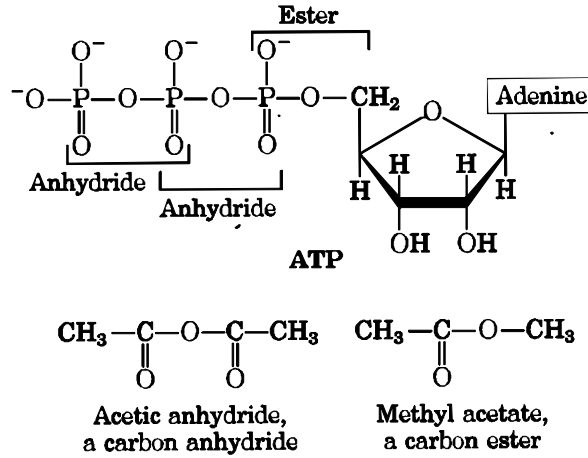
Hem DNA'nın hem RNA'nın nükleotid dizisinden oluşan iskeleti hidrofilitir; şeker kalıntılarının hidroksil grupları su ile hidrojen bağları oluşturur. Polar iskeletteki fosfat grupları, pH 7'de tamamen iyonize ve negatif yüklüdürler; fosfat gruplarının negatif yükleri, genellikle proteinler, metal iyonları ve poliaminler üzerindeki pozitif yükler ile iyonik etkileşim vasıtasıyla nötralize edilirler. Bir nükleotid dizisinde bütün fosfodiester bağları

zincir boyunca aynı yönde bulunurlar ki bu, nükleotid zincirine farklı 5<sup>+</sup> ve 3<sup>+</sup> uçları ile spesifik bir polarite verir.

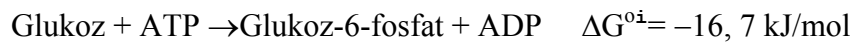
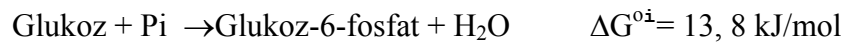
2) **Nükleotidler, hücrede kimyasal enerjiyi taşırlar.** Asit anhidrid bağları tarafından mononükleotidin pentozuna bağlanan ilave fosfatlar, adenosin difosfat (ADP) ve adenosin trifosfat (ATP) gibi nükleozid di- ve tri-fosfatları oluştururlar:



Nükleozid trifosfatlar, biyokimyasal reaksiyonların geniş bir bölümünü yürütmek için kimyasal enerji kaynağı olarak kullanılırlar. ATP ve diğer nükleozid trifosfatların hidrolizi, trifosfat yapısının kimyası nedeniyle enerji veren bir reaksiyondur. Riboz ve  $\alpha$  fosfat arasındaki bağ bir ester bağıdır,  $\alpha - \beta$  ve  $\beta - \gamma$  bağları fosforik asit anhidridleridir:



Ester bağlarının hidrolizi yaklaşık 14 kJ/mol enerji verdiği halde anhidrid bağlarının her birinin hidrolizi yaklaşık 30 kJ/mol enerji verir. ATP'nin hidrolizi, biosentezlerde sıklıkla  $\Delta G^{0i} > 0$  olanlar gibi daha az elverişli metabolik reaksiyonları yürütür; ATP'nin hidrolizi pozitif standart serbest enerji değişikliğine sahip bir reaksiyona kenetlendiğinde uygun ürün oluşumu için toplam sürecin dengesini değiştirir:

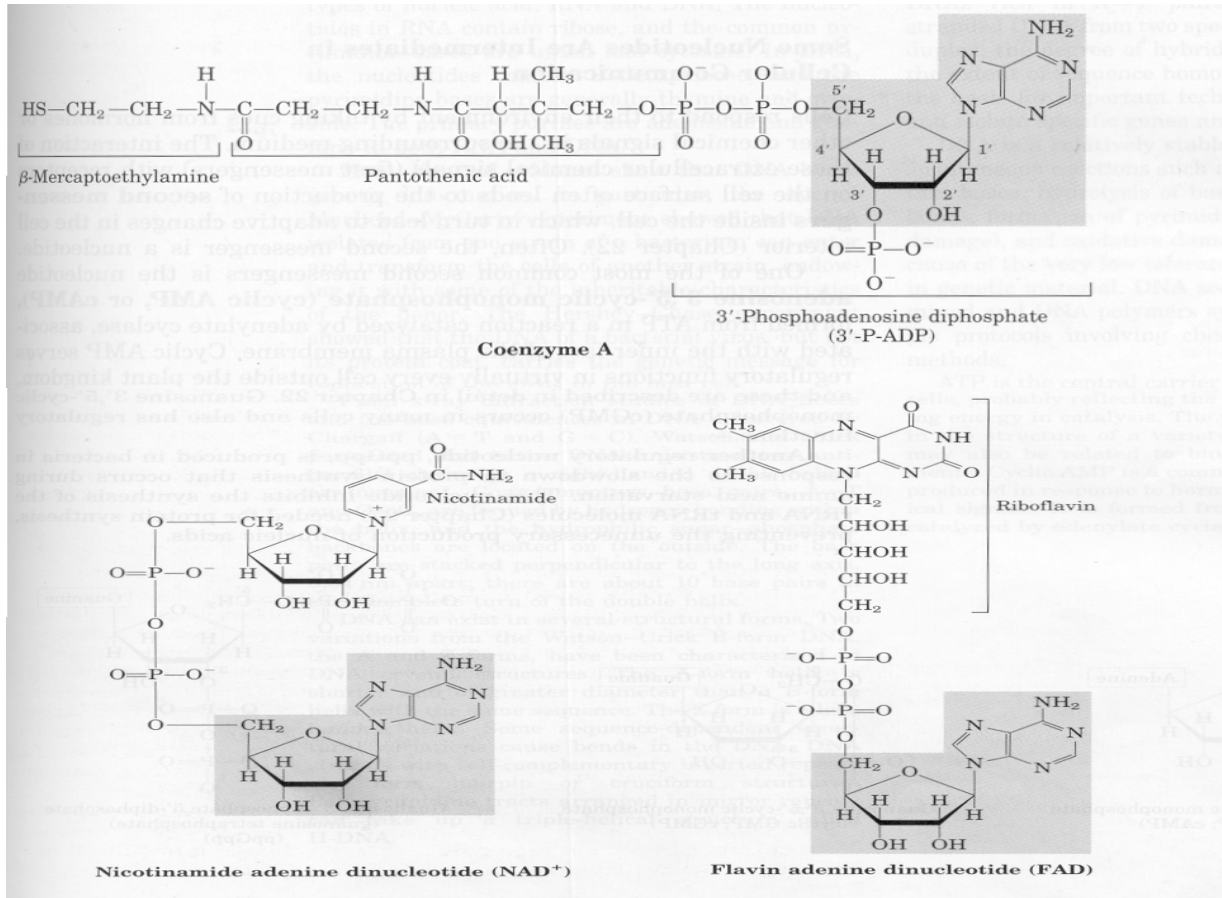




Uridin trifosfat (UTP), guanozin trifosfat (GTP) ve sitidin trifosfat (CTP) spesifik reaksiyonlarda rol alırlar.

*Timidin trifosfat (dTTP) da dahil olmak üzere nükleozid trifosfatlar, DNA ve RNA sentezinin aktiflenmiş prekürsörleri olarak da görev görürler.*

**3) Nükleotidler, birçok enzim kofaktörlerinin bileşenleridir.** Kimyasal fonksiyonların geniş bir bölümüne yardım eden enzim kofaktörlerinin bir grubu, yapılarının bir parçası olarak adenosin içerir. Bu faktörlerin hiçbirinde adenosin kısmı primer fonksiyona katılmaz; fakat yapıdan adenosinin çıkarılması genellikle aktivitelerinde şiddetli bir azalmaya neden olur. Yapılarında adenosin içeren başlıca koenzimler, koenzim A (CoA), nikotinamid adenin dinükleotid (NAD<sup>+</sup> veya NADH) ve flavin adenin dinükleotid (FAD veya FADH<sub>2</sub>)'dir. Vitamin B<sub>12</sub>'nin aktif formu 5<sup>+</sup>-deoksiadenozil kobalamin içerir:

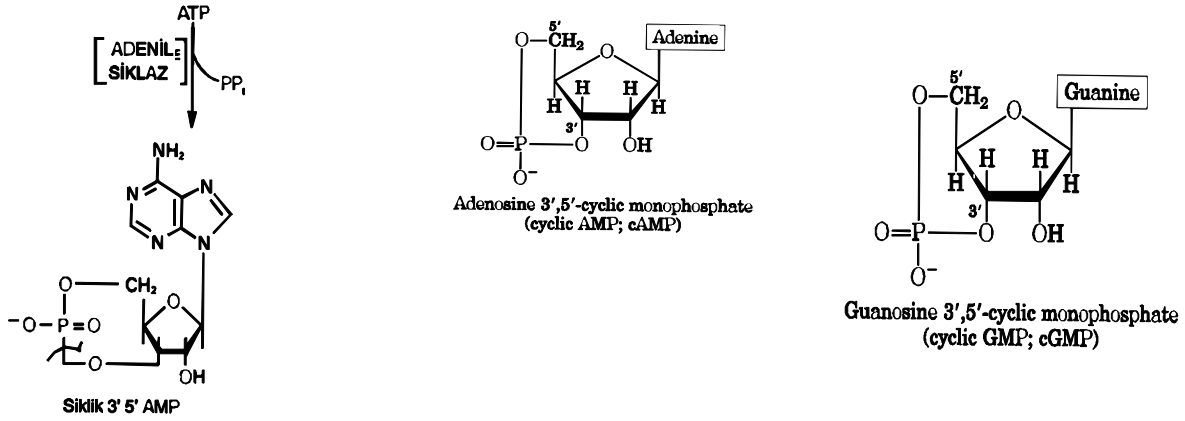


*Metil grubu vericisi olarak fonksiyon gören S-adenozil metiyonin (SAM) ve inorganik sülfat taşıyıcısı olarak fonksiyon gören PAPS (3'-fosfoadenozin-5'-fosfosülfat) da yapısında adenosin içermektedir.*

**4) Bazı nükleotidler sellüler haberleşmede aracıdırlar.** Hücreler, hormonlardan veya ortamdaki diğer kimyasal sinyallerden işaret olarak çevrelerine cevap verirler. Birinci haberci diye tanımlanan ekstrasellüler uyarıların hücre yüzeyindeki reseptörler ile karşılıklı etkileşimi, hücre içinde ikinci habercilerin üretimine yol açar; ikinci haberci, hücre içinde adaptif değişikliklere yol açar ve böylece hücrenin cevabı oluşur.

