

NÜKLEİK ASİTLER (DNA ve RNA)

-Nükleik asitler, kalıtım materyali olan genleri oluşturan ve yaşam için oldukça önemli olan en büyük organik maddelerdir.

-İlk defa T. Friedrich Miescher 1869 yılında cerahatta (irinde) ve som balığı hücrelerinin çekirdeğinde görüldüğü için bu moleküllere çekirdek asidi anlamında nükleik asit adını vermiştir. Daha sonra yapılan araştırmalarda, çekirdek olsun olmasın tüm canlı hücrelerde bulundukları belirlenmiştir.

-Nükleik asitler, hücre çekirdeğindeki genlerden hücrenin diğer kısımlarına bilgi aktaran mesaj molekülleridir, hücrenin yapısal özelliklerini ve yaşamsal fonksiyonlarını düzenler.

-Canlılarda enerji üretimi, protein sentezi, hücre bölünmesi gibi yaşamsal olaylar nükleik asitlerdeki bilgilerle kontrol edilir. Bu özelliklerinden dolayı nükleik asitlere **yönetici moleküller** de denir.

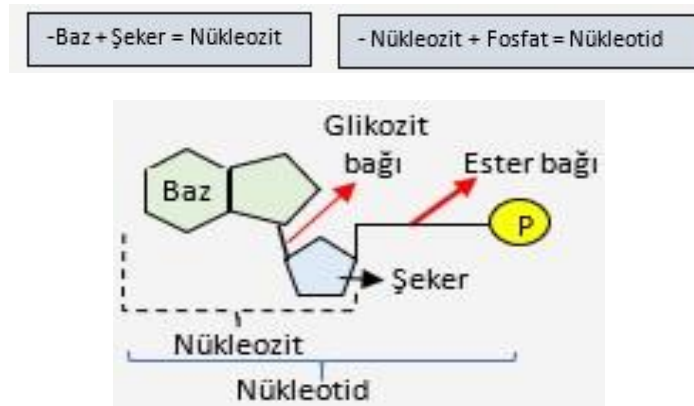
-Nükleik asitler, **nükleotid** adı verilen yapı birimlerinden meydana gelir.

-Bir nükleotidin yapısında ;

1. Azotlu organik bir baz,
2. Beş karbonlu bir şeker,
3. Fosfat grubu (fosforik asit= H_3PO_4) bulunur.

-Baz ve şekerin glikozit bağı ile bağlanarak oluşturduğu yapıya **nükleozit** denir.

-Nükleozite bir fosfat, fosfodiester bağı ile bağlanarak nükleotid oluşur.



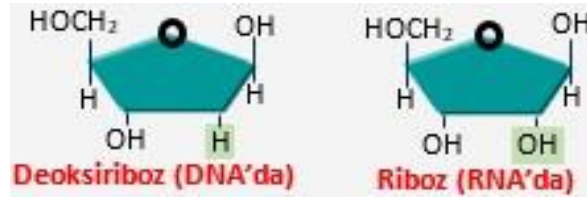
Şekil: nükleik asitlerin yapı birimi olan bir nükleotidin yapısını oluşturan moleküller ve bağlar gösterilmiştir.

1. Beş karbonlu şekerler:

-Riboz ve deoksiriboz olmak üzere iki çeşittir.

-Riboz, RNA'nın, Deoksiriboz ise DNA'nın yapısında bulunur.

- Deoksiribozda, ribozaya göre bir oksijen atomu eksiktir.
- Nükleik asitlerin isimlendirilmesi yapılarındaki 5 C'lu bu şekerlere (pentozlara) göre yapılır.



2. Azotlu organik bazlar: -Azot ve karbon atomlarının halka şeklinde birleşmesi ile meydana gelir. İki çeşittir.

- Pürinler: Çift halkalı, büyük moleküllerdir. Adenin (A) ve Guanin (G) olmak üzere iki çeşittir.
- Pirimidinler: Tek halkalı olup, küçük moleküllerdir. Timin (T), Sitozin (S veya C) ve Urasil (U) olmak üzere üç çeşittir.

-DNA'daki bazlar: A,T,G,C; RNA'daki bazlar: A,U,G,C. DNA'ya özgü baz Timin, RNA'ya özgü baz ise Urasil'dir.

3. Fosforik asit (fosfat grubu= H_3PO_4): DNA ve RNA'da ortak bulunan inorganiktir. Kompleks moleküllerin yapısına girdiği zaman fosfat grubu adını alır.

-Canlılarda; DNA (Deoksiribo Nükleik Asit) ve RNA (Ribonükleik Asit) olmak üzere iki çeşit nükleik asit bulunur.

DNA (Deoksiribo Nükleik Asit)

-DNA, prokaryot hücrelerin sitoplazmasında, ökaryot hücrelerin çekirdek, mitokondri ve kloroplastlarında bulunur.

-Ökaryot hücrelerin sitoplazmasında DNA bulunmaz. RNA sentezi de gerçekleşmez.

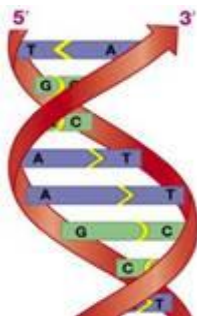
-Prokaryot hücrelerin sitoplazmasında DNA bulunur ve RNA sentezi de gerçekleştirilir.

-Günümüzde geçerli olan DNA modeli Watson-Crick modelidir.

-DNA molekülü sarmal (heliks) şeklinde kıvrılmış iki iplikten oluşmuştur.

-Yangın merdivenine benzeyen bu sarmal yapıda, merdivenin kenarında şeker ve fosfat molekülleri, basamaklarda ise pürin ve pirimidin bazları bulunur.

-Bazlardan Adenin ile Timin arasında ikili, Guanin ile Sitozin arasında üçlü zayıf hidrojen bağları bulunur.



-Bu zayıf hidrojen bağları DNA çift sarmalını bir arada tutar.

-Her zaman A karşısına T, G karşısına C gelir.

- DNA'da nükleotitlerden birinin fosfatı diğerinin şekeri ile özel bir bağ yapar. Bu bağa **3-5 fosfo-diester bağı** denir.

-Bir zincirdeki nükleotitler, fosfodiester bağları ile birbirine bağlıdır.

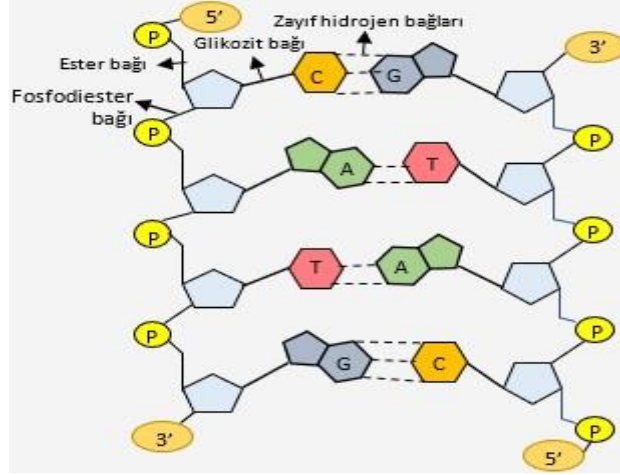
- Çift sarmalda bir iplikteki nükleotitlerin birbirine bağlanma yönü, öbür ipliktekilerin yönünün tersidir. DNA ipliklerinin bu düzeni **antiparalel**

**Şekil: DNA molekülünün
ikili sarmal yapısı**

olup, biri ana iplik diğeri de tamamlayıcıdır.

-DNA ipliklerin asimetrik olan uçları 5' (beş üssü) ve 3' (üç üssü) olarak adlandırılır, 5' uç bir fosfat grubu, 3' uç ise bir hidroksil grubu taşır.

- DNA sentezinde DNA polimeraz enzimi, yıkımında ise DNAaz enzimi görev yapar.
- DNA molekülü hücre bölünmelerinden önce (interfaz evresinde) kendisini eşleyebilir.



