

NÜKLEİKASİTLERİN YAPISI, FONKSİYONU VE GENOM ORGANİZASYONU

Engin Yılmaz

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara

Genlerin genom içindeki organizasyonu ve nasıl fonksiyon gösterip düzenlendiğinin detaylı olarak anlaşılması, gelecekte hastalıkların tanı ve tedavisinde, yeni tedavi seçeneklerinin oluşturulmasına, aşı geliştirilmesinde ve hedefe yönelik yeni ilaçların tasarlanmasında önemli bir rol oynayacaktır. Moleküler anatomi, kromozomların ve genlerin fizyolojisini iyi bilen uzmanların yetişmesi kalıtsal hastalıkların tanısının ve tedavisinin yönlendirilmesinde büyük kolaylık sağlayacaktır.

Canlı organizmaların evrensel özelliği, fonksiyonlarının sürdürülmesi için gerekli olan tüm genetik bilgiyi depolamak, kullanmak ve bir sonraki kuşaklara aktarmaktır. Kuşaklar arasında genetik bilgi akışının sağlayan genlerdir ve bazı RNA virusları hariç genler daima DNA molekülleridir. Bir organizmanın DNA'sında saklanan genetik bilgi, o organizmanın genomunu oluşturur. Bir haploid memeli genomu 3×10^9 nükleotid çiftinden oluşmaktadır. Bu genom 24 farklı kromozom halinde hücrenin çekirdeğinde bulunmaktadır. 24 çift kromozomdan 22 tanesi otozom kromozomları, 2 tanesi ise (X ve Y) eşey kromozomlarını oluşturmaktadır.

1. DNA Molekülünün yapısı

Genomumuzu oluşturan DNA molekülünün yapısı, 1953 yılında James Watson ve Francis Crick tarafından açıklanmıştır. DNA molekülü, beş karbonlu bir şeker (deoksiriboz), fosfat grubu ve azotca zengin pürin (A: adenin, G:guanin) ve primidin (T: Timin, C: Sitozin) bazlarından oluşan polimerik bir nükleik asit makromolekülüdür. DNA molekülleri 5' uçundan 3' ucu doğru şeker fosfat omurgasından oluşan iki zincirin birbiri eksenini etrafında birbirlerine antiparalel olarak sarılması ile meydana gelen çift sarmal yapıdadır. Bu yapıya "**double helix**" yapısı denir. Bir DNA zincirindeki adenin (A) nükleotidi (bazı) diğer zincirdeki timin (T) bazı ile, guanin (G) bazı ise, diğer zincirdeki sitozin (C) bazı ile baz çifti oluşturur. Baz çiftleri hidrojen bağları ile bir arada tutulurlar. DNA zinciri normal fizyolojik şartlardaki hücrelerde çoğunlukla sağa doğru dönümlü B-DNA formunda, nadir olarak sola doğru dönümlü Z-DNA formunda bulunur.

DNA'nın, hücre çekirdeğinin içerisindeki paketlenmesinin ilk basamağı nükleozom oluşumudur. DNA molekülünün lizin ve arjininden zengin bazik histon proteinleri ile bağlanması sonucunda **kromatin** yapısı oluşur. Nükleozomlar, kromatinin tekrarlayan alt birimleridir ve yaklaşık 146 baz çifti uzunluğundaki DNA zincirinin histon oktameri etrafına sarılması ile oluşurlar. İkişer adet H2A, H2B, H3 ve H4 bir araya gelerek bir oktamer oluşturur. Nükleozomlar bağlaç DNA ile birbirlerine bağlanırlar. H1 nükleozomları arasındaki bağlaç DNA'ya bağlanarak nükleozom yapısının açılmasını engeller. Altı nükleozom bir araya gelerek helikal kromatin yapısını daha da sıkılaştırırlar bu yapı ise, solenoid olarak adlandırılır.