En yaygın ikinci habercilerden biri adenosin 3<sup>+</sup>,5<sup>+</sup>-siklik monofosfat (siklik AMP, cAMP)'tır. cAMP, plazma membranının iç yüzünde bulunan adenilat siklaz tarafından katalizlenen bir

reaksiyonda ATP'den oluşturulur. Guanozin 3',5'-siklik monofosfat (cGMP) da bir çok hücrede meydana gelir ve düzenleyici fonksiyonlara sahiptir:



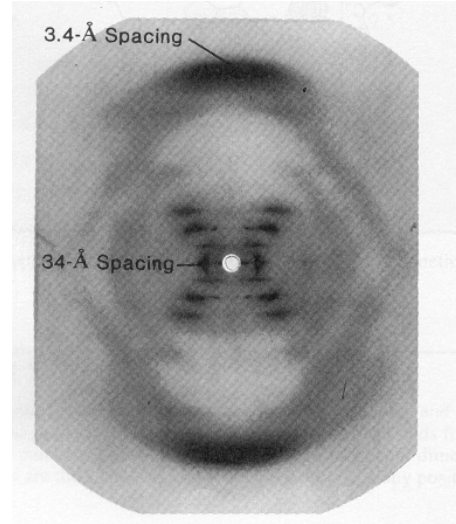
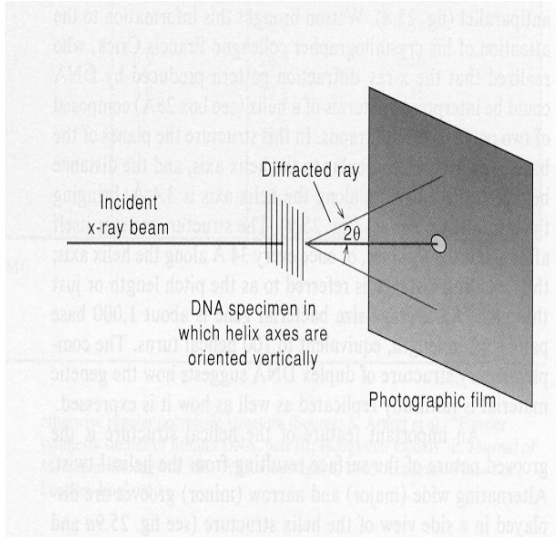
Bunlardan başka, bir pürin analogu olan allopürinol, gut hastalığının tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bazı pirimidin nükleotidleri de UDP-glukoz, UDP-galaktoz ve UDP-glukuronik asit gibi yüksek enerjili ara ürünler şeklinde karbonhidrat metabolizmasında; CDP-açilgliserol ve CDP-kolin şeklinde lipid metabolizmasında görev yapmaktadırlar. Ayrıca, DNA ve RNA sentezini inhibe eden nükleotid, nükleozid ve baz analogları, kanser hücrelerinin veya bazı virüslerin çoğalmasını önlemek için kullanılmaktadırlar. Doğal nükleotidlerin yapay analogları olan ve kemoterapide kullanılan bazı nükleotidler, enzimleri inhibe etmekte veya nükleik asitlerin yapısındaki nükleotidler ile yer değiştirmekte, böylece kanser hücrelerinin ve bazı virüslerin çoğalmasını engellemektedirler.

### DNA (deoksiribonükleik asit)

DNA, canlı hücrelerde genetik bilginin saklandığı tek kromozomal komponenttir. DNA'da saklı olan genetik bilgi, **replikasyon** suretiyle kalıtılabilmekte ve **transkripsiyon** olayı ile RNA'ya aktarıldıktan sonra **translasyon** olayı ile protein haline çevrilebilmektedir.

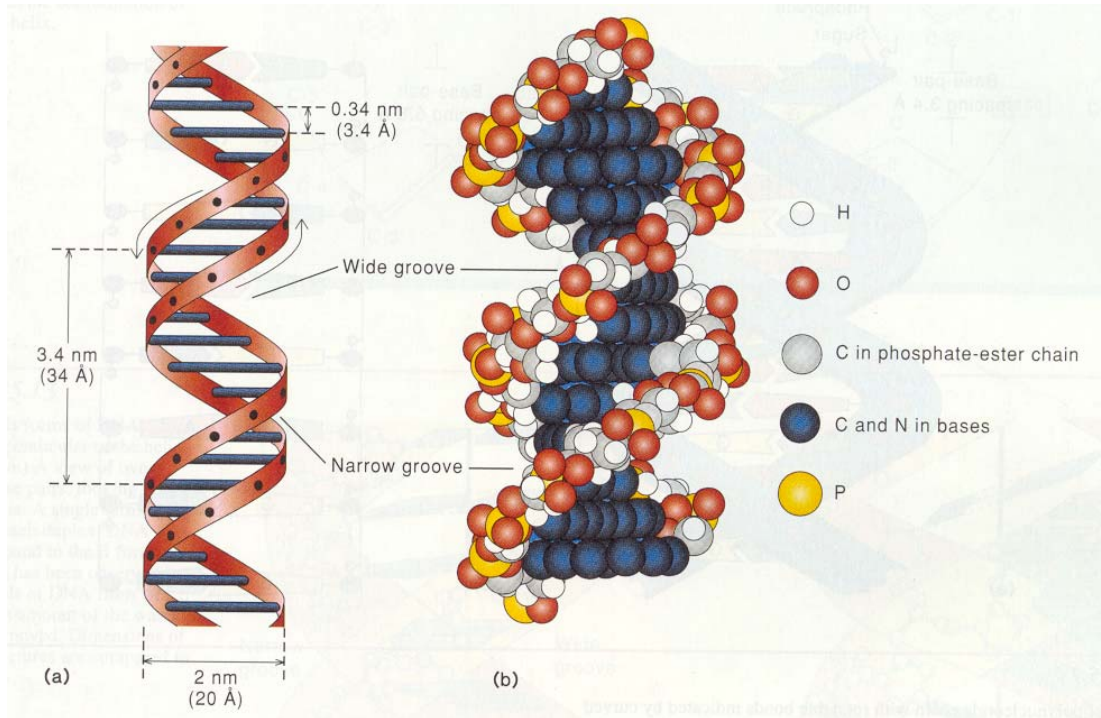
DNA'nın yapısı hakkında en önemli ipucu Erwin Chargaff ve meslektaşlarının 1940 sonlarındaki çalışmalarında bulundu. Erwin Chargaff ve meslektaşları, DNA'daki dört nükleotid bazının, farklı organizmaların DNA'larında farklı oranlarda bulunduğunu ve bazı bazların miktarları arasında ilişkiler olduğunu buldular ki bu çalışmaların sonuçları, **Chargaff kuralları** diye bilinir: 1) DNA'nın baz kompozisyonu genellikle türden türe değişir. 2) Aynı türlerin farklı dokularından izole edilen DNA örnekleri aynı baz kompozisyonuna sahiptirler. 3) Belli bir türdeki DNA'nın baz kompozisyonu yaş, beslenme durumu ve çevre değişimi ile değişmez. 4) Türler ne olursa olsun bütün DNA'larda adenin (A) kalıntılarının sayısı timin (T) kalıntılarının sayısına eşittir ve guanin (G) kalıntılarının sayısı sitozin (C) kalıntılarının sayısına eşittir (A = T ve G = C). Buna göre pürin kalıntılarının toplamı pirimidin kalıntılarının toplamına eşittir (A+G = T+C). *Adenin ve guanin, DNA'larda en sık rastlanan pürinlerdir; sitozin ve timin, insan ve diğer tür DNA'larda en sık rastlanan pirimidinlerdir. A+T/G+C oranı türe göre değişir ki insan ve hayvan DNA'larında A ve T çoktur, bakteri ve virüs DNA'larında G ve C çoktur.*

Rosalind Franklin ve Maurice Wilkins, DNA'nın yapısını aydınlatmak ve DNA kristallerini analiz etmek için güçlü X-ışını difraksiyon metodu kullandılar ve 1950'lerde DNA'nın karakteristik bir X-ışını difraksiyon örneği oluşturduğunu buldular:



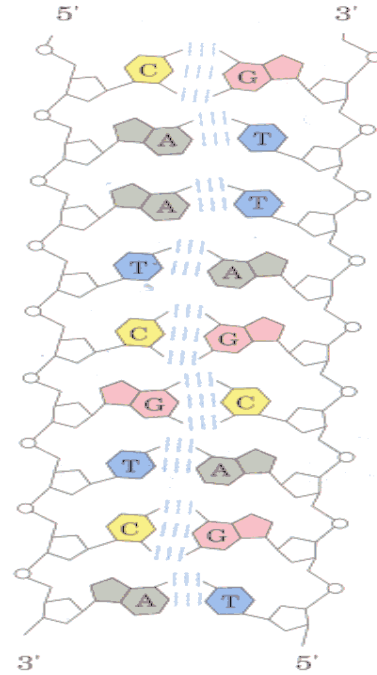
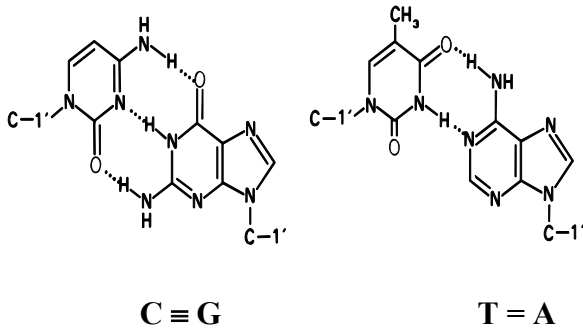
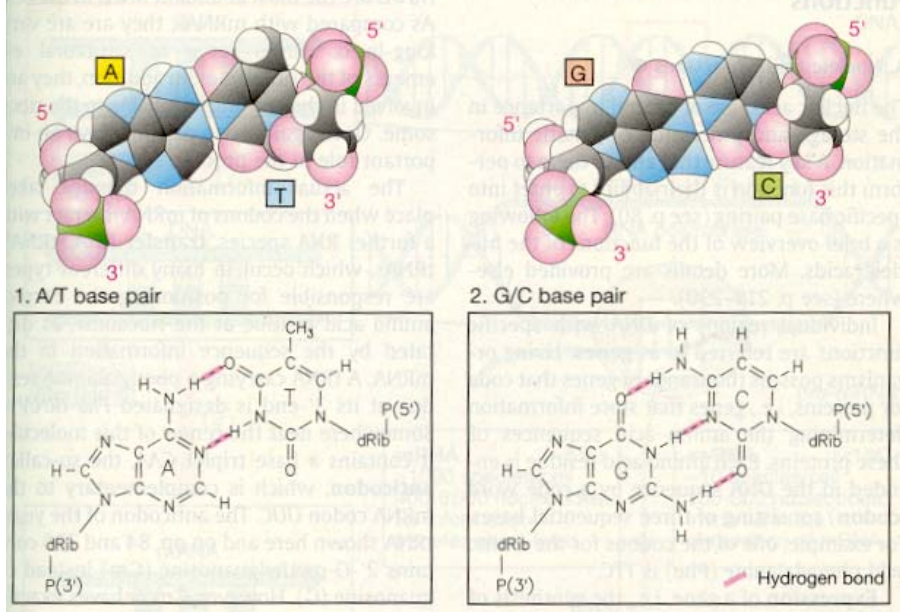
Bu örnekten DNA moleküllerinin uzun eksenleri boyunca biri 0,34 nm ikincisi 3,4 nm olan iki devirli heliks olduğu sonucuna varıldı. Örneğin aynı zamanda molekülün iki kol içerdiğini göstermesi yapıyı belirtmek için çok önemliydi.