Şekil: DNA molekülünde karşılıklı iki zincirdeki bazların eşleşmesi

RNA (Ribonükleik Asit)

- Prokaryot hücrelerde sitoplazma ve ribozomda, ökaryot hücrelerde ise çekirdek, sitoplazma, ribozom, kloroplast, mitokondri gibi yapılarda bulunur.
- Tek nükleotid dizisinden oluşmuştur.
- Yapısındaki 5 C'lu şeker riboz'dur.
- Organik bazları adenin, guanin, sitozin ve urasildir. Timin bulunmaz.
- Protein sentezinde görev alır.
- Tek nükleotit zincirinden oluştuğu için kendini eşleyemez.
- Nükleotidler fosfodiester bağları ile bağlanarak nükleotid zinciri oluşur.
- A- T, G-C eşitliği de yoktur.
- Bütün RNA çeşitleri DNA'da bulunan şifreye göre sentezlenir.
- Sentezlenmesini sağlayan enzim RNA polimeraz, hidrolizini sağlayan enzim ribonükleaz (RNAaz) dır.
- Bütün RNA çeşitleri protein sentezinde görev alarak hücredeki yaşamsal olayların yönetiminde DNA'ya yardımcı olur.

-Mesajcı RNA (mRNA), Taşıyıcı RNA (tRNA), Ribozomal RNA (rRNA) olmak üzere üç çeşit RNA vardır.

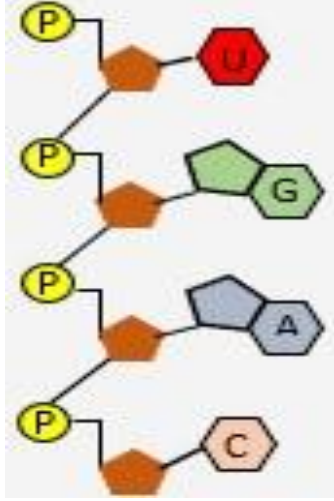
-Mesajcı RNA (mRNA): Sentezlenecek proteinin amino asit dizisini belirleyen bilgiyi DNA'dan alır ve ribozomlara taşır. Hücrede en az olandır. Toplam RNA'nın %5'ini oluşturur.

-Ribozomal RNA (rRNA): Proteinlerle birlikte ribozom organelinin yapısını oluşturur. Protein sentezi sırasında peptid bağlarının kurulmasında görev alır. En fazla olandır. Hücrede bulunan toplam RNA'nın %80'ini oluşturur.

- RNA çeşitlerinden tRNA ve rRNA kendi üzerinde katlandığı için hidrojen bağı içerir ancak mRNA hidrojen bağı içermez.

-Taşıyıcı RNA (tRNA): Protein sentezi sırasında kullanılacak aminoasitleri ribozomlara taşır. Hücredeki toplam RNA'nın %15'ini oluşturur.

-RNA'nın her hücredeki miktarı farklılık gösterir. Örneğin kas hücreleri gibi protein sentezinin yoğun olduğu hücrelerde fazla miktardadır.



Şekil: RNA zinciri

RNA çeşitlerinin ortak özellikleri:

- Protein sentezinde görev yaparlar.
- Kendilerini eşleyemezler, DNA tarafından üretilirler.
- Tekrar tekrar kullanılabilirler.
- Yapılarında organik yapıda olan adenin, urasil, guanin sitozin bazları ile riboz şekeri, inorganik yapıda olan fosfat (fosforik asit) bulunur.

DNA ve RNA'nın Ortak Yönleri

- C, H, O, N ve P elementleri içermesi
- Polinükleotit yapılı olmaları
- Adenin, guanin, sitozin bazlarının bulunması
- Beş karbonlu şekerin (pentoz) bulunması
- Yapılarında inorganik fosfat grubu bulunması
- Genetik bilgiyi taşıması (DNA-mRNA için)
- Ökaryot hücrelerde çekirdek, çekirdekçik, mitokondri ve kloroplastlarda; prokaryot hücrelerde ise sitoplazmada bulunması
- Protein sentezinde görev yapmaları
- Tüm canlılarda bulunması

DNA ve RNA'nın Farklı Yönleri

DNA	RNA
Timin bazı DNA'ya özgüdür.	Urasil bazı RNA'ya özgüdür.
Yapısında deoksiriboz şekeri vardır.	Yapısında riboz şekeri vardır.
Çift ipliklidir.	Tek ipliklidir.
DNA çift zincirinde; Adenin = Timin; Guanin = Sitozin	Böyle bir eşitlik yok
Kendini eşleyebilir ve onarabilir.	Kendini eşleyemez ve onaramaz.
Yıkılıp yeniden yapılamaz.	Yıkılıp yeniden yapılabilir.
Ökaryot hücrelerde çekirdek, çekirdekçik, mitokondri ve kloroplastlarda; prokaryot hücrelerde ise sitoplazmada bulunur.	Ökaryot hücrelerde çekirdek, çekirdekçik, sitoplazma, mitokondri, kloroplast ve ribozomlarda; prokaryot

	hücrelerde ise sitoplazma ve ribozomlarda bulunur.
Protein sentezine dolaylı olarak katılır.	Protein sentezine doğrudan katılır.
DNA polimeraz ile sentezlenir	RNA polimeraz ile sentezlenir.
Hidrolizleri DNAaz ile olur.	Hidrolizleri RNAaz ile olur.
Yöneticidir. Emir verir.	DNA'nın emirlerini uygular.
Her türün diploit hücresinde miktarı sabittir.	Hücreden hücreye miktarı değişir.

DNA Replikasyonu: DNA'nın Kendini Eşlemesi Olayı

DNA REPLİKASYONU

Kalıtım materyali olan DNA molekülleri taşıdıkları bilgiyi, her yeni hücre generasyonuna aktarır. Bunun için hücre bölünmesinden önce kendini kopya ederek iki katına çıkması gerekir. Yani her hücre bölünmesinden iki yavru hücre ortaya çıktığına göre, kalıtım materyalinin de ikiye katlanması, DNA molekülünün kendi kopyasını sentezlemesi gerekir. DNA molekülünün kendi kopyasını yaparak miktarını iki katına çıkarmasına **replikasyon** denir. Replikasyonun gerçekleşebilmesi için: 1) Kalıp DNA 2) Deoksiniüksit trifosfat (dNTF) 3) Replikasyon enzimlerine ihtiyaç vardır. Bu bölümde DNA'nın replikasyonunu, bunun için gerekli biyokimyasal reaksiyonlarda görev alan enzimleri ve mekanizmanın genel işleyişini ele alacağız.

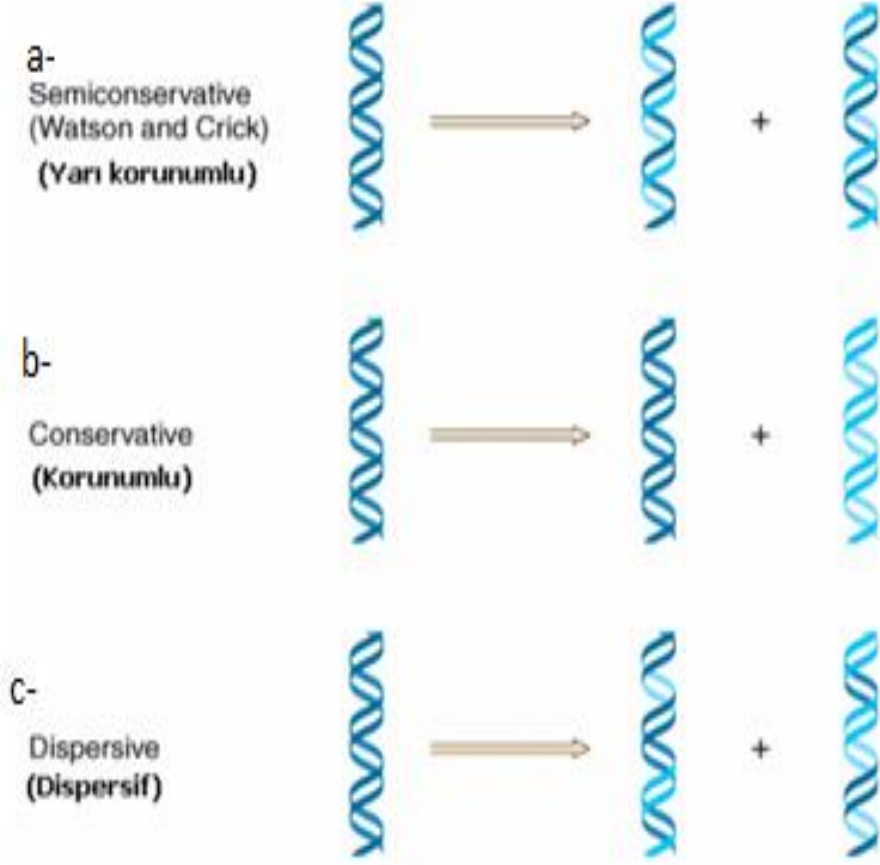
DNA Replikasyon mekanizması hem prokaryotlarda hem de ökaryotlarda temelde aynı olsa da aralarında bazı farklılıklar mevcuttur. DNA replikasyonunda temel reaksiyon çift iplikli sarmal yapıdaki DNA molekülünü ikiye ayırıp her iplikçiği kalıp olarak kullanıp karşısına hücre içerisinde bulunan deoksiniüksit 5' trifosfat (dNTF) moleküllerinin fosfodiester bağlarının bağlanmasıyla tamamlayıcı özellikteki yeni DNA iplikçiklerinin sentezlenmesi olayıdır.