Genetik bilginin akışı DNA → RNA → Protein şeklinde gerçekleşir. Bu akış **santral doğma** olarak bilinir ve Retroviruslar hariç tüm canlılar için aynı mekanizma geçerlidir. Genetik bilgi DNA zinciri boyunca yer alan bazların diziliminde saklıdır. Buna **genetik kod** denir. DNA zincirinde ard arda gelen üç nükleotid bir kod oluşturur ve bu kod, proteindeki amino asit dizilerini belirler. DNA'nın yapısında dört nükleotidin yer alması ve bunlarda yan yana gelen üç tanesinin bir kod oluşturmasından dolayı, 4'ün 3'lü kombinasyonuna (4^3) göre 64 farklı kodon genetik kodu oluşturmaktadır. Proteinlerin yapısında sadece 20 amino asidin yer alması ve 64 kodon olasılığı nedeni ile, bir çok amino asit birden fazla kodonla belirlenir. Buna kod dejenerasyonu denir. Bu 64 kodonda üçtanesi (UGA, UAA, UAG) hiçbir amino asit için şifre taşımamaktadır. Bu kodonlara dur (stop) kodonu denilmektedir. DNA'daki bilginin RNA'ya aktarılmasına transkripsiyon, bu bilginin amino asit dizisine dönüştürülmesine ise, translasyon denilmektedir.

Transkripsiyon ile DNA zinciri üzerindeki bilgi mRNA (mesajcı RNA) molekülüne aktarılmaktadır. mRNA'lar çekirdek içerisinde işlenerek (5' uçlarının kapatılması "capping", 3' uçlarına poli A kuyruğunun takılması ve amino asit şifresi taşımayan intron bölgelerinin aradan çıkarılarak, amino asit şifresi taşıyan ekzon bölgelerinin yan yana getirilmesi "splicing") olgun mRNA haline getirilirler. Olgun mRNA'lar çekirdekte



stoplazmaya transfer olarak taşıdıkları bilgiyi stoplazmik bir organel olan ribozomlarda proteinlere çevirirler. Ribozomlar rRNA (ribozomal RNA) olarak bilinen özel bir RNA ile, onunla ilişki kurabilen birçok yapısal proteinden oluşmuşlardır. mRNA'da kodlanmış olan baz dizisi ile proteinin amino asit dizisi arasında moleküler ilişkiyi kuran molekül ise, tRNA (transfer RNA) molekülüdür. tRNA üzerinde bulunan anti kodon kolu, mRNA üzerindeki kodon ile baz çifti oluşturarak, tRNA'nın getirmiş olduğu kodona özgül amino asit büyümekte olan polipeptid zincirin karboksil ucuna peptid bağı ile eklenir. mRNA üzerindeki kodonların okunması, mRNA üzerindeki dur kodonuna kadar devam eder ve dur kodonuna gelince protein sentezi sonlandırılır. Sentezlenen protein post-translasyonel modifikasyonlar (yan grupların eklenmesi, bazı bölgelerin kesilip çıkartılması, paketlenerek üç boyutlu yapısını alması) geçirerek fonksiyonel protein haline gelir ve hücre içindeki fonksiyonunu yerine getirir.

2. İnsan genom organizasyonu

İnsan genom projesi ile genomumuzun organizasyonunun tahmin edilenden daha çok karmaşık olduğu gözlenmiştir. Sahip olduğumuz DNA'nın aslında %10'undan daha az bir kısmı proteine kodlamaktadır. Genomumuzun toplam uzunluğunun dörtte üçü kadarı tek kopya DNA'dan oluşmaktadır. Genomun geri kalanı tekrarlayan DNA dizilerinden oluşur. Genomda bulunduğu tahmin edilen 20-25 bin genin çoğu tek kopya DNA şeklinde bulunur. Genomdaki tekrarlayan DNA dizileri ise, kromozom yapısının korunmasına katkı sağlamaktadır.

2.1. Genomun tekrarlayan DNA dizileri

Tekrarlayan DNA dizileri genom içinde bir veya birkaç bölgede kümeleştiği gibi genom boyunca tek kopya diziler arasında da yer alabilmektedir. Kümeleşmiş tekrarlayan diziler, ard arda organize olan çeşitli kısa tekrarlardan meydana gelirler. Bu diziler **satellit DNA** olarak adlandırılırlar. Satellit DNA aileleri, genomdaki yerleşimlerine, ard arda gelen tekrar dizilerinin toplam uzunluğuna ve diziyi oluşturan tekrar birimlerinin uzunluğuna göre farklılık göstermektedirler.

Minisatellit DNA dizileri: Değişken sayıdaki tekrarlayan dizilerdir. Bu dizilere VNTR (Variable Number of Tandem Repeats) de denilmektedir. 9-65 baz çifti uzunluğunda tekrar dizileri içerirler. Genomda 1-20 kilobaz arasında değişen yaklaşık 1000 kadar blok oluştururlar. Polimorfik özelliklerinden dolayı DNA analizlerinde tanı amaçlı (babalık testi, adli tıp, kalıtsal hastalıklarda mutant allelin tesbiti gibi) olarak kullanılabilirler.

Mikrosatellit DNA dizileri: 2-10 baz çifti tekrar dizilerinden oluşmaktadır. Tüm genoma yayılmış halde 100.000 den fazla mikrosatellit DNA dizisi bulunmaktadır. Bu diziler

de minisatellitler gibi polimorfik özelliklere sahip olduklarından minisatellitler gibi aynı amaçlar için kullanılabilirler. Mikrosatellitler, genon içine yayılmış olmalarından dolayı genlerin kromozomal lokalizasyonlarının saptanması için kullanılan bağlantı (linkage) analiz çalışmalarında belirleyici (marker) olarak kullanılmaktadır.

İnsan genomunun yaklaşık 1/3'ü genoma dağılmış halde bulunan hareketli DNA dizileridir. Bu diziler kararsız diziler olup genom içinde göç edebilirler. Hareketli diziler iki grup halinde incelenmektedirler;

1. **Transpozonlar:** DNA'ların transpozisyonu ile oluşurlar.

2. **Retropozonlar:** RNA'lardan cDNA aracılığı ile DNA'ya aktarılmış olan dizilerdir.

SINE (Short Interspersed Nuclear Elements): İnsan genomunda en yaygın bulunan tekrar dizileridir. En tipik örneği Alu tekrar dizileridir. 300 baz çiftlik tekrar dizilerinden oluşurlar ve genom içinde en az 500.000 Alu dizisi bulunmaktadır.

LINE (Long Interspersed Nuclear Elements): Genomda 100.000 kopyası bulunan 6 kilobaz uzunluğundaki tekrar dizileridir.

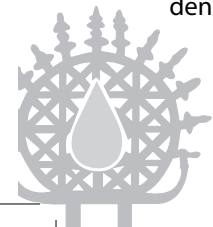
SINE ve LINE dizileri retrotranspozisyon yolu ile kalıtsal hastalıklara neden olan mutasyonlara neden olmaktadır. Ayrıca genom içerisinde göç edebildiklerinden bazen tıbbi önemi olan genlerin "insersiyonel inaktivasyonu"na neden olurlar.

3. Genetik varyasyonlar: mutasyonlar ve polimorfizmler

İki insanın DNA dizisi yaklaşık olarak %99.5 oranında aynıdır. DNA dizileri arasındaki bu küçük farklılıklar insanlar arasındaki genetik çeşitliliği sağlamaktadır. DNA'daki nükleotid dizisinde meydana gelen değişiklikler, bazen fenotipi etkilememekte bazen de fenotipi etkilemektedir. DNA yapısında oluşan bu değişiklikler; bireylerin anatomik, fizyolojik, ilaçlara olumlu veya olumsuz yanıtları, kalıtsal hastalıklar, kanser, enfeksiyon veya multifaktöriyel gibi hastalıklara yatkınlıklarından ve genetik olarak belirlenen fenotipik çeşitlilikten sorumludur.

DNA'daki nükleotid değişiklikleri veya yeniden düzenlenimler fenotipi etkiliyor ise, **mutasyon** olarak adlandırılır ve kalıtsal hastalıkların gelişiminden sorumludurlar. Bu değişiklikler fenotipi etkilemiyor sadece genetik çeşitlilik sağlıyor ise **polimorfizm** olarak adlandırılmaktadır. Bu değişikliklerin popülasyonda görülme oranları % 1'dir.

Hücredeki kromozom sayılarında meydana gelen değişiklikler **genom mutasyonları**, kromozom yapısında meydana



gelen değişiklikler **kromozom mutasyonları**, DNA'nın yapısındaki nükleotidlerde meydana gelen değişiklikler **gen mutasyonları** olarak adlandırılır

3.1. Genom mutasyonları

Mayoz veya mitoz bölünme sırasında kardeş (homolog) kromozomların hatalı ayrılması ile oluşan kromozom sayılarının değişimidir. Her 25-50 mayotik hücre bölünmesinde bir görülür. Kromozom sayısında meydana gelen değişiklikler "nondisjunction" (ayrılmama) veya "anafaz lagging" (anafaz safhasında geri kalma veya kaybolma) mekanizmaları ile oluşur. Genom mutasyonları pek yaşarla bağdaşmayan mutasyonlardır. Doğumdan sonra yaşarla bağdaşan ve tüm bir kromozomun trizomisi ile giden sadece üç iyi tanımlanmış genom mutasyon hastalığı vardır. Trizomi 21 (Down sendromu). 35 yaşında 1/385; 40 yaşında 1/100 canlı doğumda ileri anne yaşına bağlı olarak görülür. Trizomi 18 (1/7500 canlı doğumda), Trizomi 13 (1/20.000-25.000 canlı doğumda). Bu trizomilere büyüme geriliği, zeka geriliği ve konjenital anomaliler eşlik eder. Bu gelişimsel bozukluklar fazladan bulunan kromozom üzerindeki belirli genlerin artmış dozaj etkisi ile ortaya çıkmaktadır.

3.2. Kromozom mutasyonları

Kromozomların yapısında duplikasyon, delesyon, insersiyon, inversiyon veya translokasyon şeklinde oluşan yapısal değişikliklerdir. Kromozomlardaki parça değişimi düşük bir sıklıkla kendiliğinden oluşabilir veya iyonize radyasyon, bazı viral enfeksiyonlar ve bazı kimyasallar ile indüklenebilirler.

3.2.1. Delesyonlar; kromozomun bir kısmının kaybedilmesi ile oluşur ve kromozom dengesizliğine neden olur. Ortaya çıkan klinik bulgular delesyona uğrayan bölgenin büyüklüğüne, içerdiği genlerin sayısına ve işlevine bağlıdır. Sitogenetik olarak görülebilen otozomal delesyonlar yaklaşık 7000 canlı doğumda bir görülmektedir. Örneğin Cri du chat sendromu (5qter→5p15).

3.2.2. Duplikasyonlar; eşit olmayan "crossing-over" ile veya bir translokasyon veya inversiyon taşıyıcısında mayoz bölünme sırasında anormal segregasyon ile oluşur. Genel olarak duplikasyonlar delesyonlardan daha az zararlıdır.

3.2.3. İversiyonlar; bir kromozomun üzerindeki iki kırık arasındaki kromozom parçasının ters dönerek aynı yere bağlanmasıdır. İki tip inversiyon bulunmaktadır: her iki kırığında aynı kromozom kolu üzerinde olduğu parasentrik inversiyonlar ve her iki kolda da bir kırığın olduğu perisentrik inversiyonlar. İversiyonlar taşıyıcılarda anormal bir fenotipe neden olmazlar çünkü dengeli bir yeniden düzenlenmedir. Fakat gelecek kuşaklar için anormal gametler oluşturma riski taşırlar. Örneğin; 3. kromozomda oluşan perisentrik inversiyon inv(3)(p25q21).

3.2.4. Translokasyonlar; genellikle kardeş olmayan kromozomlar arasındaki parça değişimidir. **Resiprokal translokasyon**, kardeş olmayan kromozomlar arasındaki parça değişimi olup yalnızca iki kromozomla sınırlıdır ve toplam kromozom sayısında ve genomda bir değişiklik olmaz. 600 yeni doğanda bir görülmektedir. **Robertsonian translokasyon**, kısa kollarını kaybetmiş iki akrosentrik kromozomun sentromerlerinden birbirlerine bağlanması ile oluşur.

3.2.5. İversiyonlar; Bir kromozoma ait bir kromozom parçasının koparak diğer bir kromozoma katılmasıdır. İversiyonlar nadir olarak görülürler.

3.3. Gen mutasyonları

DNA'nın yapısındaki nükleotid çiftlerinin yer değiştirmesi, bir veya birkaç nükleotidin DNA'nın yapısına katılması (insersiyon) veya bir veya birkaç nükleotidin DNA'nın yapısından çıkması (delesyon) şeklinde meydana gelirler. Bazı gen mutasyonları kendiliğinden oluşurken, diğerleri fiziksel veya kimyasal ajanlarla oluşmaktadır. Bu ajanlara **mutajen** denilmektedir.

DNA dizisindeki nükleotid değişiklikleri genetik kodu değiştirerek farklı amino asidin sentezlenmesine neden olurlar. Bu tip mutasyonlara **yanlış anlamlı** mutasyonlar denir. Nükleotid değişikliği bazen da dur kodonunun oluşmasına neden olur butip mutasyonlarada **anlamsız** mutasyon denir. DNA'nın yapısındaki nükleotidlerden bir pürün bazı yerine diğer pürün bazının (A-G) veya bir pirimidin bazı yerine diğer pirimidin bazının (T-C) gelmesi şeklindeki değişikliklere **transisyon** denir. Bir pürin yerine bir pirimidin veya tam tersi şeklinde olan değişikliklere **transversiyon** denir. Genlerdeki intron ekzon bağlanma bölgelerindeki bazı nükleotid değişiklikleri ise, RNA işleme hataları olarak gruplandırılan mutasyonlara neden olurlar. DNA'nın yapısında meydana gelen üç veya üçün katları dışındaki delesyonlar veya insersiyonlar **çerçeve kayması** denilen okuma bozukluğuna neden olurlar.

DNA'daki nükleotidlerin değişmesi fenotipe yansımıyor ise, bu tip değişiklikler polimorfizm olarak adlandırılırlar. Polimorfizmler genetik araştırmalarda anahtar niteliğindeki elementlerdir. Genlerin farklı kalıtsal formlarını veya genomun farklı bölgelerini ayırt etmek için kullanılmaktadır. Örneğin, bağlantı analizleri ile genlerin kromozom üzerindeki lokalizasyonlarının haritalanmasında, kalıtsal hastalıklarda mutant kromozomun aile içindeki geçişinin gösterilmesinde, doğum öncesi tanıda fetusun satüsünün belirlenmesinde, kronik kalp hastalığı, kanser ve diyabet gibi yaygın yetişkin hastalıklara yatkın kişilerin yüksek ve düşük risklerinin değerlendirilmesinde, adli tıpta suçluların belirlenmesinde ve babalık testinde, organ transplantasyonu için doku tiplendirilmesinde polimorfizmlerden yararlanılmaktadır.



KAYNAKLAR

1. Watson JD, Crick FHC. Molecular structure of nucleic acids. A structure for deoxyribose nucleic acid. Nature 1953, 171:737-738..
2. Alberts B, Jonson A, Lewis J. et.al. Molecular Biology of the Cell. Fourth edition. Garland Science, New York, 2002.
3. Rhodes D. Chromatin structure. The nucleosome core all wrapped up. Nature, 1997, 389:231-233.
4. Luger K, Richmond TJ. The histone tails of chromosome. Curr Opin genet Dev 1998, 8:140-146.
5. Knight RD, Landweber LF. The earlu evelution of the genetic code. Cell 2000, 101:569-572.
6. Reed R. Mechanisms of fidelity in pre-mRNA splicing. Curr Opin Cell Biol 2000, 12:340-345.
7. Human Genome Project;National Human Genome Research Institute. <http://www.nhgri.nih.gov>
8. Bernardi G. The human genome organisation and evolutionary history. Ann Rev Genet 1995, 29:445-476.
9. Armour JA, Jeffreys AJ. Biology and application of minisatellite loci. Curr Opin Genet Dev 1992, 2:850-856.
10. Singer MF. SINEs and LINEs: Highly repeated short and long interspersed sequences in mamalian genome. Cell 1982, 28: 433-443.
11. Dunnen JT, Antonarakis SE. Mutation nomenclature extensions and suggestions to describe complex mutations. Hum Mutat 2000, 15:7-12.