1953'te James Watson ve Francis Crick, mevcut verilerin hepsini açıklayan üç boyutlu DNA yapısı modeli ileri sürdüler. Bu modele göre DNA, sağa dönen çift heliks (ikili sarmal) oluşturmak üzere aynı eksen etrafında iki helezon şeklinde DNA zincir kangalından (polinükleotid zinciri) oluşmuştur. Art arda gelen deoksiriboz ve negatif yüklü fosfat gruplarının oluşturduğu hidrofilik iskelet, ikili sarmalın çevre suyuna bakan dış tarafındadır. Her iki kolun pirimidin ve pürin bazları, hidrofobik ve neredeyse düzlemsel halka yapılarıyla heliksin uzun eksenine dik ve birbirine çok yakın olarak ikili sarmalın iç tarafında üst üste gelirler. Kollar arasındaki uzaysal ilişki, iki kol arasında büyük oluk ve küçük oluklar meydana getirir:



DNA ikili sarmalında bir koldaki her bir baz, diğer kolun bir bazına hidrojen bağlarıyla bağlanmak suretiyle aynı düzlemde **baz çifti** oluştururlar. *Bazlar arasında hidrojen bağı*

oluşmasını sağlayan gruplar, amino ve karbonil gruplarıdır. James Watson ve Francis Crick, yapı içinde Chargaff kuralları için bir mantık sağlayan en uygun baz çiftlerinin A = T ve G ≡ C baz çiftleri olduğunu buldular:

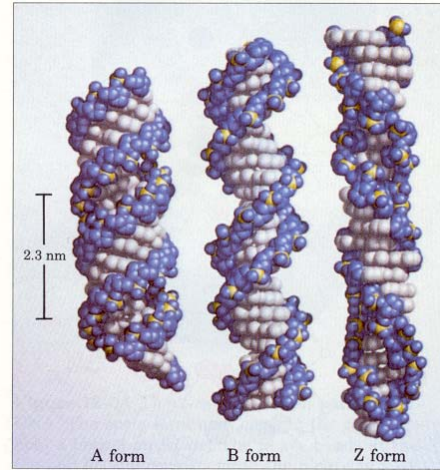


Bu tür baz eşleşmesi, çift zincirli DNA ve RNA yapısında görülmektedir. Bazların bu şekilde spesifik eşlenmesi, bir zincirde bulunan genetik bilginin yeni sentez edilen nükleik asit zincirinde yer almasını sağlamaktadır.

## DNA'nın farklı yapısal formları

DNA, belirgin olarak fleksibl bir moleküldür; şeker-fosfat iskeletindeki bağların bir bölümü etrafında hatırı sayılır rotasyon mümkündür ve termal dalgalanma, yapıda bükülme, gerilme ve çift oluşumunun bozulmasına neden olabilir.

B-form DNA olarak tanımlanan yapı (Watson-Crick tarafından tanımlanan yapı), fizyolojik şartlar altında DNA molekülü için en stabil yapıdır ve bu nedenle DNA'nın özelliklerinin herhangi birinin incelenmesi için standart referans noktasıdır. B-form DNA'dan başka A- ve Z-form DNA'lar da vardır:



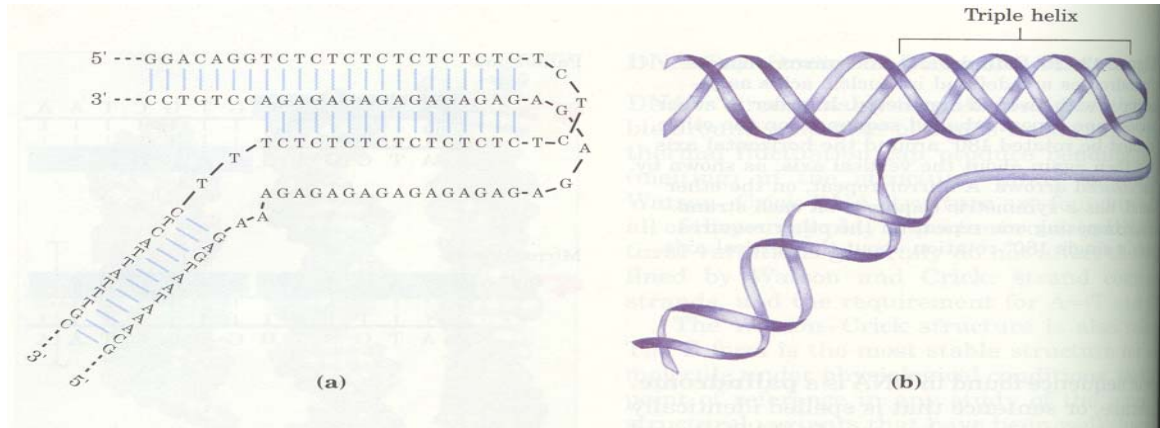
## **DNA TİPLERİNİN ÖZELLİKLERİ**

	A DNA	B DNA	Z DNA
<b>ŞEKİL</b>	En geniş	orta	en uzun
<b>BAZ UZAKLIĞI</b>	2.3 Å <sup>0</sup>	3.4 Å <sup>0</sup>	3.8 Å <sup>0</sup>
<b>HELİKS ÇAPI</b>	25.5 Å <sup>0</sup>	23.7 Å <sup>0</sup>	18.4 Å <sup>0</sup>
<b>DÖNÜŞ YÖNÜ</b>	Sağ	Sağ	Sol
<b>GLİKOZİD BAĞI</b>	Anti	anti	anti: C,T, Syn: G
<b>BİR HELİKS DÖNÜŞÜ BAZ ÇİFTİ</b>	11	10.4	12
<b>BÜYÜK OLUK</b>	dar, derin	geniş, derin	düz
<b>KÜÇÜK OLUK</b>	Çok geniş, yayvan	dar, derin	çok dar, derin

A-form DNA, nispeten susuz birçok çözeltide saptanır; belli bir DNA molekülü için B-form DNA'dan daha kısa ve daha geniştir.

Z-form DNA, B-form DNA'dan daha farklıdır; en belirgin farklılık, sola dönen helezon şekli ve iskeletinin zikzak görünümüdür.

Bazı DNA'lar olağan dışı yapılar gösterirler. Olağan dışı bir DNA yapısı H-DNA olarak bilinir ki bunun alışılmamış özelliği, bir üçlü heliks oluşturmak için DNA'nın üç kolunun eşleşmesi ve birbirine dolaşmasıdır:



H-DNA üçlü heliksinin üç kolundan ikisi pirimidin içerir; üçüncüsü pürin içerir.

Nükleik asitlerde de proteinlerdeki gibi primer, sekonder ve tersiyer yapı tanımlanır. Nükleik asitlerin primer yapısı, kovalent yapı ve nükleotid dizisidir. Nükleotidler,  $3^{\text{I}}$ ,  $5^{\text{I}}$ -fosfodiester bağları (fosforil bağı) vasıtasıyla birbirine bağlanmışlardır. Molekülün bir ucu  $5^{\text{I}}$ , diğer ucu  $3^{\text{I}}$  dür.

Nükleik asitlerin sekonder yapısı, nükleik asitteki nükleotidlerin bazıları veya hepsi vasıtasıyla oluşan düzenli ve stabil ikili sarmal yapısıdır. Sekonder yapıda, aynı veya farklı iki DNA zinciri arasında hidrojen bağları oluşmuştur; Chargaff kuralına uyacak biçimde, adenin (A) daima timin (T) ile, guanin (G) ise daima sitozin (C) ile eş oluşturmuştur. *Adenin ile timin ve guanin ile sitozin, komplementer bazlar olarak adlandırılırlar.* Sekonder yapıda dikkati çeken diğer bir özellik, A ile T arasında 2, G ile C arasında ise 3 adet hidrojen bağı olmasıdır. X ışınları difraksiyonu ile gösterilen bu özellik, bazların kimyasal yapılarında içerdikleri amino ve oksijen gruplarının gösterdikleri farklı elektronegatiflik güçlerine bağlıdır. Pentid (ribotid) zincirleri molekülün iki yanında yerleşmiştir; bazlar ise bu zincire dik olarak içe doğru uzanmışlardır. *Pentid veya ribotid, pentoz ile fosforik asidin birbirine ester bağı ile bağlanması sonucu oluşan birimdir.* Polinükleotid zincirlerinin yönü birbirine zıttır; birisi  $3^{\text{I}} \rightarrow 5^{\text{I}}$  yönünde iken diğeri  $5^{\text{I}} \rightarrow 3^{\text{I}}$  yönündedir. *Watson Crick'e göre; her DNA molekülünün ribotidlerden oluşmuş birer bel kemiği vardır. Bu bel kemiğinden iç eksene yönelik bazlar hidrojen köprüleri oluşturmuştur. İkili sarmalda her kıvrım uzunluğu 3,4 nmdir ( $34 \text{ \AA}$ ) ve her kıvrımda 10 nükleotid yer alır; nükleotidler arası uzaklık 0,34 nmdir ( $3,4 \text{ \AA}$ ). İkili sarmalın dönüşlerinde  $12 \text{ \AA}$  genişliğinde büyük oluk ve  $6 \text{ \AA}$  genişliğinde küçük oluk oluşur ki bu olukların, DNA fonksiyonu için gerekli bazı protein faktörleri bağladığı gösterilmiştir; molekülün dışı, fosfat gruplarından dolayı negatif yüklüdür, bu nedenle katyonik proteinler ile sarılmıştır.*

Nükleik asitlerin sekonder yapısı, bakteriyel nükleoid ve ökaryotik kromatinin kompleks katlanmalarla oluşturdukları büyük kromozomlar şeklindeki yapısıdır.

### Kromatin

Bölünme evresinde olmayan ökaryotik hücrelerde nükleustan izole edilen kromozomal materyal **kromatin** olarak tanımlanır. Kromatin, biçimlenmemiştir ve çekirdeğin her tarafına dağılmıştır. Hücre bölünmeye hazırlanırken kromatin yoğunlaşır ve kendiliğinden türe özel sayıda kromozomlar halinde belirir.

Kromatin, izole edilmiş ve analiz edilmiştir; yaklaşık olarak eşit miktarlarda protein ve DNA ile az miktarda RNA içeren liflerden oluşmuştur. Kromatindeki DNA, histon denen proteinlerle çok sıkı olarak ilişkilidir. Kromatin, nükleaz, DNA-polimeraz ve RNA-polimeraz

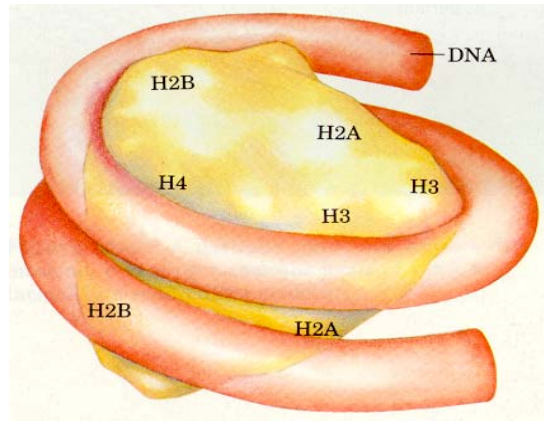
gibi histon olmayan proteinler de içerir ki bu proteinlerin bazıısı gen ifadesini yani DNA'dan özel RNA'lar ve sonra protein sentezini düzenlerler.