Replikasyon işleminin gerçekleşebilmesi için öncelikle bir başlangıç bölgesine (Promotor Bölgesi) ihtiyaç vardır. Replikasyonun gerçekleştiği bu genom birimine replikon adı verilmektedir. Replikon bölgesinde başlangıç ve bitiş noktaları mevcuttur. Prokaryotlarda DNA replikasyonu için bir replikon bulunurken, ökaryotik canlılarda ise çok sayıda replikon bölgesi bulunmaktadır. Başlangıç noktaları özel nükleotit dizilerinden oluşur. Bu özel bölgeler çok sayıda A ve T bazlarının bir araya gelerek TATA kutusunu oluşturmasıyla meydana gelmektedir. Bu özel nükleotit dizisine bağlanarak replikasyon sentezini başlatan proteinlere başlatıcı proteinler denir. Başlangıç bölgesine yani promotor bölgesine bu başlatıcı proteinin bağlanmasıyla DNA replikasyonunun ilk adımı atılır.

SEMİKONSERVATİF REPLİKASYONU KANITLAYAN DENEMELER

Bahsettiğimiz Watson ve Crick modeliyle ve hemen sonraki çalışmalarla, DNA'nın kendini kopyalayarak yavru hücrelere genetik materyalin eşit şekilde dağılmasını sağlayan replikasyon mekanizmasının çalışma şekline ilişkin üç ayrı teklif ortaya atıldı. Ebeveyn molekül ile yavru molekül arasındaki bu muhtemel ilişki biçimlerini Delbrück ve Stent (1957), Konservatif, Semi-Konservatif ve Dispersif replikasyon olarak ifade etmiştir. Bu modeller Şekil'de gösterilmiştir. Özetlemek gerekirse konservatif replikasyon modelinde ebeveyn çift sarmal olduğu gibi kalmakta yeni bir yavru çift sarmal sentezlenmektedir (Şekil_b). Watson ve Crick (1953) tarafından da önerilen semi konservatif modelde ise, ebeveyn çift sarmal ayrılır ve her eksen kendine yeni bir komplementer eksen sentezler; böylece yavru

moleküllerin her birisi bir eski bir de yeni eksenenden meydana gelmiş olur (Şekil_a). Dispersif modelde ise, yeni yavru sarmallar yine eski ve yeni moleküllerden oluşmakta ancak her iki sarmalda da eski eksenin bir segmentinin karşısında yine eski eksenenden bir komplementer, sonra yeni sentezlenen bir segmentin karşısındaki eksenende yine yeni sentezlenen bir komplementer segment bulunmaktadır (Şekil_c).

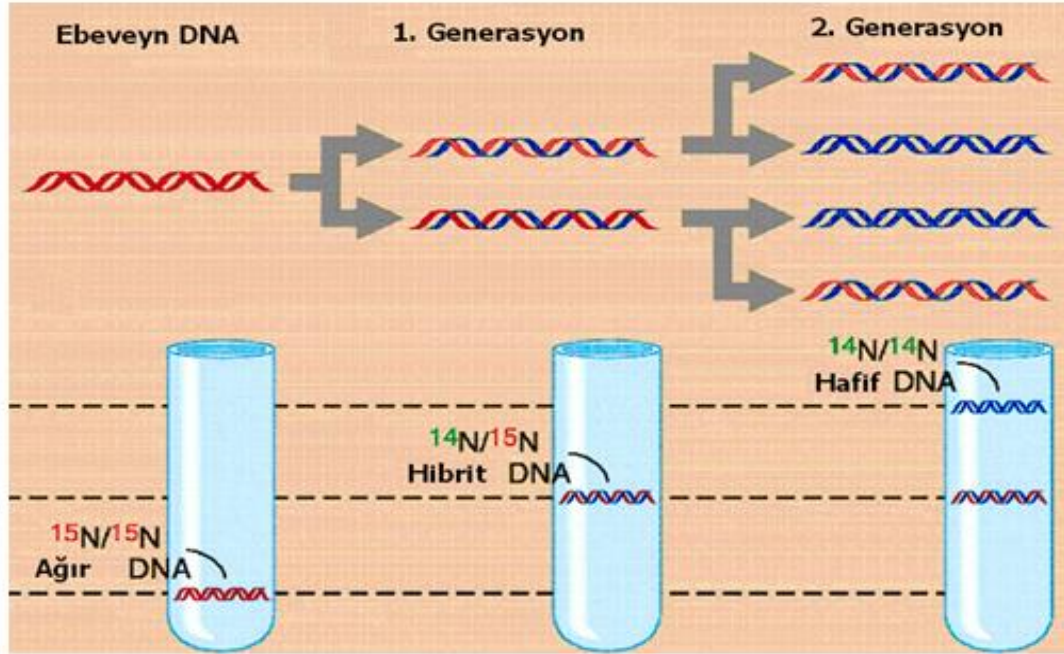


Şekil: Üç Replikasyon Modeli.

Meselson Stahl Denemesi

Meselson ve Stahl (1958), *E. coli*'de yaptıkları deneme sonuçlarına göre, bu üç modelden semi konservatif olanın geçerli model olduğunu buldular. Araştırmacılar önce, *E. coli* hücrelerini, radyo izotop azot (^{15}N) bulunan ortamda yetiştirdiler. Böylece, radyoizotop azot, organik bazlarda, oradan da yeni sentezlenen DNA eksenlerinde yer aldı ve birçok generasyondan sonra hücrelerdeki DNA, ^{15}N ile etiketlenmiş oldu. Daha sonra bu *E. coli* hücreleri ^{15}N ortamından çıkarılarak, ^{14}N ortamına konuldu. Birkaç hücre bölünmesine yetecek kadar süre geçtikten sonra alınan örneklerden DNA izole edildi. Araştırmacılar farklı yoğunluktaki DNA'ları, cesium gradient centrifugation denilen bir usulle birbirinden ayırdılar. Cesium chloride (CsCl) birçok saat boyunca dakikada 50 bin devir hızla çevrilirse cesium ve chloride iyonları tüpün dibine doğru itilirler. Sonuçta tüpün içinde iyonlar, en ağırlar dipte en hafifler yukarıda olacak şekilde yoğunluklarına uygun şekilde bantlar oluşturur. Cesium chloride ile santrifüje edilen DNA, bu yığın içinde ağırlığına en uygun yerde bir bant oluşturur (Şekil). İzotop ^{15}N 'de büyüyen hücreler yüksek yoğunluklu DNA'ya sahip olurlar. Bu DNA

şekil'de sol tarafta tüpün dibinde görülmektedir. Araştırmacılar bu hücreleri normal ^{14}N ortamında bir generasyon yetiştirip sonra santrifüje ettiklerinde şekil'in ortasındaki gibi tüpün ortasında bir bant oluştuğunu gördüler. Çünkü DNA'nın yeni kopya olan yarısı ^{14}N etiketliydi. İkinci generasyon sonuçları da, semi konservatif replikasyonu destekler şekilde şeklin sağ başındaki gibi, bir ortada bir de en yukarıda iki DNA bandı şeklindeydi. Kırmızı (^{15}N) ve mavi (^{14}N) renkler, DNA eksenlerinin yoğunluğunu da ifade etmektedir.



Şekil: Semi konservatif DNA Replikasyonu (Meselson Stahl 1958 Deneyi).

Konservatif model doğru olsaydı ilk generasyonda da ikinci generasyonda da bir yukarıda bir de altta iki bant oluşacaktı. Dispersif modele göre ise, her iki generasyonda da ortada bir bant oluşacaktı. Meselson ve Stahl'ın deneme sonuçları, bu modelleri değil, kesinlikle semi konservatif modele göre olması beklenen sonuçları destekliyordu; ilk generasyonda ortada bir bant, ikinci generasyonda ise, Watson ve Crick tarafından öngörülen semi konservatif modele göre olması beklendiği gibi, hem orta hem de düşük yoğunlukta iki bant gözlemlendi. Bu deneme sonucuna göre, DNA replikasyonu, ikili sarmalın iki ekseninin birbirinden ayrılması ve her eksenin kendisine yeni bir tamamlayıcı eksen yapması şeklinde cereyan eder ve yavru DNA'lar biri eski biri yeni iki eksenenden oluşur. Bu replikasyona **semi konservatif replikasyon** denilir.

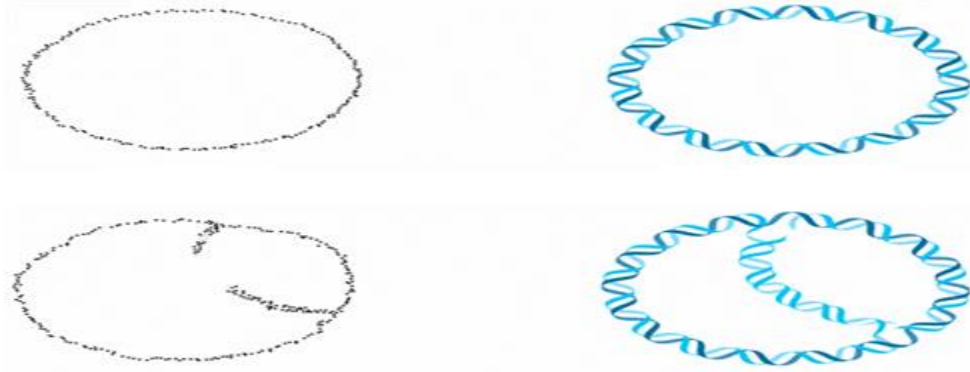
- Replikasyon Çatalı

Watson ve Crick modelinin DNA replikasyonu ile ilgili diğer bir tahmini, DNA molekülünde replikasyon esnasında bir replikasyon fermuarı, ya da çatalı olması gerektiği yönündeydi. Bu çatal, DNA'nın kopyalama için her biri bir kalıp olacak olan iki ekseninin birbirinden ayrıldığı, sarmalın açıldığı yerdir.

1963'te John Cairns bu tahmini, bakteri hücrelerindeki DNA'yı ^3H hidrojenli timinle (Radyoizotop hidrojenle etiketlenmiş timin nükleotidine trityum denilir.) etiketleyerek test etti. Beklentiye göre, yeni sentezlenmiş her yavru molekül, bir radyoaktif (sıcak) eksen, bir de

radioaktif olmayan (soğuk) eksenden oluşmalıdır. Sıcak ortamda değişik aralıklarda ve dolayısıyla değişik sayıda replikasyondan sonra Cairns bakterileri çözdü ve hücre muhtevasını mikroskop altına koyduğu bir filtre kâğıdı üzerine yaydı. Araştırmacı bu filtreyi fotoğraf şerbetiyle kapladı ve 2 ay karanlık odada muhafaza etti. Otoradyografi denilen bu uygulamada ^3H çürürken beta partikülleri yaymaktadır. Bu partiküller fotoğraf şerbetinde siyah noktalar şeklinde kimyasal bir iz bırakır ve böylece şerbet bir fotoğraf çıktısı gibi olur.

Sıcak ortamdaki bir replikasyon periyodundan sonra otoradyografya bu noktalardan bir yüzük oluştu. Cairns bunun, çember şeklindeki yavru DNA molekülünün yeni oluşmuş radioaktif ekseni olduğunu düşündü (Şekil_a). Çalışmanın bir sonucu, bakteri kromozomunun çember şeklinde olduğunun fiziki olarak da gösterilmiş olmasıydı. İkinci replikasyon periyodunda, modelin öngördüğü çatal gerçekten görüldü; çatalın üç eksenindeki tanelerin yoğunluğu, Şekil_b'de görüldüğü gibi yorumlanabilirdi: DNA çemberinin ortasında bulunan kalın eğri, bu defa iki radioaktif eksenden oluşan yeni sentezlenen yavru eksen olmalıydı. Cairns bu orak (hilal) şekilli otoradyografik hallerin, replikasyon çatalının yüzük boyunca ilerleyen hareketlerine karşılık gelen bütün genişliklerini gördü. Şekil b'de görülen tipteki yapılara teta (θ) yapısı denir (Griffith ve ark 2008).



a) Bakteri Kromozomunun

b) Bakteri kromozomunun şematik gösterimi

Otoradyografik Görünümü

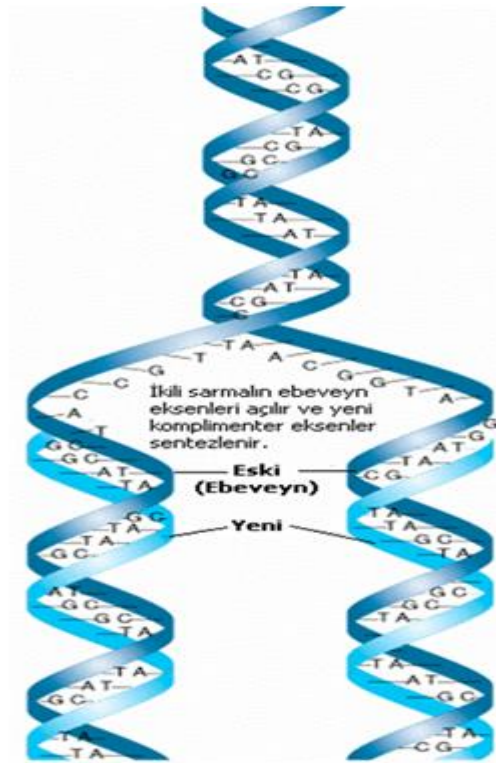
Şekil: *E. coli*'de replikasyon çatalı (solda otoradyografik görüntü, sağda şematik gösterim).

SEMİ KONSERVATİF REPLİKASYON

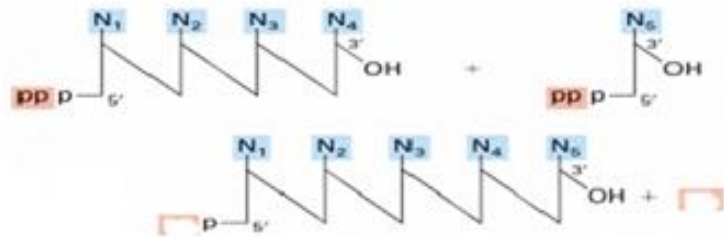
Semi konservatif replikasyon şematize olarak izleyen şekil'de gösterilmiştir. Şekilde şeker-fosfat omurgası kalın şeritler şeklinde olup bunlar arasındaki baz çiftleri rastgele yazılmıştır. İkili sarmalı, şekildeki gibi, bir ucundan açılmanın başladığı bir fermuar analoğu gibi düşünebiliriz. Buna göre, iki eksenin ayrılmasıyla her eksende tek bazlar ortaya çıkacaktır. Tek kalan her baz, ortamdaki serbest nükleotidlerle eşleşme potansiyeline sahiptir. Ancak DNA yapısı, katı eşleşme ilkelerine sahip olduğu için, her ayrılmış baz sadece kendi **komplementer bazıyla** (A ile T ve G ile C) eşleşebilir. Böylece birbirinden ayrılmış iki eksenden her biri, orijinaliyle özdeş olan yeni bir ikili sarmal oluşturmak üzere, komplementer bazların montajını yöneten bir şablon-eksen olarak hareket eder. Yeni eklenen nükleotidlerin hücre ortamında mevcut olan serbest nükleotidler havuzundan geldiği varsayılır.