**Histonlar**, bütün ökaryotik hücrelerin kromatininde bulunurlar; 11000-21000 arasında molekül ağırlığına sahiptirler; arjinin ve lizin bazik amino asitlerinden zengindirler. Histonlar, molekül ağırlıkları ve amino asit kompozisyonu bakımından farklı beş büyük sınıfa ayrılırlar:

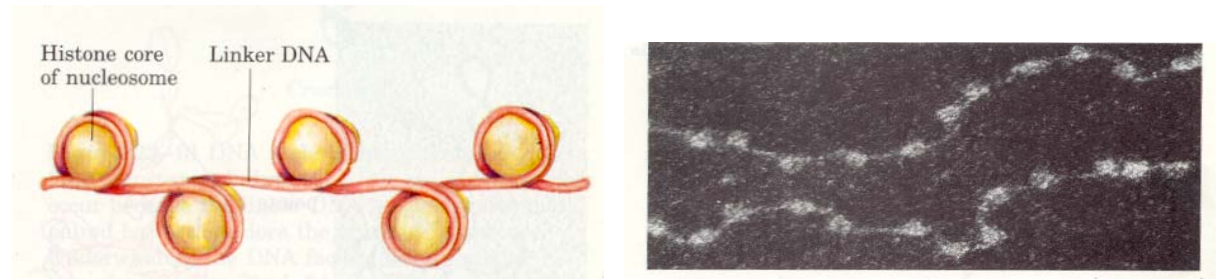
Histone	Molecular weight	Number of amino acid residues	Content of basic amino acids (as % of total)	
			Lys	Arg
H1*	21,130	223	29.5	1.3
H2A*	13,960	129	10.9	9.3
H2B*	13,774	125	16.0	6.4
H3	15,273	135	9.6	13.3
H4	11,236	102	10.8	13.7

Histonlardaki bazı amino asit yan zincirleri, asetilasyon, metilasyon, fosforilasyon ve ADP-ribozilasyon vasıtasıyla enzimatik olarak modifiye edilebilmektedirler. Bu nedenle histonların her biri farklı formlarda bulunabilirler. Histon moleküllerindeki modifikasyonlar, molekülün net elektrik yükünü, şeklini ve başka özelliklerini değiştirir. Bu değişikliklerin fonksiyonel önemi iyi bilinmemektedir; kromatin yapı ve fonksiyonunda, replikasyon ve transkripsiyonda önemli olabilirler. İnaktif kromatin, heterokromatin olarak bilinir; aktif kromatin ise ökromatin olarak bilinir ki DNAz'a duyarlıdır.

Kromatindeki temel kurucu üniteler **nükleozomlar**dır. Bir nükleozom, H2A, H2B, H3 ve H4'ün ikişer kopyası olan sekiz histon molekülünden oluşmuş bir histon göbek ve histon göbeğe sarılmış yaklaşık 146 baz çifti içeren DNA bölümünden yapılmıştır:

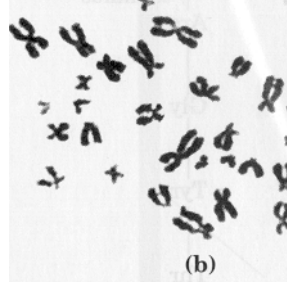


Nükleozomlar, DNA boyunca ipe dizilmiş boncuklar gibi görünürler; H1 histon, nükleozomlar arasındaki bağlayıcı DNA bölümüne bağlanır:



## Kromozomlar ve genler

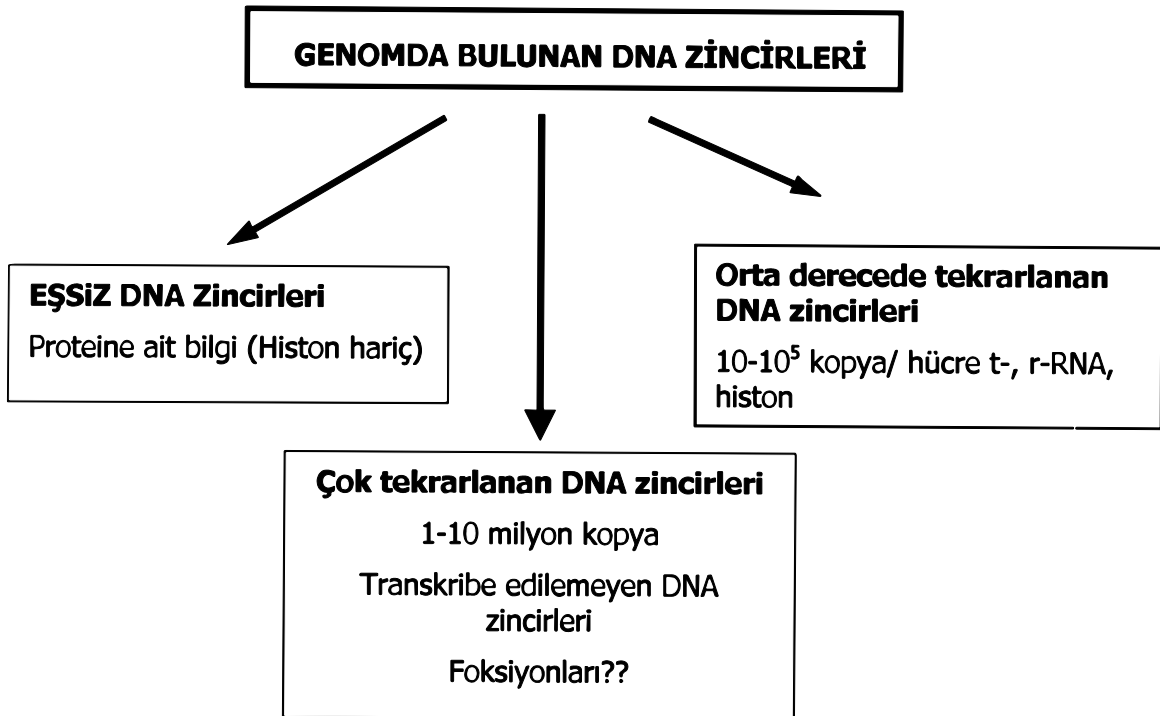
Bir çok hücreli organizmanın her hücresi genellikle aynı genetik materyal içerir. Hücresel genleri içeren DNA molekülleri, hücrelerdeki en büyük makromoleküllerdir ki bunlar, hücrenin bölünme evresinde, kompleks katlanmalarla **kromozom** denen yapılar haline gelirler:



Çoğu bakteri ve virüsler bir tek kromozoma sahiptirler. Ökaryotlar genellikle birçok kromozoma sahiptirler ki insan somatik hücrelerinde 46, tavukta 78, tavşanda 44, sıçanda 42, farede 40, kedide 38 kromozom bulunur.

Bir kromozom, özel genlerin binlercesini içerir ve genlere ek olarak hücre bölünmesinde kromozomların kız hücrelere ayrılması ve paketlenmesine yardım eden özel fonksiyonlu diziler içerir. 1950'lerde gerçekleştirilen ölçümler, en büyük DNA'ların yaklaşık 15000 baz çiftine eşdeğer  $10^6$  veya daha az molekül ağırlığına sahip olduğunu gösterdi. Daha sonra doğal DNA'ların izolasyonu için gelişmiş metotlarla DNA'nın molekül ağırlığının çok daha yüksek olduğu bulundu.

Bir hücrenin bütün farklı kromozomları üzerindeki bütün genlerin ve genler arası DNA bölümlerinin toplamı, **sellüler genom** olarak tanımlanır. İnsanlarda 23 çift kromozomda  $7 \times 10^9$  baz çifti, 3 milyon gen çifti olduğu hesaplanmaktadır. Genomda bulunan DNA zincirleri, üç gruba ayrılabilirler:

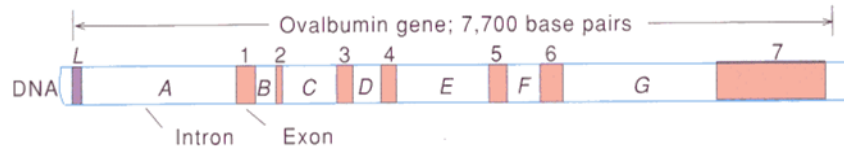




**Genler**, kromozomların, örneğin göz rengi gibi tek bir karakter veya fenotipi (görünen özellik) belirleyen veya etkileyen bölümleri olarak tanımlanırlar. Genin bu tanımından başka, ilk kez 1940'da George Beadle ve Edward Tatum tarafından önerilen bir moleküler tanımlaması da vardır. Moleküler tanımlamaya göre bir **gen**, bir enzimi belirleyen veya şifreleyen bir genetik materyal segmentidir. **Bir gen-bir enzim hipotezi** olarak bilinen bu kavram daha sonraları **bir gen-bir protein** şeklinde genişletildi. Bir genin bugünkü biyokimyasal tanımlaması biraz daha doğrudur; birçok protein birçok polipeptit zincire sahip ve farklı polipeptit zincirleri farklı genler tarafından şifrelendiğinden gen-protein ilişkisi **bir gen-bir polipeptit** şeklinde tanımlanır. *Bir protein molekülüne ait alt ünitenin yapısını şifreleyen genetik ifadenin en küçük ünitesi olarak davranan genetik birim, sistrion olarak tanımlanmaktadır.* Bazı genler tRNA ve rRNA gibi farklı RNA türlerini şifrelerler. Enzim olmayan polipeptitleri veya RNA'ları şifreleyen genler, yapısal genler olarak bilinir. DNA, aynı zamanda düzenleyici fonksiyona sahip segment veya diziler de içerir ki bu düzenleyici diziler, yapısal genlerin başlangıcını veya sonunu gösterebilirler; yapısal genlerin transkripsiyonunu açma veya kapamaya katılabilirler; replikasyon veya rekombinasyonun başlama noktası olarak fonksiyon görebilirler.

**Transkripsiyon**, bir DNA kalıbından bir mRNA molekülünün sentezlenmesi ve böylece protein sentezi için DNA'da saklanmış olan genetik bilginin mRNA'ya kopyalanması olayıdır. **Replikasyon**, bir DNA molekülünün doğru kopyasının yapılması olayıdır. **Rekombinasyon**, bir DNA molekülündeki nükleotid dizisinin bir bölümünün bir başka DNA molekülüne aktarılması olayıdır.

İnsanlarda 23 çift kromozomda  $7 \times 10^9$  baz çifti, 3 milyon gen çiftine karşılık 30.000-100.000 protein olduğu hesaplanmaktadır. O halde birçok ökaryotik hücre geninin nükleotid dizisi, polipeptit ürünün amino asit dizisi için kodlayıcı olmayan bir veya daha fazla sayıda DNA segmenti içerir. DNA'da kodlayıcı segmentler **ekson** olarak adlandırılırlar, kodlayıcı olmayan segmentler ise **intron** olarak adlandırılırlar:



### Ekstrakromozomal DNA'lar

**Viral DNA** molekülleri küçüktürler ve bazı virüslerde bulunan DNA tek kolludur.

Bakteriler, kromozom ve ekstrakromozomal DNA içerirler. Bakterilerin birçok türünde ekstrakromozomal DNA, sitozolde serbest olarak bulunan bir veya daha fazla sayıda, küçük, sirküler DNA molekülüdür; bu ekstrakromozomal element, **plazmid** olarak adlandırılır.

Ökaryotik hücreler, prokaryotlardan daha fazla DNA içerirler; en basit ökaryotlardan biri olan özel bir maya hücresi, bir E.coli hücresinden dört misli daha fazla DNA içerir; bir insan hücresindeki bütün DNA'ların toplam uzunluğu yaklaşık 2 metredir. Ökaryotik hücrelerin nükleuslarındaki DNA'ya ek olarak, baz dizisi nükleer DNA'dan farklı, çok küçük miktarlarda DNA mitokondriler içinde bulunur. **Mitokondriyal DNA**, nükleer kromozomlara göre çok küçük bir moleküldür; mitokondriyal tRNA'lar ve rRNA'lar ile birkaç mitokondriyal proteini kodlar.

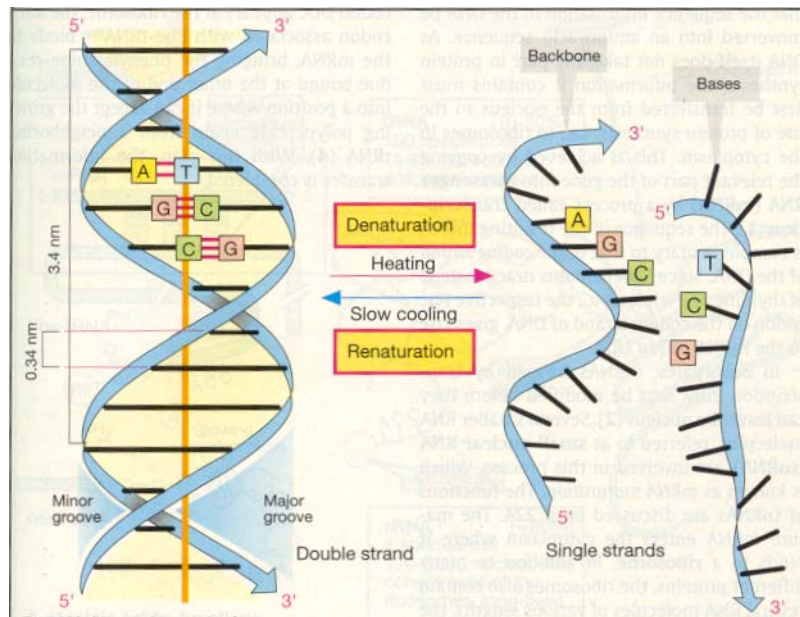
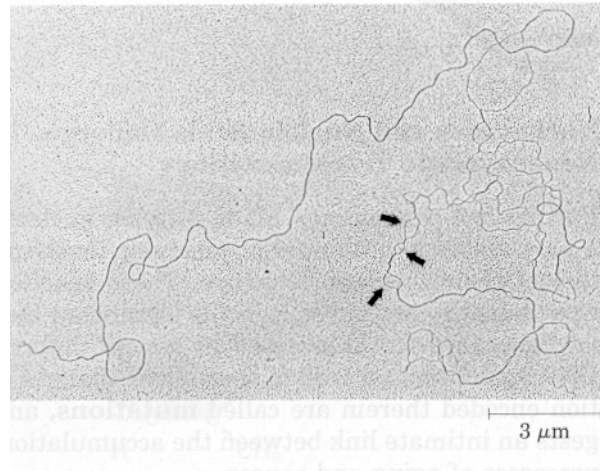
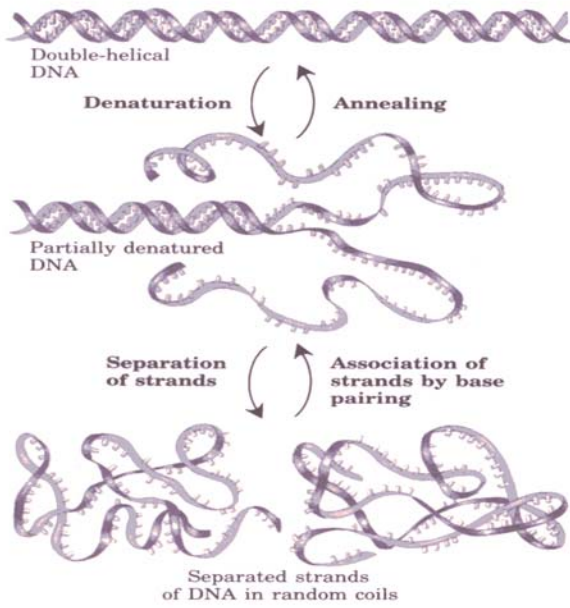
Fotosentetik hücrelerin kloroplastları da DNA içerir.

## DNA'nın kimyasal özellikleri

### 1) Çift heliks yapılı DNA, denatüre edilebilir ve denatüre olan DNA renatüre olabilir.

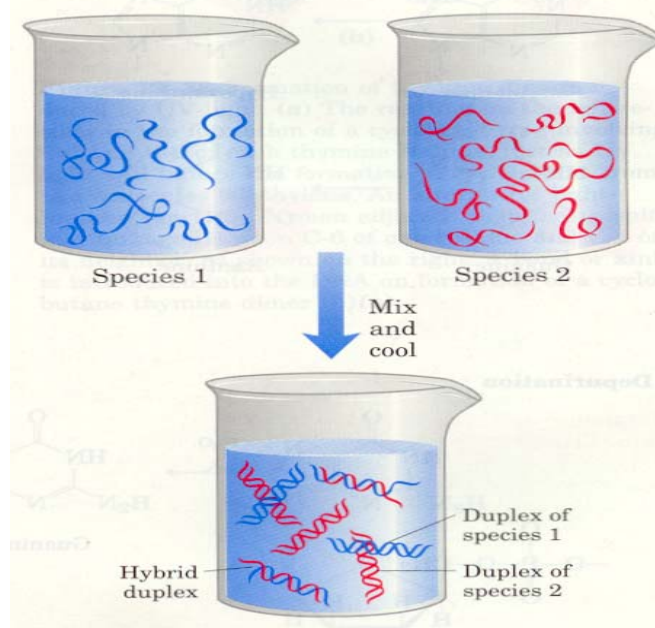
İzole edilmiş doğal DNA çözeltileri, pH=7 ve oda sıcaklığında yüksek derecede visközdürler. Böyle bir çözelti ekstrem pH değerine veya 80-90°C üzerinde sıcaklığa getirildiğinde viskozitesi azalır; ekstrem pH ve yüksek sıcaklık, globuler proteinlerin denatürasyonuna neden olurken çift heliksli DNA'nın denatürasyon ile erimesine neden olur.

DNA'nın denatürasyon ile erimesi, eşleşmiş bazlar arasındaki hidrojen bağlarının ve istiflenmiş bazlar arasındaki hidrofobik etkileşimlerin bozulmasının sonucudur. DNA'nın denatürasyonu sırasında kovalent olmayan bağlar yıkılır; sonuçta çift heliks, iki kol oluşturmak üzere açılır ve bu iki kol, molekülün tam uzunluğu veya uzunluğun bir kısmı boyunca tamamen birbirinden ayrılır. Renatürasyon sırasında ise denatürasyondaki olaylar zıt yönde yürür:



## 2) Farklı türlere ait DNA'lar hibridler (melezler) oluşturabilirler.

İnsan hücrelerinden izole edilen çift heliksli DNA'lar ile fare hücrelerinden izole edilen çift heliksli DNA'lar ısıtma suretiyle tam olarak denatüre edildikten sonra karıştırılır ve 65°C'de uzun süre tutulursa DNA'nın çoğu renatüre olur. Karışımdaki DNA'ların renatürasyonu sırasında, fare DNA kollarının çoğu fare çift heliks DNA'sı oluşturmak üzere tamamlayıcı fare DNA kolları ile birleşir; insan DNA kollarının çoğu insan çift heliks DNA'sı oluşturmak üzere tamamlayıcı insan DNA kolları ile birleşir. Ancak bazı fare DNA kolları, hibrid çift heliksler vermek üzere insan DNA kolları ile birleşebilirler:



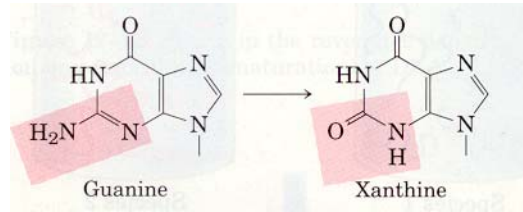
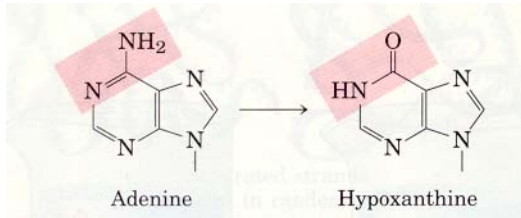
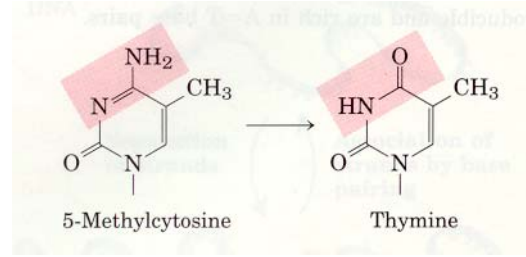
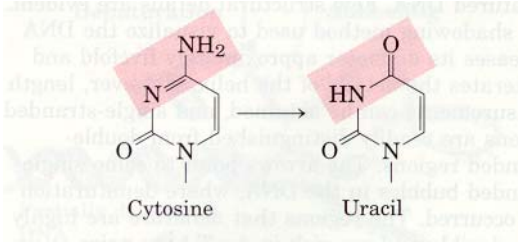
## 3) DNA, nonenzimatik transformasyona uğrayabilir.

Nükleik asitleri oluşturan nükleotidlerdeki pirimidinlerin ve pürinlerin bir kısmı, kovalent yapılarını değiştiren reaksiyonlara maruz kalırlar. Bu reaksiyonlar, genellikle çok yavaş fakat fizyolojik olarak önemlidirler; çünkü hücreler, genetik bilgideki değişikliklere çok az tolerans gösterirler.