Semi konservatif replikasyon anlaşıldıktan sonra, araştırmalar serbest nükleotidlerin açılan ikili sarmal kalıba nasıl getirildiği ve sarmalın eksenlerinin yeni sentezlenecek eksenlere kalıp olacak şekilde nasıl ayrıldığı sorularını cevaplamaya yönelmiştir (Griffith ve ark 2008):

Araştırmacılar, enzimlerin bu fonksiyonların gerçekleşmesinde rol oynadığını düşünüyorlardı ama Kornberg'in 1959'da yaptığı çalışmaya kadar enzimlerin nükleotid taşıma rolü ispat edilemedi. Araştırmacı, bu çalışmada, DNA - polimeraz isimli enzimi *E. coli*'den izole etti ve onun nükleotid taşıma eylemini in vitro gösterdi. İlgili enzim, deoksiribonükleotidleri, DNA'nın ikili sarmalının açılmasıyla serbest kalmış olan tek bir eksenini kalıp olarak kullanarak, büyümekte olan bir nükleotid zincirinin 3' ucuna ekler (Şekil). DNA-polimeraz için materyal deoksiribonükleotidlerin trifosfat formlarıdır: dATP, dGTP, dCTP, dTTP.



Şekil: Semikonservatif DNA Replikasyonu. Ebeveyn eksenler (koyu mavi), yeni sentezlenen eksenlerin (Açık mavi) polimerizasyonu için kalıp vazifesi görür. Yeni sentezlenen eksenlerin baz dizilişleri, kalıp eksenlere komplementer olacak şekildedir.



Şekil: Nükleotidlerin polipeptid bağlarıyla birbirine bağlanması.

Bugün *E. coli*'de beş çeşit polimeraz enzimi olduğu bilinmektedir. Kornberg'in bulduğu ilk enzim polimeraz-I veya kısaca, Pol-I olarak isimlendirilmiştir. Bazı bilim insanları, pol I enziminin DNA sentezi için gerekenden çok yavaş hareket ettiğini (yaklaşık 20 nükleotid/saniye) ve oldukça fazla olduğunu (400 molekül/hücre) ve 20-50 nükleotidi

birleştirdikten sonra DNA'dan uzaklaştığından kuşkulandıkları için, replikasyon çatalında sentezleme işini başka bir enzimin yaptığını düşünmekteydiler. Nitekim 1969 yılında John Cairns ve Paula De Lucia, bir *E. coli* hattında pol I enzimi kodlayan gende bir mutasyona rağmen, hücrelerin hala normal çoğaldığını ve dolayısıyla DNA replikasyonunun devam ettiğini gösterdiklerinde olay netleşti. Daha sonra yapılan çalışmalar gösterdi ki, replikasyon çatalındaki sentezi, Pol III denilen başka bir DNA polimeraz katalizleme gerçekleştiriyordu.

E. coli'de yapılan çalışmalar DNA replikasyonunun çok hızlı ve hatasız gerçekleştiğini göstermekteydi. Replikasyon çatalında her iki yöne doğru devam eden sentezleme işi 40 dakika gibi bir sürede tamamlanıyor, ama hatasız bir kopyalama oluyordu. Toplam 5 milyon kadar nükleotid demek ki, her bir yönde 1000 nükleotid/saniye ile 2000 nükleotid/saniye arasında değişen bir hızla sentezleniyordu. Ne hızdan ne de mükemmellikten taviz verilmiyordu. Hücre içinde bu kadar düzgün bir işleyiş bu kadar hızlı bir şekilde nasıl gerçekleşmektedir? Aslında DNA polimeraz, büyük bir hücrenin, bir "nükleoprotein" kompleksinin parçasıdır. Griffith ve arkadaşları (2008), bu komplekse **replizom** adını veriyor. Hücrede, replikasyon, transkripsiyon ve translasyon gibi, enzimlerle katalize edilen her biyokimyasal sentez için böyle bir makineden bahsetmek mümkündür.

E. coli'de sonraki çalışmalar replizomun işleyişiyle ikili sarmalın bir fermuar gibi nasıl açıldığını, iki eksende birden ve iki yöne doğru replikasyonun nasıl gerçekleştiğini, bütün bu süreçte görev alan enzimleri ayrıntılı bir biçimde bir model olarak sundu. Bu modeli şöyle özetlemek mümkündür:

Replikasyonda İş Gören Temel Yapılar:

- DNA Helikaz enzimi: ATP kullanılarak DNA üzerindeki hidrojen bağlarını kırıp DNA sarmalının açılmasını sağlayan enzimdir.
- Tek Zincir (SSB) Proteinleri: Helikaz enzimi tarafından açılan replikasyon çatalının sürekliliğini sağlamak amacıyla tek zincire bağlanan proteinlerdir. Bu proteinler sayesinde helikaz enzimi tarafından açılan DNA zincirleri tekrar bir araya gelip hidrojen bağlarıyla bağlanamazlar ve yeni yapılacak kalıp zincire komplementer zincir rahatlıkla yapılabilmektedir.
- Primaz: DNA sentezinin başlatılabilmesi için 5-10 nükleotidlik RNA primerine ihtiyaç duyulur. Bu RNA primerini (RNA öncül molekülü) sentezleyen enzimdir.
- DNA Polimerazlar: Kalıp zincire komplementer gelen yeni zinciri sentezleyen enzimdir.
- DNA ligaz: Mutasyonlar ve replikasyon dahil olmak üzere tüm ayrılmış DNA ipliklerini fosfodiester bağlarıyla bağlayan enzimdir.
- DNA Topoizomerazlar: DNA sarmalını veya süper sarmal yapısını kontrol eden enzimdir. Replikasyon çatalında ortaya çıkan süper sarmal yapıların çözülmesinde görevli enzimdir.

Topoizomerazlar II tiptir. Bunlardan topoizomeraz I DNA'nın tek ipliğini kırmakla görevli iken topoizomeraz II ise DNA'nın iki ipliğini de aynı anda kırarak süper sarmal yapının kolayca çözülmesini sağlar.

Prokaryotik DNA Polimerazlar

DNA Polimeraz I) DNA polimeraz I enziminin 3 esas görevi vardır.

1) Ekzonükleaz aktivitesi 3'--->5' yönünde replikasyonda yanlış eklenen nükleotidleri koparıp uzaklaştırmak.

2) Ekzonükleaz aktivitesi 5'--->3' yönündeki işlevi RNA primerini koparıp uzaklaştırmak.

3) Uzaklaştırılan DNA primeri yerine DNA sentezlemek.

DNA Polimeraz II) DNA onarımında görev almaktadır. 5'→3' yönünde Polimeraz aktivitesi 3'→5' yönünde ekzonükleaz aktivitesine sahip polipeptittir.

DNA Polimeraz III) DNA replikasyonunu yürüten esas enzimdir.

DNA Polimeraz IV ve V) Polimeraz II enzimi ile DNA'nın onarımından sorumludur.

Replikasyonun Başlatılması: *E. coli* replikasyonu, *oriC* denilen sabit bir yerden başlar ve hücrenin hayatı esnasında sadece belirli zamanlarda gerçekleşir. Çatal iki yöne doğru açılırken replikasyonda iki yöne doğru çatallar birleşinceye kadar devam eder (Şekil).

Replizom denilen bu aygıtın işe başlaması için ilk adım, *oriC*'de, DnaA denilen bir proteinin 13 bç (baz çifti)'den oluşan ve "*DnaA kutusu*" denilen spesifik bir diziye bağlanmasıdır. Bu işlem *oriC*'de beş defa tekrarlanır. DnaA'nın bağlanmasıyla, orijinde A ve T nükleotidlerince zengin bir bölgede iki zincirin ayrılması başlar. Bu noktada A-T baz çiftlerinin arasında sadece iki hidrojen bağı olduğunu, hâlbuki G-C baz çiftleri arasında üç hidrojen bulunduğunu hatırlamak gerekir. Bu mantıkla ikili sarmalın, DNA'nın A ve T bazlarınca zengin yerlerinden ayrılması daha kolaydır.

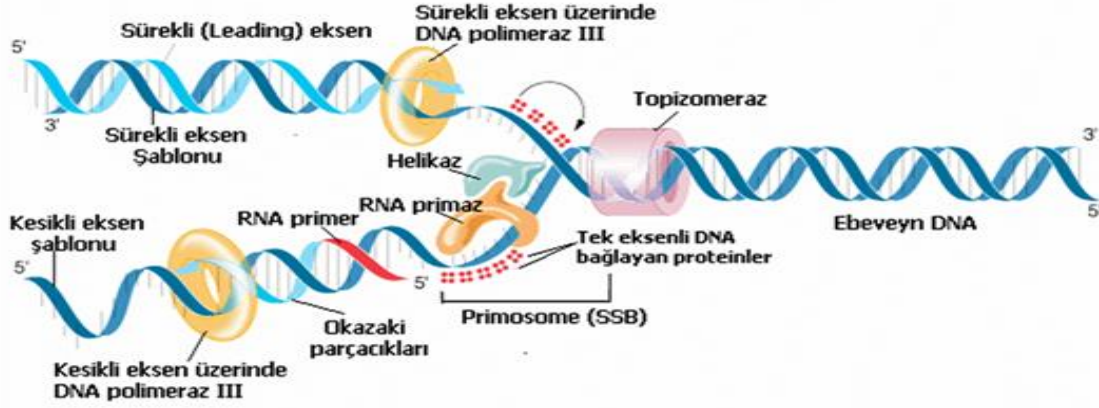
Açılma başladıktan sonra, ilave DnaA proteinleri yeni açılmış tek zincirli bölgelere bağlanır. DnaA'ların orijini kaplamasından sonra, iki helikaz enzimi (DnaB proteini), replikasyon çatalında, iki yöne doğru da sarmalı açmaya başlamak üzere 5'→3' istikametinde kayar. Bundan sonra da, primaz ve DNA pol III holoenzim, protein – protein interaksiyonlarıyla, replikasyon çatalına eklenir ve DNA sentezi başlar. DnaA, replikasyonun başlaması için gerekli olmakla birlikte, replizom denilen replikasyonun elemanı sayılmaz. Onların görevi, replikasyonun başlatılması için replizomu, çember şeklindeki kromozomda doğru yere getirmektir.

DNA'nın ikili sarmalı nasıl bu kadar hızlı açılmakta ve açılan yerlerde tek zincirli DNA kendi üzerine kıvrılmamaktadır? Günümüzde bilinmektedir ki, replizom, sarmalı açan ve kıvrılmasını engelleyen iki protein sınıfına sahiptir: sırasıyla helikazlar ve topoizomerazlar. Helikazlar, ikili sarmalın iki zincirini bir arada tutan hidrojen bağlarını kıran enzimlerdir. Helikaz DNA tek zincirini, bir kelepçe gibi sarar; bu pozisyondan başlayarak DNA sentezi yönünde ikili sarmalı süratle çözer. Çözülmüş DNA, tek zincir DNA'ya bağlanan ve yeniden sarmal oluşmasını engelleyen tek-zincir tutucu (SSB) proteinler tarafından sabit tutulur.

Çember şeklinde DNA, lastik bir bantta olabilen ekstra katlanmalar gibi, ikiye katlanabilir ve sarılabilir. Replikasyon çatalının helikaz tarafından açılması, diğer bölgelerde ekstra katlanmalara sebep olur ve ekstra katlanmış zinciri serbest bırakmak için süper sargı denilen sargılar oluşur. Replikasyonun devamını sağlamak için, bu katlanmalar ve süper sargılar atılmalıdır. Bu süper sargılar, örneğin DNA giraz gibi topoizomer denilen enzimler tarafından oluşturulup gevşetilebilir. Topoizomerler, süper sarılmış DNA'yı, ya tek DNA zincirini veya her ikisini keserek, uzaklaştırır, böylece DNA'nın rahatça açılabilen gevşek bir moleküle dönüşmesini sağlar, sonra da gevşemiş DNA zincirlerini kesik uçlarından birleştirir.

DNA pol III ilerlerken, ikili sarmal, kalıp olarak rol oynayacak tek zincirin yeni bir uzunlukta kopyalanmasını sağlamak üzere enzimin önünde sürekli açılır (Şekil). DNA pol III, ikili sarmalın açılma alanı olan replikasyon çatalında çalışır. Ancak, DNA polimeraz, nükleotidleri daima büyüyen 3' ucuna eklediği için, sadece antiparalel iki zincirden birisi,

replikasyon çatalı yönünde kalıp olarak iş görür. Bu zincir için, sentez replikasyon çatalının açılma yönünde düz bir süreklilik şeklinde devam eder; bu zincirin kalıp olduğu yeni sentezlenen zincirede rehberlik etmekte ve sürekli-ilerleyen (rehber) zincir denir.



Şekil: Replizom işleyişi ve elemanları.

Diğer kalıptaki sentez de 3' büyüyen ucunda devam eder, fakat bu sentez ters istikamettir, çünkü bu zincir için 5'→3' sentez istikameti, replikasyon çatalına doğru değil çataldan uzağa doğrudur (Şekil). Replikasyon mekanizmasının yapısı gereği, her iki zincirdeki sentezin replikasyon çatalı bölgesinde oluşmasını gerektirir. Bu sebepten açılan çataldan uzağa doğru sentez uzun süre devam edemez. Kısa segmentler halinde olmalıdır: polimeraz bir segmenti sentezler, sonra segmentin, çatalın yeni kalıbı serbest bıraktığı 5' ucuna geri döner ve işlem tekrar başlar. Yeni sentezlenen bu kısa DNA kırık çizgilerine (1000–2000 nükleotid) Okazaki fragmentleri=parçacıkları adı verilir.

DNA replikasyonunda diğer bir problem, DNA polimeraz enziminin bir zinciri uzatabilir fakat başlatamaz olmasından dolayı ortaya çıkar. Bu sebepten, hem rehber zincirin hem de her bir Okazaki parçacığının sentezi, iki zincirli bir nükleik asit teşkil etmek üzere kalıp zincire bağlanan bir primer denilen kısa bir nükleotid zinciriyle başlatılmalıdır. DNA replikasyonunda rol alan primer şekil'de görülebilir. Primerler, merkez elemanı primaz (bir çeşit RNA polimeraz) isimli enzim olan ve "primozom" denilen bir protein seti tarafından sentezlenir. Primaz, kromozomun belirli bir bölgesine komplementer olan kısa (8–12 nükleotid) bir RNA parçacığı, yani primer sentezler. Rehber zincirde sadece bir başlangıç primeri gereklidir çünkü başlangıçtan sonra sürekli büyüyen DNA zincirine sonraki ilaveler için bu ilk ve tek primer yeterlidir. Fakat diğer zincirde, her Okazaki parçacığının kendi primerine ihtiyacı vardır. Primeri oluşturan RNA zinciri sonra DNA pol III enzimi tarafından bir DNA zinciri olarak uzatılır.

Diğer bir DNA polimeraz, pol I, RNA primeri uzaklaştırır ve ortaya çıkan boşlukları DNA ile doldurur. Daha önce bahsedildiği gibi, pol I, özgün olarak Kornberg tarafından damıtılan ilk polimeraz enzimidir. Diğer bir enzim DNA ligaz, boşluğu dolduran DNA'nın 3' ucunu, ilerleme yönündeki Okazaki parçacığının 5' ucuna bağlar. Böylece oluşan yeni zincirine geciken (kesikli) zincir denilir. DNA ligaz kırık DNA parçalarını, bir parçacığın 5' fosfat ucu ve diğer parçacığın 3' OH grubu arasında bir fosfodiester bağının oluşumunu katalize ederek birleştirir.

DNA replikasyonunun ayırt edici özelliği, güvenilirliği, yanlışlığın yok denecek kadar az olmasıdır; ortalama olarak 10^{10} nükleotidde birden daha az hatalı giriş olur. Bunun sebebi, gerek pol I ve gerekse pol III enzimlerinin, $3' \rightarrow 5'$ eksonükleaz aktivitesi yüklenmiş olmalarıdır. Bu enzim aktivitesi, yanlışlıkla eklenmiş yanlış bazları kesip atarak bir çeşit "hata düzeltme=proof reading" görevi yapar. $3' \rightarrow 5'$ eksonükleaz fonksiyonu eksik olan hatlar daha yüksek mutasyon oranlarına sahiptir. İlaveten, primaz hata düzeltme fonksiyonuna sahip olmadığı için RNA primer, DNA'ya nazaran daha fazla hata ihtiva eder. Replikasyonun yüksek güvenilirliğini korumak için, Okazaki fragmentlerinin sonundaki RNA primerleri atılmalı ve yerine DNA ikame edilmelidir. Bu atma ve ikame işlemleri, biraz önce belirtildiği gibi, DNA pol I tarafından gerçekleştirilir. DNA pol I, Okazaki fragmentinin $3'$ ucuna bağlanır ve DNA sentezini, sonraki Okazaki fragmentinin RNA primerini değiştirmek üzere katalize eder. Sentezden önce, RNA primer, pol I'in $5' \rightarrow 3'$ eksonükleaz aktivitesiyle düşürülür (Şekil).

Özet olarak, DNA replikasyonu, ikili sarmalın açıldığı ve iki zincirin ayrıldığı replikasyon çatalında meydana gelir. DNA replikasyonu, rehber=sürekli=ilerleyen zincirde replikasyon çatalının açıldığı istikamette gerçekleşir. Geciken (kesikli) zincirde ise, DNA, replikasyon çatalından uzağa doğru Okazaki parçacıkları denilen kısa parçalar halinde sentezlenir. DNA polimeraz, sentezi başlatmak için, zaten ortamda bulunan ve primer denilen kısa bir RNA nükleotid zincirine ihtiyaç duyar.

ÖKARYOTİK ORGANİZMALARDA REPLİKASYON

DNA replikasyonu ökaryotlarda da prokaryotlardaki gibi, semi konservatif mekanizmayla gerçekleşir ve rehber zincir - geciken zincir sistemi kullanılır. Bu sebeple, prokaryotlarla ökaryotların replizom unsurlarının çok benzer olması sürpriz olmamalıdır. Ancak, organizma kompleksleştikçe, replizom unsurlarının sayısı da artar.

- Ökaryotik Replisom (Replizom)

E. coli replizomunda 13, maya ve insanda hiç olmazsa 27 unsur olduğu bilinmektedir. Ökaryotik replizomun bu fazla unsurları için bir sebep, ökaryotik şablonun daha yüksek karmaşıklığıdır. Bakteri kromozomunun çıplak DNA olmasının aksine, ökaryotik kromozomlar, çekirdekte kromatin olarak paketlenmiştir. Kromatinlerin ana ünitesi, histon proteinleri etrafında sarılı DNA'dan ibaret olan nükleozomdur. Bu sebeple replizom, sadece ebeveyn eksenleri kopya etmek değil aynı zamanda nükleozomun ebeveyn eksenlerini histon proteininden ayırmak ve yavru molekülde bunları tekrar bağlamak durumundadır. Bu düzenleme, eski histonları (mevcut nükleozomlarda) yavru moleküle rastgele dağıtarak ve yeni histonları kromatin birleştirme faktörü - 1 (CAF-1) denilen bir proteinle birlikte replizoma taşıyarak yapılır. CAF-1 histonlara bağlanır ve onları, yeni sentezlenen DNA'yla birleşebilecekleri replikasyon çatalına yöneltir. CAF-1 ve taşıdığı histon, çoğalan hücre çekirdek antijeni (PCNA) denilen β kelepçesinin ökaryotik versiyonuna bağlanarak replikasyon çatalına ulaşır.

Özet olarak ökaryotik replikasyonda prokaryotik replikasyondaki bütün işlemler gerçekleşir, ilaveten nükleozom denilen protein-DNA kompleksleri önce çözülüp sonra tekrar bağlanmalıdır.

Ökaryotik DNA Polimerazlar

Ökaryotik polimerazlar 6 tanedir. Bunlardan DNA polimeraz gama dışında hepsi nükleus içinde bulunur. Polimeraz gama mitokondri içindeki DNA'nın replikasyonundan sorumludur ve sadece burda bulunur.

DNA Polimeraz Alfa) Nükleusta replikasyonun başlamasından sorumludur. Replikasyon hızı yavaştır. Polimeraz alfa kesintili ve kesintisiz zincirin sentezinin başlatılmasında, Primaz ile birlikte görev yapmaktadır. Primaz enzimi kalıp zincire komplementer yeni zincirin başlatılabilmesi için 5-10 nükleotidlik nükleotit bağlar bu yapıya ilaveten Polimeraz alfa 20-30 nükleotidlik DNA sentezi yapar ve birlikte RNA primerini oluşturmuş olurlar. RNA primeri oluştuktan sonra polimeraz alfa sentez hızının yavaş olmasından dolayı görevini esas DNA sentezini yürütecek olan polimeraz deltaya bırakır.

DNA Polimeraz Delta) Polimeraz alfaya oranla çok hızlıdır. Esas DNA sentezinden sorumlu olan enzimdir. Kesintili ve kesintisiz DNA sentezinde görev alır.

DNA Polimeraz Epsilon) Polimeraz delta ile aynı özelliktedir. Sadece kesintili zincirin sentezinde görev aldığı bilinmektedir.

DNA Polimeraz Beta-Zeta) DNA'nın tamirinden sorumlu enzimlerdir.

- Replikasyonun Ökaryotik Orijinleri

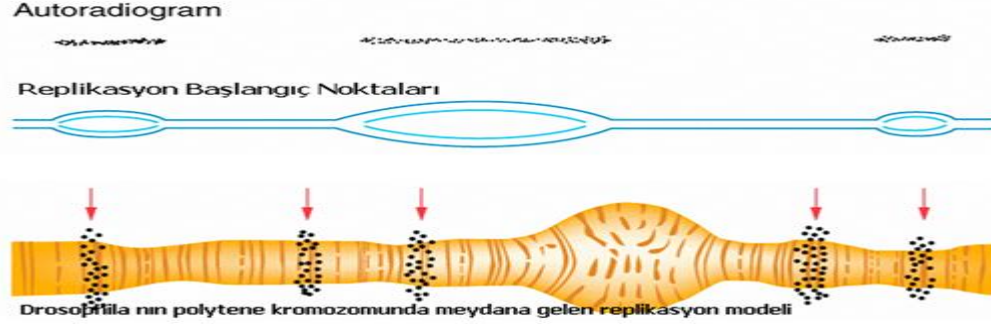
E. coli gibi bakteriler bir replikasyon – bölünme devrini çoğunlukla 20 ile 40 dakikada tamamlar fakat ökaryotlarda devir, mayalarda 1.4 saatten kültür hayvanlarının hücrelerinde 24 saate kadar değişebilir ve bazı hücrelerde 100–200 saat kadar sürebilir. Ökaryotlarda, kromozomun kendi karmaşık yapısını replike etme problemi kadar, birden fazla kromozom replikasyonunu koordine etme problemi de çözülmelidir.

Ökaryotik replikasyon orijinlerini anlamak için önce basit ökaryotik canlılar olan mayalarda çalışılmıştır. Mayadaki replikasyon orijinleri, *E. coli*'deki *oriC*'ye çok benzer, 100-200bp uzunluğundaki orijinler, bir başlangıç proteini ardışık bağlanma sitelerine bağlandığı vakit açılan AT'ce zengin bölgeler içeren korunmuş bir DNA bölgesine sahiptir. Prokaryotik kromozomların tersine her bir ökaryotik kromozom, çok daha büyük ökaryotik genomun çabucak kopyalanması için, birçok replikasyon orijinine sahiptir. Yaklaşık olarak 400 replikasyon orijini ekmek küfünün 16 kromozomu boyunca dağılmıştır ve insanın 23 kromozomunda binlerce açılan çatal var olduğu tahmin edilmektedir. Buna göre, ökaryotlarda replikasyon birçok başlangıç noktasından her iki yöne doğru devam eder (Şekil). Replikasyonun her bir çatalında üretilen ikili sarmallar uzayarak sonunda biri diğerine bağlanır. İki zincirin replikasyonu tamamlandığı zaman DNA'nın iki özdeş kardeş molekülü ortaya çıkar.

DNA sentezi, ökaryotik hücre çoğalma döngüsünde S (sentez) döneminde gerçekleşmektedir. Ekmek küf hücrelerinde yapılan araştırmalar, replikasyonu başlatmak için gerekli proteinlerin geç mitoz ve G1 fazında sentezlenip, sentez başladıktan sonra hemen parçalanarak tahrip edildiğini göstermiştir. Bu şekilde replikasyon mekanizması S fazından hemen önce kurulmaktadır.

Ekmek küfünde 400 replikasyon başlangıç noktasının çoğunda 100–200 bp vardır. Daha yüksek ökaryotik organizmalarda ise DNA üzerinde replikasyon başlangıç dizileri on binlerle ifade edilecek kadar çok sayıda bp ihtiva etmektedir. Dolayısıyla yüksek ökaryotlarda replikasyon mekanizmasını başlatan proteinlerin özgün bir DNA dizisini tanıtmaktan daha farklı bir faaliyet gösterdikleri düşünülmektedir. Ancak bugün için böyle organizmalardan

başlangıç noktaları izole ederek çalışmak, prokaryotlardaki ve ekmek küfündeki kadar kolay değildir. S döneminde replikasyonun, gen bakımından zengin ökromatin bölgelerinde daha önce başladığı bilinmektedir. Başlangıç noktalarını tanıma proteinleri başlangıç dizilerini tanıma işi yapsalar böyle bir zamanlama farkı ortaya çıkmaması gerekir. Bu proteinlerin önce gen bakımından zengin bölgelerde başlangıç dizilerinde replikasyonu tamamlayıp, sonra kromatinin gen bakımından düşük yoğun bölgelerinde başlangıç dizilerine bağlanmaları, izah edilmesi gereken bir bulgudur.



Şekil: Drosophila polyten kromozomunda çoklu replikasyon çatalları ve başlangıç noktaları

Özet olarak, replikasyonun nerde ve ne zaman olacağı, hücredeki replikasyon mekanizması (replizom) tarafından dikkatle kontrol edilir. Çember şeklindeki prokaryotik kromozomda replikasyon bir başlangıçtan, düz ökaryotik kromozomların her birinde ise yüzlerce hatta binlerce başlangıçtan her iki yöne doğru devam eder. (Griffith ve ark 2008)

Prokaryotlarda replikasyonun sonlanması çatal, çember şeklindeki DNA'nın tamamını kat ettiği zaman sonlanmaktadır. Ökaryotlarda ise birçok replikasyon başlangıç noktasından başlayan replikasyonlar her iki yöne devam ederek birbirleriyle birleşir, sonunda lineer DNA molekülünün telomerler denilen iki ucuna ulaşır. Rehber zincir devamlı sentezlenerek kromatinin sonuna ulaşır, geciken zincir ise sürecin önünde giden bir primere gerek olduğu için yeni DNA moleküllerinin birinde tek zincirli bir uç kalacaktır. İkinci replikasyon generasyonunda bu uçtaki kayıp dizi replike olmayacak ve eğer tedbir alınmazsa DNA kısalacaktır. Bu tedbir işlemi yüzünden telomerlerin replikasyonu ve dolayısıyla replikasyonun sonlanması, ökaryotlarda daha karmaşık bir işlemdir.

Replikasyonun başlaması

Replikasyonun başlatılması için DNA çift ipliğinin ayrılması gerekir. Promotor bölgesine bağlanan başlatıcı protein (helikaz enzimi) DNA'nın çift ipliğini ayırır. Helikaz enzim aktivitesi için açılan çatala replikasyon çatalları denir. Replikasyon çatalları ana DNA molekülünü ayırdıkça ilerler, helikaz enzimi çift sarmal yapıdaki DNA zincirindeki hidrojen bağlarını koparak birbirinden ayırır, ayrılan bağların tekrar birbirine bağlanmasını engellemek için SSB proteinleri bağlanır ve helikaz enzimi yoluna devam eder. Helikaz enzimi DNA zincirini ayırırken aynı zamanda da replikasyon işlemi gerçekleşir.

DNA polimerazlar sadece 5'--->3' yönünde sentez yapabilmektedirler ve bu nedenle ayrılan zincirin birinde kesintisiz zincir oluşturulurken diğer zincirde de kesintili bir şekilde sentez yapılmaktadır.

Ökaryotik canlılarda DNA polimerazlar sentezi başlatabilmesi için öncelikle 5-10 nükleotidlik bir RNA primerine ihtiyaç duyulur. DNA polimeraz alfa primaz enzimi ile birlikte bu RNA primerini sentezlerler. Öncelikle primaz enzimi 5-10 nükleotidlik okazaki fragmentini sentezler daha sonra polimeraz alfa bu fragmente 20-30 nükleotidlik DNA sentezler ve birlikte RNA primerini sentezlemiş olurlar. Polimeraz alfa yavaş olması sebebiyle zincirden ayrılır ve yerini polimeraz delta'ya bırakır.

Polimeraz delta sentezi replikasyon bitene kadar devam ettirir. Bu işlemler 5'--->3' yönünde kesintisiz bir şekilde devam eder bu zincire kesintisiz zincir denmektedir. Kesintili zincir ise DNA'nın diğer yeni zincirini uzatmak için polimerazın diğer kalıp zincir boyunca replikasyon çatalından uzaklaşacak şekilde kesintili zincir olarak devam eder. Bu işlemde 5'--->3' yönünde devam etmektedir. Fakat zincirin biri replikasyon çatalı yönünde ilerlerken diğeri zincirin tersi yönde kesintili şekilde devam eder. Replikasyon ilerledikçe RNA primeri, DNA polimeraz I tarafından kesilip çıkarılır. Ortaya çıkan boş alanlar DNA polimeraz alfa tarafından DNA'ya uygun olarak sentezlenir. Çıkarılan RNA primerinin yerleri polimeraz alfa tarafından bir miktar daha uzatılır ve birkaç bazlık açıklık kalması sağlanır. Geriye kalan bu açıklık ligaz enzimi tarafından birleştirilerek DNA replikasyon işleminin tamamlanması sağlanır.

Ökaryotik ve Prokaryotik kromozomların sonlanma bölgeleri birbirinden farklılık gösterir. Ökaryotik kromozomlar doğrusal yapıdadır ve kromozom ucu telomer adı verilen yapılar ile sonlanır. Normalde sentez sırasında 3'OH grubuna nükleotit ilavesi yapılarak telomer kısalması önlenabilmektedir. Fakat ökaryotik canlılarda somatik hücrelerde telomeraz enzimi bulunmamaktadır. (Eşey hücreleri Hariç) Bu nedenle replikasyon sonunda kromozomun her iki ucunda RNA primeri kadar kısalma meydana gelmektedir.

Özet olarak, Telomerler, kromozom uçlarında, telomeraz enzimi tarafından 3' uçlarına eklenmiş olan kısa bir DNA dizisinin tandem tekrarlarını içeren özellikli yapılardır. Telomerler, her bir DNA replikasyon döğüsünden sonra olası genomik enformasyon kaybını engelleyerek ve kromozom uçlarını hücre DNA tamir mekanizmasından "saklayan" bir şapka oluşturan proteinlerle birleşerek kromozomları sabit tutmaktadır.

Telomerler somatik hücrelerde yaşla birlikte kısalır çünkü bu hücrelerde telomeraz yapılmaz. Oysa cinsiyet=eşey hücrelerinde çokça telomeraz mevcuttur. Kusurlu telomerlere sahip olan bireyler erken yaşlanma olgusu yaşarlar.

Çalışma Problemleri

DNA replikasyonunda rol alan enzimleri, rolleriyle birlikte çalışınız.

- Çatalı helikaz enzimi açar.
- Topoizomeraz enzimleri açılan DNA çatalında helikaz enziminin rahat ilerlemesi için çatalın önünde kıvrılmaları önler.
- Ayrılan zincirlerin tekrar kıvrılmaması için single strand binding proteinler zincirin arkasına destek olur.
- Çatal açılırken DNA Polimerase III enzimi bir zincir boyunca hemen nükleotidleri birbirine bağlar. (Leading Zincir)
- Diğer zincir (Lagging Zincir) tarafında ise primosome denilen, etkili maddesi Primaz enzimi olan proteinler yoluyla 5-8 nükleotidlik bir RNA başlangıç molekülü oluşturulur. Polimerase III enzimi hemen çatalın olduğu yerden 1000-2000 nükleotidlik bir fragment oluşturur; (Okazaki Fragment). Sonra hemen 5' ucuna, çatala döner. Çünkü çatal açıldığından orada primosome yeni bir primer oluşturmuştur. Leading zincirde ise primosome, sadece bir defa başlangıç RNA'sı oluşturur. Orada yeni zincir 3' - 5' istikametinde sürekli uzar.
- RNA primeri Okazaki fargmentinden pol I enzimi yoluyla uzaklaştırılır ve Pol I RNA'dan kalan boşluğu DNA ile doldurur.
- Ligase iki parçayı birleştirir.