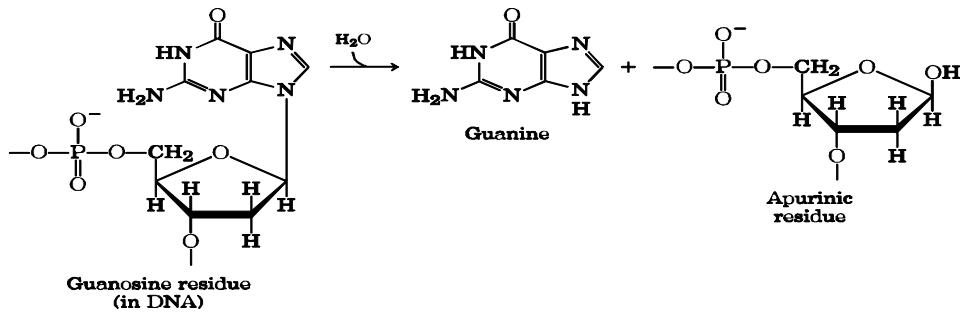
DNA'nın yapısında genetik bilginin kodlandığı yerde meydana gelen kalıcı değişiklikler, **mutasyonlar** olarak tanımlanırlar ki bir çok kanıt, yaşlanma ve kanser oluşumu ile mutasyonların birikimi arasında özel bir bağ olduğunu düşündürür.

Mutasyonlar, bazı bazların spontan deaminasyonu, baz ve pentoz arasındaki glikozil bağlarının hidrolizi, belli radyasyon tipleri vasıtasıyla gerçekleşen başka reaksiyonlar, endüstriyel artıklar olarak çevreyi kirleten kimyasal maddelerin etkisi ile meydana gelirler. Yiyeceklerde, suda veya havada bulunan birçok karsinojenik bileşik, kanser yapıcı etkilerini, DNA'daki bazıları modifiye etmek suretiyle gösterirler.

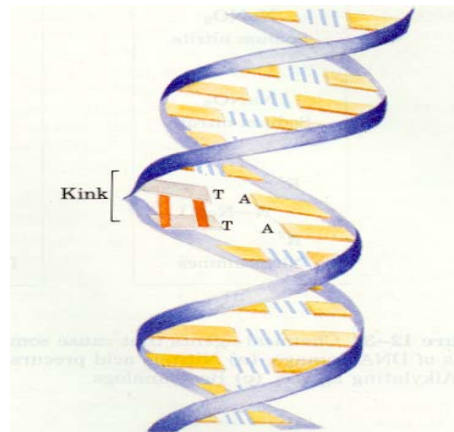
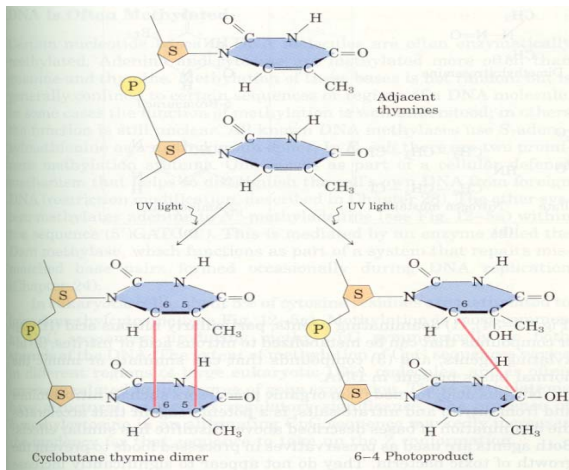
Birkaç baz, deaminasyon ile spontan olarak halka dışındaki amino gruplarını kaybedebilir ve başka baza değişebilirler:



DNA'lardaki bir başka önemli reaksiyon, baz ve pentoz arasındaki glikozil bağlarının hidrolizidir ki bu, pürinlerde pirimidinlerdekinden çok daha hızlı meydana gelir. DNA'nın pH'ı 3 olan bir ortamda inkübasyonu, pürin bazlarının selektif çıkarılmasına (depürinasyon) ve apürinik asit denen bir türevin oluşmasına neden olur:

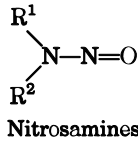
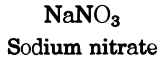
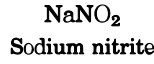


200-400 nm dalga boyuna sahip UV ışınları, bakteri ve insan deri hücrelerinin DNA'sında pirimidin dimerlerinin oluşumuna ve başka kimyasal değişikliklere neden olabilir; X-ışınları ve  $\gamma$ -ışınları gibi iyonize edici ışınlar, nükleik asitlerin kovalent iskeletinde kıvrılmalar, bazların halka açılması ve parçalanmasına neden olabilir:

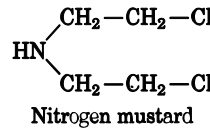
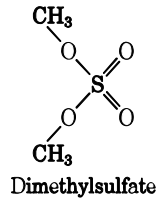
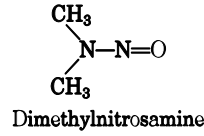


Endüstriyel aktivite ürünleri olarak çevreye katılan reaktif kimyasal maddeler DNA hasarı oluşturabilir. DNA hasarı oluşturan reaktif kimyasal maddelerin deamine edici ajanlar, alkilleyici ajanlar ve DNA'daki normal bazları taklit edebilen bileşikler olmak üzere üç büyük sınıfı vardır:

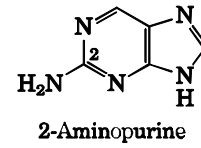
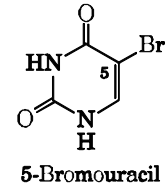
### Deamine edici ajanlar



### Alkilleyici ajanlar



### Baz analogları



DNA hasarı oluşturan reaktif kimyasal maddeler kendiliğinden hasar oluşturmayabilir, fakat hücreler tarafından zararlı formlara metabolize edilebilirler. Örneğin sodyum nitrit, sodyum nitrat ve nitrozaminler, deamine edici nitroz asit ( $\text{HNO}_2$ ) prekürsörleridirler. Nitroz asit de sitozini urasile ve adenini hipoksantine değiştirir.

DNA'da **mutajenik** yani mutasyon oluşturan değişikliklerin en önemli kaynağı, oksidatif hasardır. Hidrojen peroksit, hidroksil radikalleri, süperoksit radikalleri gibi uyarılmış oksijen türleri, radyasyona maruz kaldığında veya bir aerobik metabolizma yan ürünü olarak artarlar. Hücreler, bu reaktif türleri yıkmak için katalaz, ve süperoksit dismutaz gibi enzimleri kapsayan bir savunma sistemine sahiptirler. Bu oksidanların bir bölümü sellüler savunma sistemini geçerler ve DNA'yı hasarlayan bir grup kompleks reaksiyona katılırlar.

#### 4) DNA moleküllerindeki belli nükleotid bazları, sıklıkla enzimatik olarak metillenirler.

Adenin ve sitozin, guanin ve timinden sıklıkla daha fazla metillenir. Bu bazların metilasyonu rastgele değildir; bir DNA molekülünün bazı bölgelerinde sınırlı olur. Metilasyonun fonksiyonu bazı durumlar için anlaşılmıştır bazı durumlar için ise halen bilinmemektedir.

#### DNA nükleotid dizisinin tayini

Bir DNA molekülünün nükleotid dizisi, bilgi hazinesi olarak kabiliyetini belirler. 1970'lerin sonlarına kadar 5-10 nükleotid içeren bir nükleik asit dizisinin elde edilmesi bile zor ve çok zahmetli idi. 1977'de biri Alan Maxam ve Walter Gilbert tarafından diğeri Frederick Sanger tarafından iki yeni tekniğin geliştirilmesi daha uzun DNA moleküllerinin dizisini saptamayı mümkün kıldı.

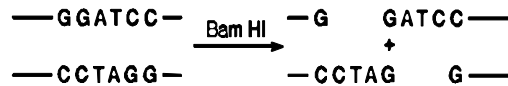
Hem Sanger hem Maxam-Gilbert tekniğinde genel prensip, DNA'yı işaretlenmiş dört fragman grubuna ayırmaktır. Her grubu oluşturan reaksiyon baza özeldir; belli bir bazın DNA dizisinde bulunduğu pozisyona uygun uzunlukta fragman oluşturur. Örneğin  $5^{\text{T}}\text{-pAATCGACT-3}^{\text{T}}$  biçiminde bir oligonükleotid için sadece C ile sonlanan fragmanlar oluşturan bir reaksiyon, dört ve yedi nükleotid uzunluğunda fragmanlar (pAATC ve pAATCGAC) meydana getirir. Aynı oligonükleotid için G ile sonlanan fragmanlar oluşturan bir reaksiyon ise yalnızca beş nükleotidli bir fragman (pAATCG) meydana getirir.

Nükleik asitleri parçalayan enzimler, fosfodiester bağıını hidrolitik olarak parçalarlar; çeşitli sınıflara ayrılırlar: 1) Ekzonükleazlar: Nükleotidleri, zincirin ucundan başlayarak ayırırlar. 2) Endonükleazlar: Tek veya çift sarmala etkili türleri vardır; tek zincire veya oluk bölgesine elektrostatik güçlerle bağlanır. 3) EndoRNAz: DNA-RNA kompleksini parçalayan, 5<sup>I</sup> fosfomonoester oluşturan, 3<sup>I</sup> monoester ve oligonükleotid oluşturan türleri vardır. 4) Restriksiyon enzimleri (kısıtlayıcı enzimler): DNA zincirlerini spesifik konumlarda kesen nükleazlardır; pekçok çeşidi vardır:

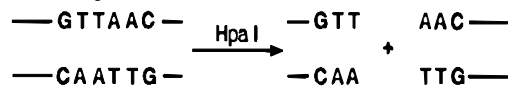
Endonükleaz	Parçalanmış Dizeler	Bakteriyel Kaynak
Bam HI	$\begin{array}{c} \downarrow \\ \text{G G A T C C} \\ \text{C C T A G G} \\ \uparrow \end{array}$	Basillus amiloliquofaciens H
Bgl II	$\begin{array}{c} \downarrow \\ \text{A G A T C T} \\ \text{T C T A G A} \\ \uparrow \end{array}$	Basillus globigii
Eco RI	$\begin{array}{c} \downarrow \\ \text{G A A T T C} \\ \text{C T T A A G} \\ \uparrow \end{array}$	Escherichia coli RY 13
Eco RII	$\begin{array}{c} \downarrow \\ \text{C C T G G} \\ \text{G G A C C} \\ \uparrow \end{array}$	Escherichia coli R R 245
Hind III	$\begin{array}{c} \downarrow \\ \text{A A G C T T} \\ \text{T T C G A A} \\ \uparrow \end{array}$	Hemofilus influenzae F <sub>D</sub>
Hha I	$\begin{array}{c} \downarrow \\ \text{G C G C} \\ \text{C G C G} \\ \uparrow \end{array}$	Hemofilus hemolitikus
Hpa I	$\begin{array}{c} \downarrow \\ \text{G T T A A C} \\ \text{C A A T T G} \\ \uparrow \end{array}$	Hemofilus parainfluenza
Mst II	$\begin{array}{c} \downarrow \\ \text{C C T N A G G} \\ \text{G G A N T C C} \\ \uparrow \end{array}$	Mikrolöus suşu
Pst I	$\begin{array}{c} \downarrow \\ \text{C T G C A G} \\ \text{G A C G T C} \\ \uparrow \end{array}$	Providensiya stuartii 164
Taq I	$\begin{array}{c} \downarrow \\ \text{T C G A} \\ \text{A G C T} \\ \uparrow \end{array}$	Thermus aquaticus YTI

Restriksiyon enzimleri, bakteriyel enzimlerdir; izole edildikleri bakteriye göre isimlendirilirler; belirli bir bakteride varlıkları, bakteriyofajlar denen bazı bakteriyel virüslerin büyümesini kısıtlar. Her enzim, 4-7 baz çifti uzunluğunda olan, **palindrom diziler** diye adlandırılan spesifik bir çift kollu DNA dizisini tanır ve ayrıştırır. Bu DNA ayrışmaları, enzim tarafından uygulanan mekanizmaya bağlı olarak ya yapışkan veya zikzaklı uçlar ya da künt uçlar ile sonuçlanır:

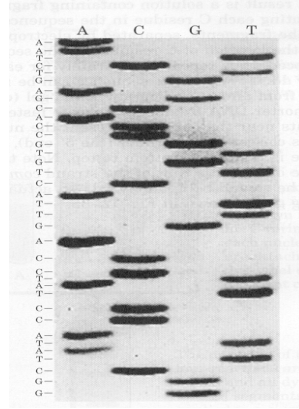
#### A. Yapışkan veya zikzaklı uçlar



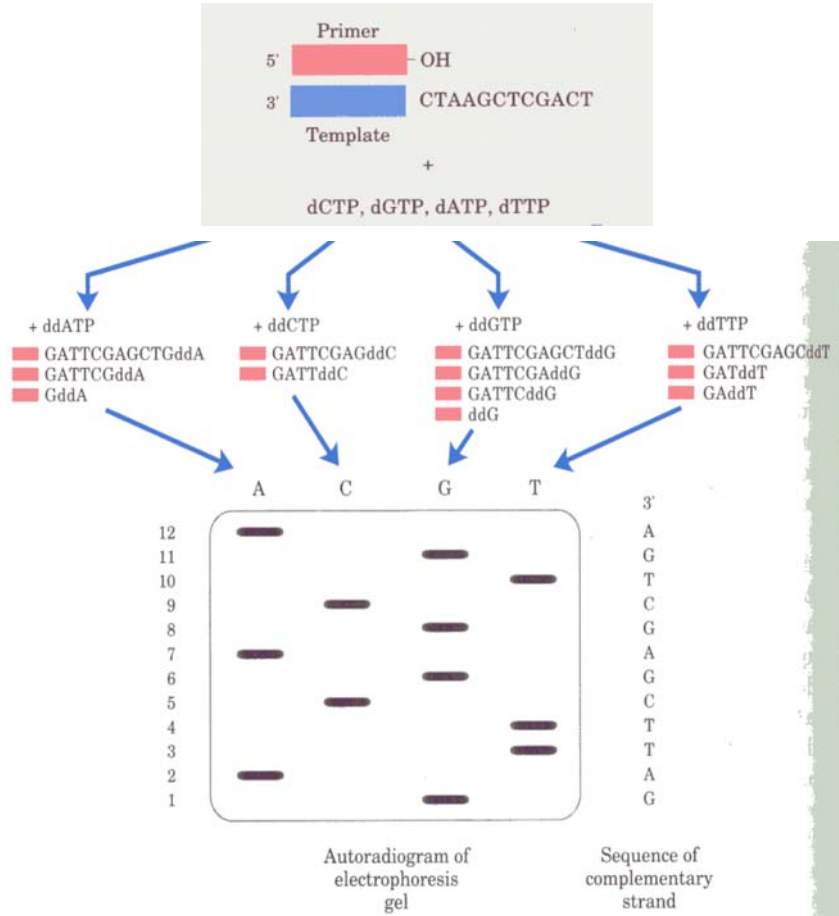
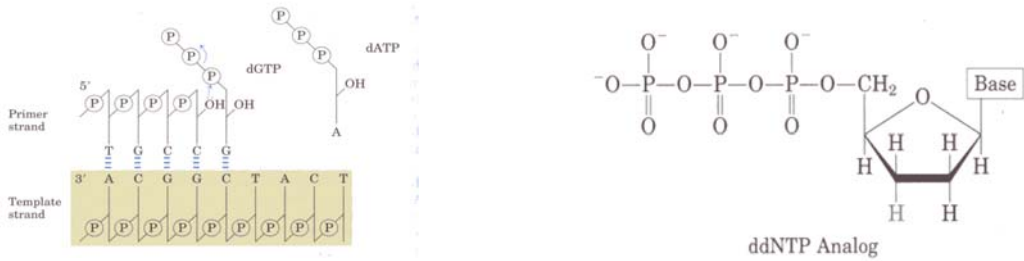
#### B. Künt uçlar



DNA'da bulunan dört baza (A, G, C, T) uyan işaretlenmiş fragman grupları elektroforetik olarak yan yana ayrıldıklarında dizinin doğrudan okunabildiği bir bandlar merdiveni elde edilir ve böylece nükleotid dizisi tayin edilmiş olur:

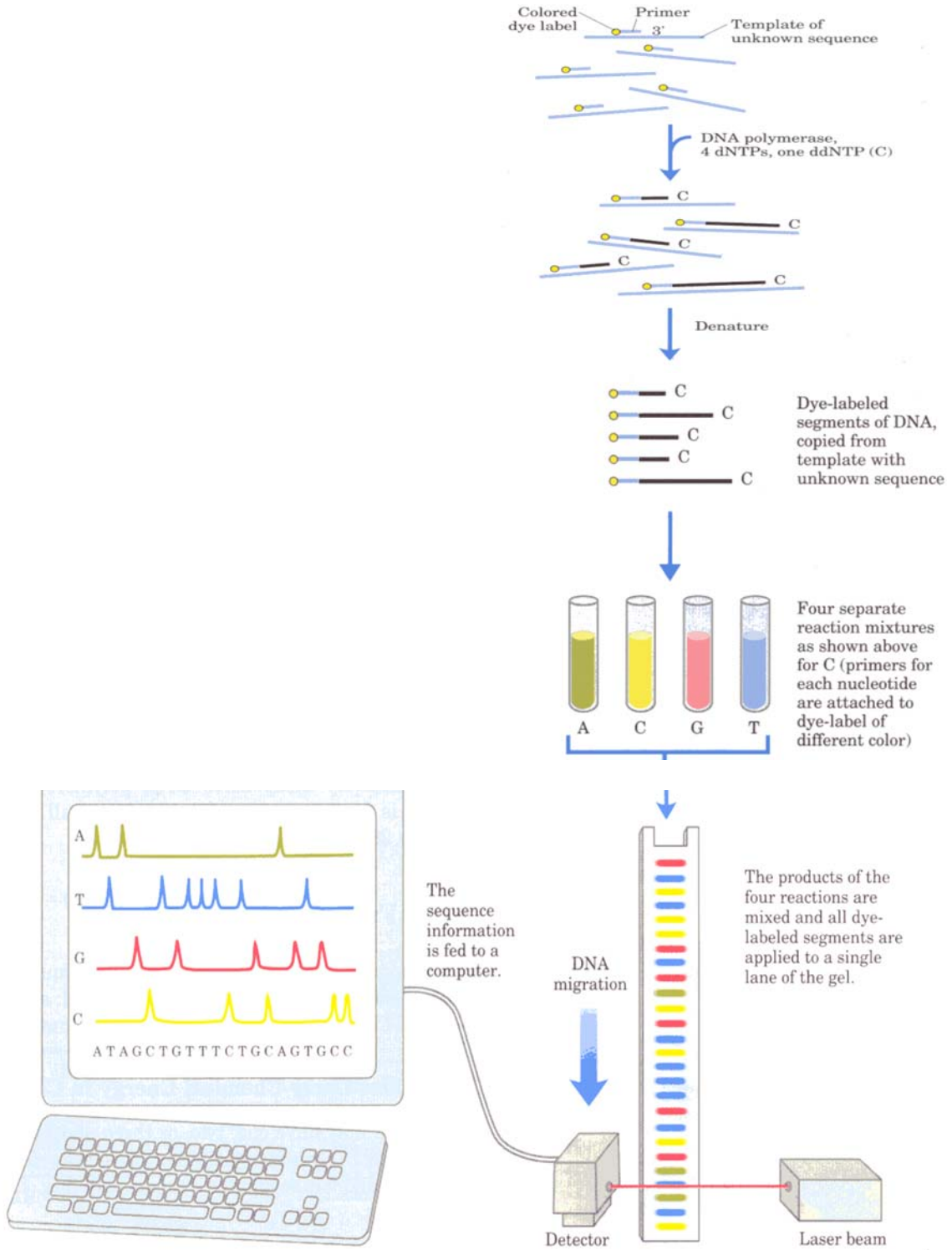


**Sanger yöntemi** teknik olarak daha kolay olduğundan yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu yöntemde DNA polimeraz vasıtasıyla DNA sentezi mekanizmasından yararlanılır ve DNA sentezini durdurmak için dideksinükleozid trifosfat (ddNTP) analogları kullanılır:



*Sanger yöntemi ile elde edilen nükleotid dizisinin analiz edilen nükleotid dizisi için tamamlayıcı olduğuna dikkat edilmelidir.*

DNA dizisinin tayini için, Sanger yönteminin bir varyasyonunu kullanan otomatize metotlar da geliştirilmiştir:

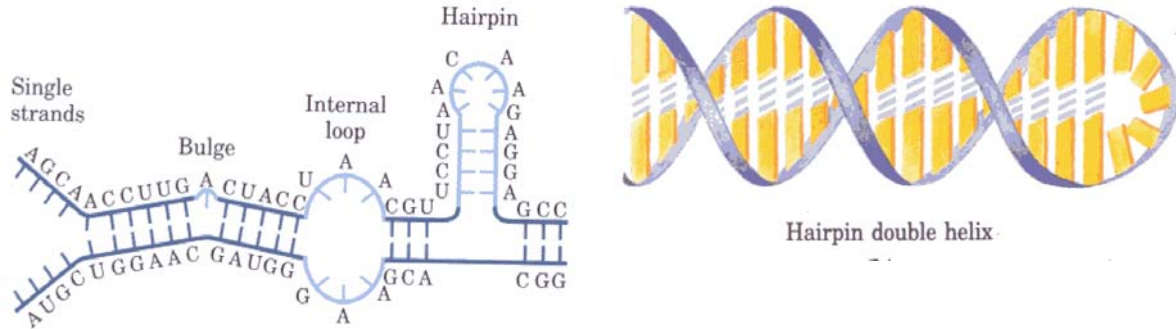




## RNA (ribonükleik asit)

RNA, hücrelerdeki ikinci büyük nükleik asit formudur; DNA'daki genetik bilgiyi bir fonksiyonel proteine dönüştürmekte aracı rol oynayan nükleik asittir.

RNA, bazı özellikleri bakımından DNA'dan farklıdır: 1) RNA'nın molekül ağırlığı, DNA'nın molekül ağırlığından çok daha küçüktür. DNA'nın molekül ağırlığı 6-12 milyon dalton olduğu halde RNA'nın molekül ağırlığı 100-300 bin dalton kadardır. 2) RNA molekülü, DNA molekülünden daha kısadır. DNA molekülü çok uzun iplik ( $6500 \times 18 \text{Å}$ ) şeklinde olduğu halde RNA'nın molekülü yumak ( $200 \times 15 \text{Å}$ ) şeklindedir. 3) RNA molekülündeki pentoz  $2^+$ -deoksiriboz değil, ribozdur. 4) RNA molekülü ender durumlar dışında timin (T) içermez; timin yerine urasil (U) içerir. 5) RNA molekülünde guanin (G) sayısı sitozin (C) sayısına eşit olmayabilir; aynı şekilde adenin (A) sayısı urasil (U) sayısına eşit olmayabilir. 6) RNA molekülü çift sarmallı değil tek zincir şeklindedir; RNA tek zinciri bazen firkete modeli gibi çeşitli modeller oluşturabilir. Firkete yapıdaki RNA'larda molekülün komplementer baz içeren bölgelerinde çift sarmal yapıya rastlanabilmektedir:



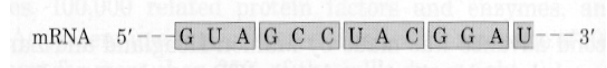
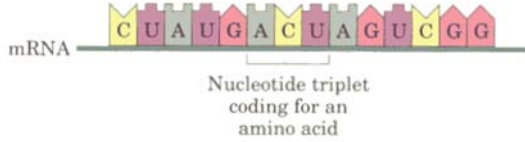
## RNA çeşitleri

Bütün prokaryotik ve ökaryotik hücrelerde haberci RNA (messenger RNA, mRNA), taşıyıcı RNA (transfer RNA, tRNA) ve ribozomal RNA (rRNA) olmak üzere üç çeşit RNA bulunur.

### mRNA (messenger RNA, haberciRNA)

Ökaryotlardaki DNA, büyük ölçüde nükleustadır, halbuki protein sentezi sitoplazmadaki ribozomlarda meydana gelir. Protein sentezi için gerekli genetik mesajı nükleustan ribozomlara DNA'dan başka moleküller taşımalıdır. RNA, 1950'lerin başlarında hem nükleusta hem sitoplazmada bulundu. Ayrıca protein sentezinin başlaması, sitoplazmadaki RNA miktarının ve turnover hızının artışıyla birliktedir. Bu bulgulara göre RNA, genetik mesajın nükleustan sitoplazmaya taşınması için aday kabul edildi. 1961'de Francois Jacop ve Jacques Monod, genetik bilgiyi DNA'dan ribozomlara taşıyan RNA için haberci RNA (mRNA) adını önerdiler.

mRNA'lar, protein sentezi için gerekli genetik mesajı nükleustaki DNA'dan sitoplazmadaki ribozomlara taşıyan RNA'lardır. Bir mRNA, insan dahil memeli hücrelerinde DNA kalıbından sentez edilen heterojen nükleer RNA (hnRNA) moleküllerinin işlenmesiyle oluşur; spesifik bir protein molekülü oluşturmak için, belirli bir amino asit sıralamasının polimerize edildiği bir kalıp olarak işlev görür. mRNA üzerindeki, her biri bir amino aside uyan üçlü baz gruplarına **kodon** denir:



Bir RNA molekülünde adenin (A), guanin (G), sitozin (C) ve urasil (U) bazları ile 64 üçlü grup yani 64 kodon bulunabilir. Proteinlerin yapısına sentez sırasında giren standart amino asit türü ancak 20 olduğundan bir amino aside uyan birden fazla kodon bulunabilir. Gerçekten bir amino aside uyan birden fazla kodon vardır; ayrıca hiçbir amino aside uymayan kodonlar da vardır. Hiçbir amino aside uymayan **UAA**, **UAG** ve **UGA** kodonları **sonlanma kodonları**dırlar; protein sentezi sırasında polipeptit zincire amino asit eklenmesini durdurup sentezin sonlandırılmasını şifrelerler:

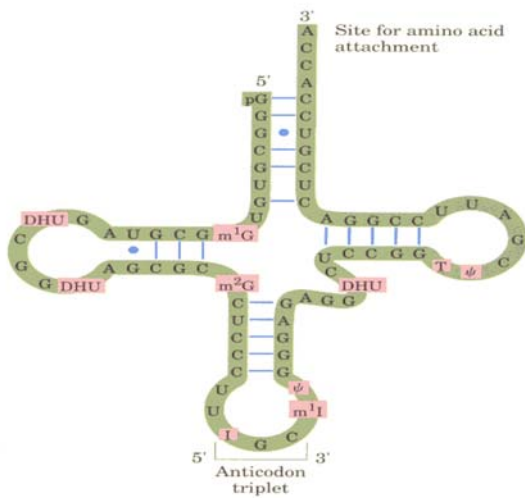
UUU	Phe	UCU	Ser	UAU	Tyr	UGU	Cys
UUC	Phe	UCC	Ser	UAC	Tyr	UGC	Cys
UUA	Leu	UCA	Ser	UAA	Stop	UGA	Stop
UUG	Leu	UCG	Ser	UAG	Stop	UGG	Trp
CUU	Leu	CCU	Pro	CAU	His	CGU	Arg
CUC	Leu	CCC	Pro	CAC	His	CGC	Arg
CUA	Leu	CCA	Pro	CAA	Gln	CGA	Arg
CUG	Leu	CCG	Pro	CAG	Gln	CGG	Arg
AUU	Ile	ACU	Thr	AAU	Asn	AGU	Ser
AUC	Ile	ACC	Thr	AAC	Asn	AGC	Ser
AUA	Ile	ACA	Thr	AAA	Lys	AGA	Arg
AUG	Met	ACG	Thr	AAG	Lys	AGG	Arg
GUU	Val	GCU	Ala	GAU	Asp	GGU	Gly
GUC	Val	GCC	Ala	GAC	Asp	GGC	Gly
GUA	Val	GCA	Ala	GAA	Glu	GGA	Gly
GUG	Val	GCG	Ala	GAG	Glu	GGG	Gly

Amino acid	Number of codons	Amino acid	Number of codons
Ala	4	Leu	6
Arg	6	Lys	2
Asn	2	Met	1
Asp	2	Phe	2
Cys	2	Pro	4
Gln	2	Ser	6
Glu	2	Thr	4
Gly	4	Trp	1
His	2	Tyr	2
Ile	3	Val	4

Metiyonine uyan **AUG** kodonu, hem prokaryotlarda hem ökaryotlarda **başlama kodonudur**; valine uyan **GUG** kodonu, yalnızca prokaryotlarda başlama kodonudur; protein sentezinin başlamasını şifrelerler.

### tRNA (transfer RNA, taşıyıcı RNA)

tRNA, molekülleri yaklaşık 75 nükleotidden oluşmuş, sekonder yapıları yonca yaprağı şeklinde olan RNA'dır:



m<sup>1</sup>G: metilguanozin

m<sup>2</sup>G: N<sup>2</sup>-dimetilguanozin

DHU: 5,6-dihidrouridin

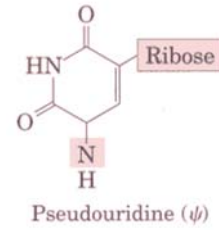
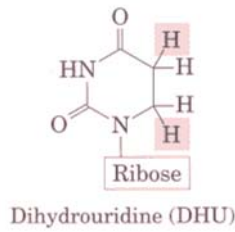
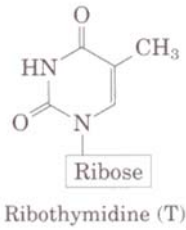
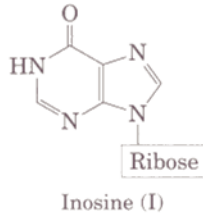
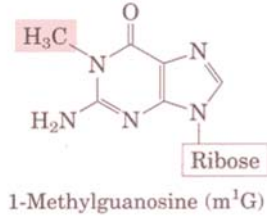
I: Inozin

m<sup>1</sup>I: 1-metilinozin

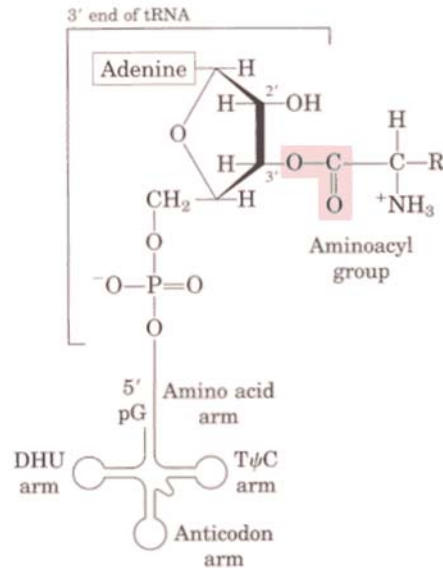
ψ: Psödouridin

T: Ribotimidin

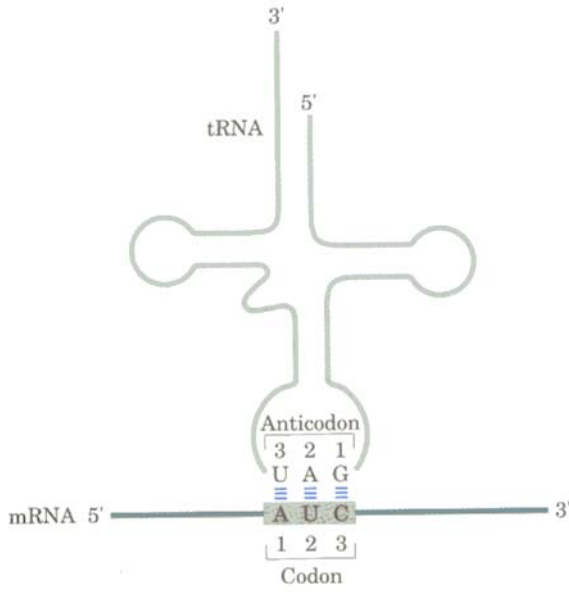
Tüm tRNA moleküllerinin 3<sup>İ</sup>-ucunda **ACC sıralaması** ve baz çifti gövdesi ucunda **antikodon ilmiği** bulunur. tRNA'da ayrıca bazı modifiye bazlar da bulunur:



tRNA moleküllerinin 3<sup>İ</sup>-ucunda bulunan **ACC sıralaması**ndaki adeninin (A) 3<sup>İ</sup> hidroksil grubuna, uygun amino asit karboksil grubuyla bağlanarak taşınır:



tRNA moleküllerinin baz çifti gövdesi ucundaki antikodon ilmiğinde üç nükleotidden oluşan bir **antikodon** bulunur. Bir antikodondaki bazlar, protein sentezi için kalıp görevi gören mRNA'nın üzerinde bulunan, tRNA ile taşınan amino aside uyan **kodondaki** bazların tamamlayıcısıdır:



The Wobble Rules of Codon–Anticodon Pairing	
5' Base of Anticodon	3' Base of Codon
C	G
A	U
U	A or G
G	C or U
I	U, C, or A

Proteinlerin yapısına sentez sırasında giren standart amino asit türü 20 olduğundan her hücrede en az 20 tRNA türü bulunur.

### rRNA (Ribozomal RNA)

rRNA, ribozomların yapısındaki RNA'dır; Svedberg ünitesi (S) olarak belli sedimantasyon katsayılarına sahip olan çeşitli rRNA'lar kombine olarak ribozomları oluştururlar:

