

ONARIM

Bir organizmanın yaşamı boyunca binlerce proteinin işlevlerini doğru biçimde yürütmelerine gereksinimi vardır.

Bu nedenle canlıların yaşam yeteneklerini sürdürebilmeleri ancak bu proteinlerden sorumlu DNA dizilerinin (genlerin) dölden dölle değişmeden geçmesiyle mümkündür.

Bununla beraber bir organizmanın gelişim gücü genleri tarafından belirlendiğine göre canlıların evrim sırasındaki gelişimlerinde temelde DNA moleküllerinin değişikliğe uğraması da gerekir.

Ancak evrimsel değişimler son derece nadir ender olarak meydana gelir.

Dolayısıyla hücre iki noktada tedbirini alması gerekmektedir.

1. DNA Replikasyonu yapan mekanizmanın kendiliğinden doğru biçimde çalışması
2. DNA molekülünde meydana gelecek hasarın onarılmasıdır.

Bazen kendiliğinden bazen de dış etkenler nedeniyle DNA yapısında çeşitli fiziksel ve kimyasal değişimler meydana gelebilmektedir.

Meydana gelen bu zararlar bazen DNA'nın proteinleri şifreleme özelliklerini değiştirdiğinden mutasyonlar ortaya çıkmakta ve canlının fenotipini değiştirmektedir.

DNA'da meydana gelen zararların replikasyonun yapılmasını engelleyici nitelikte olması durumunda da organizmanın yaşamını sürdürüp döl vermesi mümkün olmamaktadır.

DNA molekülünde meydana gelen zarar onun normal yapısından sapmaya yol açan herhangi bir değişikliği kapsar.

Böyle değişiklikler başlıca iki grupta toplanabilir.

1. Bazlarda meydana gelen değişiklikler; baz dizisini etkiler fakat DNA'nın tüm yapısını etkilemez.

Bu tip değişimler DNA sarmalının iplikleri birbirinden ayrıldığında replikasyonu (ve transkripsiyonu) genellikle etkilemez.

Ama bazların yapısal değişimleri, örneğin bir bazın diğerine dönüşümü replikasyon sırasında normal baz eşleşmesinin yapılmamasına yol açabilir.

2. Yapısal bükölme ve bozulmalar ise; replikasyona (ve transkripsiyona) fiziksel bir engel oluşturabilir.

DNA'da ortaya çıkabilecek zararlar, molekül yapısındaki kararsızlıktan dolayı yapı taşlarındaki grupların veya kimyasal bağların değişmesi sonucu kendiliğinden oluşabildiği gibi dış etkenler tarafından da meydana getirilmektedir.

Kendiliğinden oluşan bozulmaların başında bazların TAUTOMERİK biçimlerinin değişmesi, bazlarda deoksiribozlar arasındaki glikozidik bağların yok olmasıyla purinsiz yada pirimidinsiz (AP) yerler oluşumu gelir.

Ayrıca bazlardaki amin gruplarının yok olması da en sık rastlanan değişimler arasındadır.

Dış etkenler DNA'da çeşitli zararlara, kendiliğinden oluşan değişimlere göre çok daha yüksek sıklıkta yol açabilirler.

Bunlar arasında; bazlara alkil gruplarının sokulması, glikozidik bağların yok edilmesi, komşu bazlar arasında kovalent bağ oluşumuna neden olarak dimerleşmeye yol açılması, DNA omurgasında 2 iplikte kesilmeler yapılması vb

Hücrelerin onarım yeteneği DNA'da meydana gelen değişimleri saptayıp onları tam olarak geri döndüren ya da bir ölçüde düzelten ve buna göre kalıtsal moleküldeki zararları en aza indirgeyen sistemleri kapsar.

Kalıtsal moleküldeki zararlar replikasyon sırasında veya replikasyon dışındaki herhangi bir evrede meydana gelebilir.

Hücre, hem replikasyon sırasında yapılan yanlışlıkları hem de başka bir zamanda kendiliğinden ya da dış etkenlerle meydana gelen değişimleri tarayıp onarmak zorundadır.

Onarım sistemleri sonuçtaki başarılarına göre;

- HATASIZ ONARIM
- HATAYA EĞİLİMLİ ONARIM

1. Doğrudan Onarım

DNA'daki zararın tersine dönmesini ya da basit şekilde yok edilmesini kapsar.

Doğrudan onarımın bir örneği fotoreaktivasyon veya ışığa bağımlı onarım olarak adlandırılır.

Bu onarım sistemi UV ışığın etkisiyle bazlarda (özellikle pirimidinlerde) meydana gelen dimer oluşumlarını yok eder.

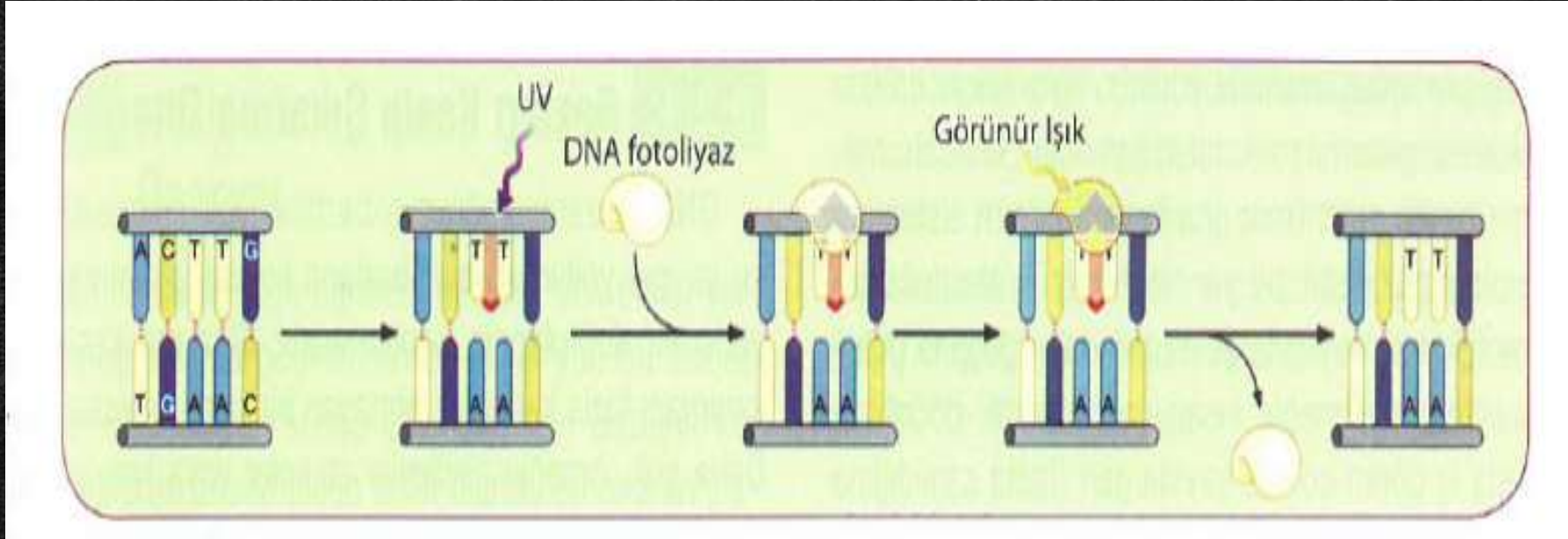
Bu mekanizmada tek bir enzim (DNA fotolizaz) gereklidir.

Pirimidin dimerleri (çoğunlukla timin) fotolizazın hedefidir.

Enzim pirimidin dimerlerinin bulunduğu bölgede DNA'ya bağlanır ve dimerleri monomer haline döndürür.

Fotolizaz enzimi bu sırada görünür ışığı (spektrumun özellikle mavi bölgesinden türevlenen enerji) tutarak bir fotokimyasal reaksiyonu katalizler; ışık enerjisini komşu pirimidin dimerleri arasındaki kovalent bağları kırmakta kullanır.

Bu nedenle, bu tipteki onarım sürecine fotoreaktivasyon adı verilmektedir.



Bakterilerin çoğunda bulunur, ayrıca bazı omurgalılarıda kapsayan az sayıda ökaryotik organizmada da iş görür; ancak insanda ve diğer plasentalı memelilerde henüz kesin olarak tanımlanmamıştır.

Doğrudan onarıma bir diğer örnek; metil gruplarının yok edilmesidir.

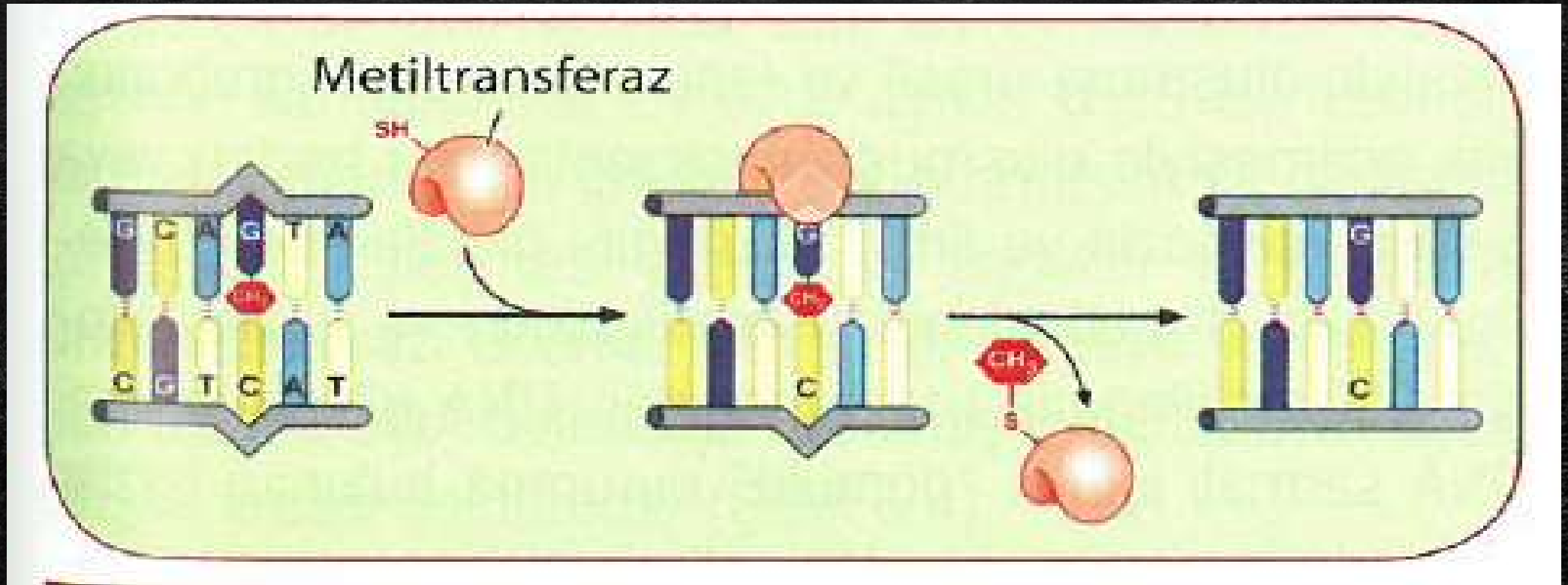
Alkillenme reaksiyonuyla bazlara veya DNA omurgasındaki fosfatlara metil grupları eklenir.

En fazla alkilenen yapı taşlarından biri G bazıdır.

Bu bazın özellikle 6. konumundaki oksijenin metillenmesiyle O⁶-metilguanin oluşur.

Onarım sürecinde, alkilenmeyle eklenmiş metil grupları bir almaç (akseptör) proteine aktarılarak yok edilir.

Bu metil transferaz reaksiyonunda katalizör olarak iş gören metil transferaz enzimi metil grubunu kendi yapısındaki bir Aa'e (sitozine) aktararak alkillenir.



Bunlara ek olarak; DNA ipliklerinde bir fosfodiester bağıının kırılmasıyla oluşan çentikler, eğer çentiğin iki tarafındaki nükleotidlerin 5'-PO₄ ve 3'-OH grupları zarar görmemişse bir DNA ligaz tarafından kapatılabilir.

Bu **Çentik Onarımı** da doğrudan onarım biçimidir.

Bu tipteki onarım genelde iyonlaştırıcı ışınlamaların etkisiyle oluşan çentikler için söz konusudur.

KESİP ÇIKARMA ONARIMI

Doğrudan onarım sistemlerinden daha karmaşık özellikte olan ve birkaç aşamalı reaksiyonla gerçekleşen bu onarım DNA'daki zarar görmüş bir bazı veya moleküldeki yapısal değişimi tanıyan bir enzim tarafından başlatılır.

Bunu, zarar görmüş bazın ya da bazın bulunduğu bölgedeki bir dizinin kesip çıkarılması izler.

Daha sonra da bu atılan kısmın yerini doğru bir baz ya da yeni sentez edilen bir DNA ipliği parçası alır.

Kesip çıkarma onarım sistemleri çok yaygın ve çeşitlidir.

Bazıları DNA'daki genel kusurları tanır bazıları ise özel değişim tipleri üzerinde etkilidir.

Aynı hücre tipinde değişik kesip çıkarma mekanizmaları bulunabilir.

Örneğin insan genomunda; doğrudan onarımda iş gören çok az sayıda gen (sadece O⁶-metilguanin-DNA metiltransferaz geni) bulunmakla beraber kesip çıkarma onarımıyla ilgili en az 40 genin varlığı ortaya konuşmuştur.

Kesip çıkarma onarımında iki farklı yol iş görür.

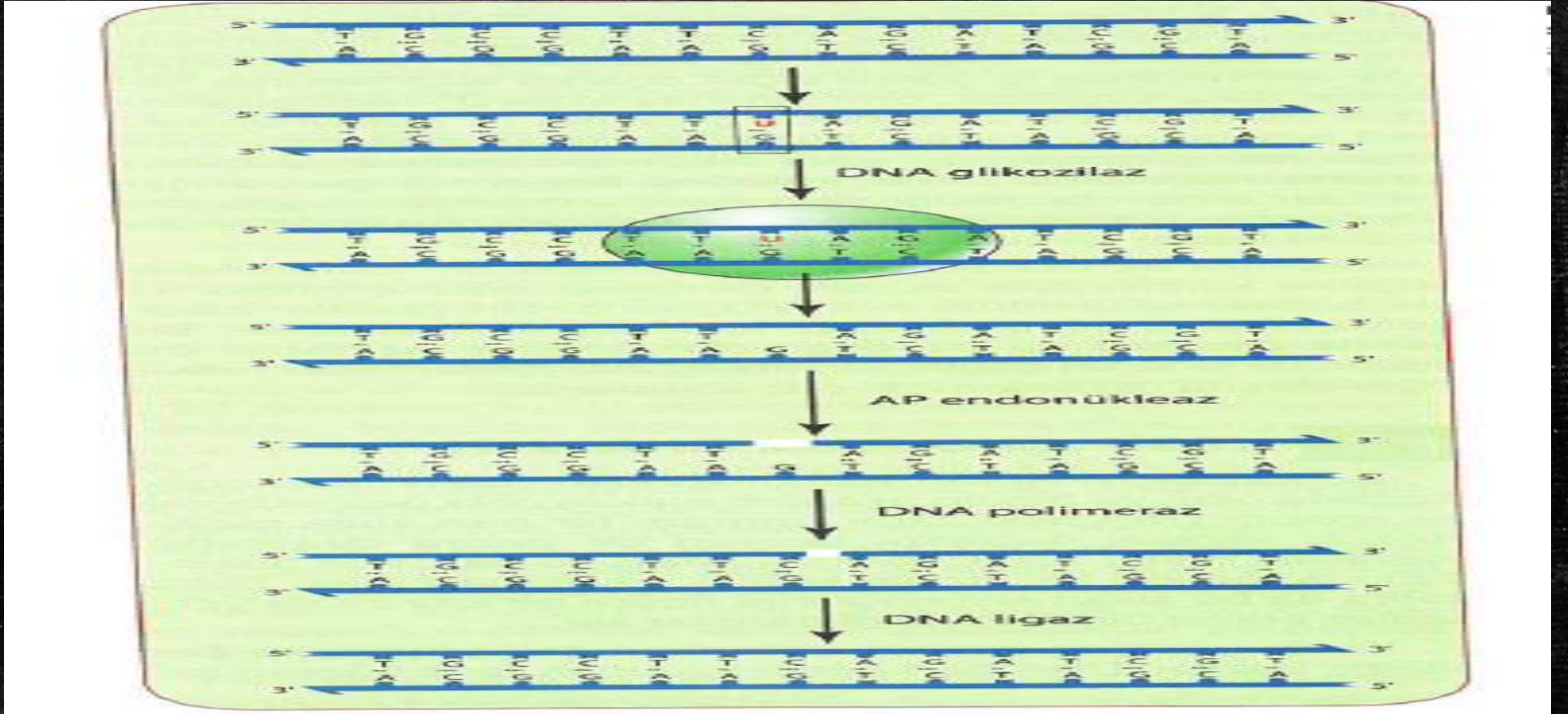
1. Bazları Kesip Çıkarma Onarımı

DNA'da zarara uğramış bazların yok edilmesindeki en yaygın yollardan biri, bazların kesilip çıkarılması ve yerlerine doğrularının konulmasıdır.

Bazların kesilip çıkarılması fazla karmaşık olmayan bir onarım sistemidir.

Daha çok, örneğin alkilleyici etkenler veya iyonlaştırıcı ışınlamalarla, bazları değişikliğe uğramış nükleotidleri onarmakta kullanılır.

Onarım süreci, yapıları değişmiş olan bazları tanıyıp bazla şeker arasındaki glikozidik bağı hidrolizleyerek kesen bir **DNA glikozilazla** başlatılır.



Bazı kaybolmuş şeker (AP yer) ikinci aşamada tek nukleotidlik bir aralığa dönüştürülür.

Bu aşama çeşitli şekillerde oluşabilir.

En genel yol *E. coli*'deki endonukleaz IV, insandaki APE1 gibi bir AP endonukleazın kullanılmasıdır.

Bu enzimler, AP yerin 5' tarafındaki fosfodiester bağı keser.

Bazı AP endonukleazlar AP yerden şekeride yok edebilirler.

Zarar görmüş nükleotid omurgadan tamamen yok edildikten sonra tek nükleotidlik aralık bir onarım DNA polimerazı tarafından DNA'nın diğer ipliğindeki zarar görmemiş bazı kalıp olarak kullanılarak doldurulur.

Bu aşamada iş gören enzim *E. coli*'de DNA polimeraz I, memelilerde DNA polimeraz β 'dir.

Daha sonra bir DNA ligaz tarafından fosfodiester bağı oluşturulmasıyla aralık tamamen kapatılır.

DNA glikozilazlar zarar gören bölgeye özgüdür.

Hücrelerde farklı özgülükte çok sayıda DNA glikozilaz bulunur.

İnsan hücrelerinin nukleuslarında toplam 8 farklı DNA glikozilaz tanımlanmıştır.

Bu enzimlerin çoğu (sitozindeki amin grubunun yok edilmesiyle oluşmuş) urasil ve (adenindeki amin grubunun yok edilmesiyle oluşmuş) hipoksantin bazları veya 5-hidroksisitozin ve timin glikol gibi oksitlenme ürünlerini ya da 3-metiladenin, 7-metilguanin ve 2-metilsitozin gibi metillenmiş bazları tanır.

DNA glikozilazların DNA sarmalı içinde «gömülü» durumda bulunan bazlar arasında zarar görmüş olanları bulmak üzere tarama yaparken DNA'nın küçük oluğu boyunca hareket ettikleri ve enzimin aktif yerine bağlanan bazların DNA'nın hafif bir dönüm yapmasıyla dışarı doğru «fırlatıldıkları» kabul edilmektedir.

2. Nukleotidleri Kesip Çıkarma Onarımı

DNA'da değişikliğe uğramış bazların yok edilip yerlerine doğrularının getirilmesinde 2. yol bu bazları içeren nükleotidlerin kesilip çıkarılmasıdır.

Bazların kesilip çıkarılıp onarımından farklı olarak, bu onarım sisteminde iş gören enzimler zarar görmüş bir bölgeyi ya da zararın tipini tanımazlar.

Bu sistem (örneğin bir timin dimeri oluşumu veya bir baza eklenmiş büyük kimyasal grupların varlığı nedeniyle) DNA sarmalının biçiminde meydana gelen bükülüp katlanmalar gibi daha genel özellikleri tanıyarak çalışır.

Böyle yapısal değişimler zarar görmüş nukletid(ler)i içeren tek iplikli kısa veya uzun bir parçanın yok edilmesine yol açacak bir seri reaksiyonu tetikler.

İlk aşamada yapılan kesilme DNA'da tek iplikli bir aralık yaratır.

Bu aralık DNA polimeraz tarafından zarar görmemiş ipliğin kalıp olarak kullanılmasıyla doldurulur.

Buna göre onarımın biyokimyasal yolu genelde bazıları kesip çıkarmaya benzer, fakat önceden seçilmiş nükleotid yok edilmez onun yerine daha uzun bir nukletid parçası yok edilir.

E. coli'de nukleotid kesip çıkarma onarımı genelde 4 protein (UvrAUvrB, UvrC ve UvrD) tarafından gerçekleştirilir.

Öncelikle iki UvrA ve bir UvrB molekülünden oluşan kompleks DNA'yı tarar.

UvrA sarmaldaki bükülmeleri bulmaktan sorumludur, böyle bir bölgeyle karşılaşıncı kompleksten ayrılır.

UvrB zarar görmüş bölgenin çevresinde tek iplikli bir «kabarcık» oluşturmak üzere DNA'yı çözer, daha sonra da UvrC'nin katılımını sağlar.

UvrBC dimerindeki UvrC (eksonukleaz) zarar görmüş bölgenin iki tarafında kesme yaparak iki çentik meydana getirir.

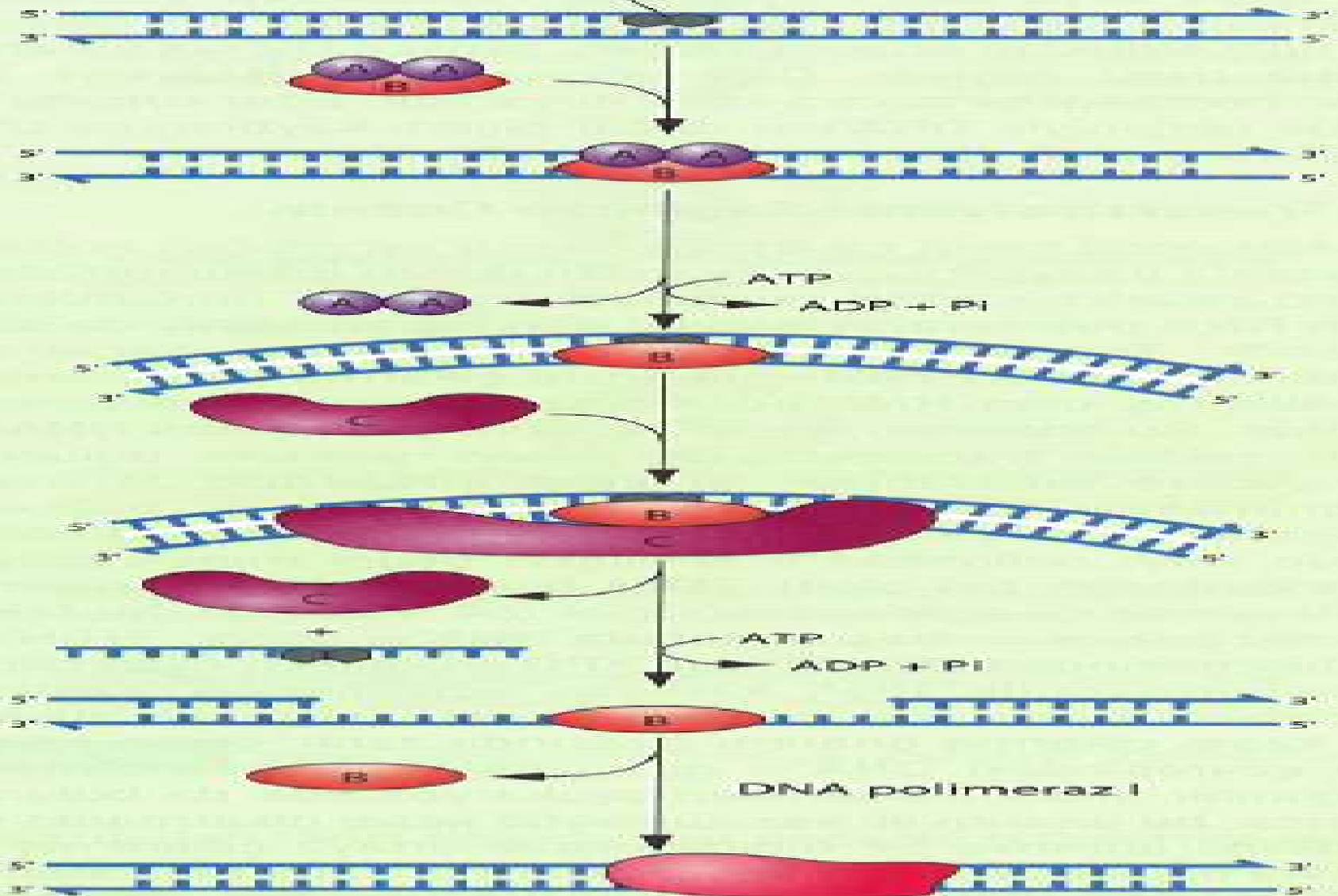
Kesmenin biri 5' tarafta 8 nükleotid diğeri de 3' tarafta 4-5 nükleotid ötede yapıldığı için, 12-13 nükleotid boyundaki tek iplikli bir DNA parçası yaratır.

Bu parça bir DNA helikaz olan UvrD tarafından uzaklaştırılır.

Bu aşamada UvrC'de ayrılır, UvrB ise yerinde kalarak tamamlayıcı zincirin zarar görmesini ya da kendi içinde baz eşleşmesi yapmasını engeller ve olasılıkla DNA polimerazı onarımı yapılacak bölgeye yönlendirir.

Son olarak DNA pol.I ve ardışık olarak DNA ligaz oluşan aralığı doldururlar.

Timin dimeri



Gelişmiş yapılı organizmaların hücrelerindeki nukleotid kesilip çıkarma onarımının temel özellikleri *E. coli*'ninkiyle aynıdır.

Fakat zarar görmüş bölgenin bulunma, kesilme doldurma süreci daha karmaşıktır.

Süreçte en az 25 polipeptid rol oynar.

(UvrA'nın işlevini yapan) XPC sarmaldaki bükülmeleri bulur.

Oluşan tek iplikli kabarcık yapısında (UvrB'nin karşılığı olan) XPA ve XPD proteinlerinin helikaz aktivitesi ve tek ipliğe bağlanan protein (RPA) iş görür.

Bu oluşum zarar gören yerin 5' tarafında ERCC1-XPF nukleaz için ve 3' tarafında da (UvrC'nin işlevini yapan) XPG nukleaz için kesme yerleri yaratır.

Meydana gelen 24-32 nükleotid boyundaki tek iplikli parça yok edildikten sonra, aralık DNA pol. δ veya ϵ ve ardışık olarak DNA ligaz tarafından doldurulur.

UVR proteinleri UV ışık tarafından meydana getirilen zararın yok edilmesindeki işlevleriyle tanımlanmışlardır.

Gerçekten de, *uvr* genlerinde mutasyon taşıyanlar UV ışığa duyarlıdırlar ve pirimidin dimerlerini yok etme yetenekleri kaybolmuştur.

Bunula birlikte *uvr* genlerinin ilgili oldukları onarım sistemi sadece UV'nin yarattığı zarara özgü değildir.

DNA sarmalında bükülmeye yol açan herhangi bir zarara duyarlıdır.

Transkripsiyonla Bağlantılı Onarım

Nukleotid kesip çıkarma onarımı ayrıca gen anlatımı sırasında transkripsiyonu yapılan (kalıp) iplikte meydana gelen zararlı bir bölge nedeniyle ilerlemesi durdurulmuş olan RNA polimerazın işlevini geri kazanmasını da sağlayabilir.

Transkripsiyonla bağlantılı onarım olarak adlandırılan bu olay nükleotid kesip çıkarma proteinlerinin duraklamış olan RNA polimeraza tutunup birikmelerini kapsar.

Bu onarımın önemi, onarım enzimlerini DNA'da aktif şekilde transkripsiyon yapan genlerin bulunduğu yerlere odaklaması ve kalıp ipliklerdeki zararların onarılmasıdır.

Ökaryotlarda, transkripsiyonla bağlantılı onarımın merkezinde (transkripsiyon başlama kompleksinde RNA pol II ile ilişkili genel transkripsiyon faktörlerinden biri olan) TFIIH bulunur.

TFIIH transkripsiyonun başlangıcında DNA'yı çözer.

TFIIH'nın alt birimlerinden olan XPA ve XPD proteinleri esas olarak transkripsiyonda DNA kalıbının açılmasında yardımcı olmalarının yanı sıra transkripsiyonla bağlantılı nükleotid kesip çıkarma onarımı sırasında zarar gören bölgenin çevresindeki DNA'yı da çözerler.

Transkripsiyonla bağlantılı onarım sistemleri prokaryotlarda da bulunur.

Ayrıca, bu onarım ilk kez nükleotid kesip çıkarmanın değişikliğe uğramış bir biçimi olarak çıkarılmış olmakla birlikte artık baz kesip çıkarmanın da bu sistemde iş görebildiği bilinmektedir.

Bu bulgular aynı zamanda onarım sistemleri genomdaki tüm bölgelerde iş görmekle birlikte, ek olarak tanskripsiyon geçiren bölgeler için yüksek doğrulukta özel mekanizmaların gelişebildiğini de ortaya koymaktadır.

DNA'da onarılan parçanın büyüklüğüne göre de farklı kesip çıkarma biçimleri tanımlanmıştır.

Bunlara;

- Çok kısa yama onarımı
 - Kısa yama onarımı
 - Uzun yama onarımı
- adı verilmektedir.

Bakterilerde, çok kısa yama mekanizması bazlar arasındaki yanlış eşleşmelerle ilgilidir.

Diğer ikisi nükleotidleri kesip çıkarma onarımı olup uvr genlerini kapsar.

Nükleotidleri kesip çıkarma onarımının yaklaşık %99'u kısa yama onarımıdır.

Böyle adlandırılmasının nedeni yok edilen ve sonra «yamalanan» polinükleotid bölgesinin kısa (genellikle yaklaşık 12 nükleotid boyutunda) olmasıdır.

Geriye kalan %1'lik uzun yama aktivitesinde çoğunlukla yaklaşık 1500-2000 nukleotidlik büyük DNA parçalarının değiştirilmesi söz konusudur.

İki onarım tipi arasındaki temel farklılık, kısa yama onarımının bakteri hücrelerinin sürekli bir işlevi, uzun yama onarımında ise oluşan zarar taafından uyarılmanın gerekliliğidir.

Uzun yama onarımının büyük olasılıkla replikasyon çatalının yakınındaki bölgelerde bulunan kusurlar üzerinde etkili olduğu ve çok sayıda nükleotid grubunun değişime uğradığı bölgelerde yapıldığı sanılmaktadır.

Ökaryotlardaki nükleotid kesip çıkarma onarımı da genelde uzun yama olarak adlandırılır, fakat sonuçta sadece 24-29 nükleotidlik parça çıkartılır.

3. Yanlış Eşleşmeleri Düzeltme Onarımı

Replikasyon sırasında tautomerik baz değişimleri, şeker-fosfat omurgasındaki yapısal değişimler vb gibi oluşumlar nedeniyle sentezlenen ipliğe girmiş yanlış bazlar genelde DNA polimerazın 3' - 5' eksonukleaz aktivitesinin iş gördüğü bir düzeltme mekanizmasıyla ortadan kaldırılır.

Bu mekanizmayla DNA replikasyonunun doğruluğu yaklaşık 100 kat arttırılır.

Bununla birlikte, yanlış biçimde eşleşen bazlar bazen enzimin düzeltme aktivitesinden kaçabilir ve yeni sentezlenen ipliğe yanlış bir baz girebilir.

DNA polimeraz replikasyon geçiren baz çiftlerinde tahminen 10^{-7} - 10^{-8} oranında hatayı düzeltmeden bırakabilir.

Eğer replikasyon sonrasında hemen düzeltme yapılmazsa bir sonraki replikasyonu ardışık o noktada bir baz çifti değişimi biçiminde mutasyon yerleşmiş olur.

Bununla beraber bu hatalar genellikle mutasyon olarak ortaya çıkmaz; çünkü mutasyona yol açıcı replikasyon hata değeri yaklaşık 10^{-10} - 10^{-11} nükleotid olarak hesaplanmıştır.

DNA replikasyonunun doğruluğunun en son sorumlusu, replikasyon tamamlandıktan sonra yapılan,
Yanlış Eşleşmeleri Düzeltme Onarımıdır.

Ya da özel adlandırmayla *Hex Onarımı* veya *Mut Onarımı*

Bu sistem yanlış eşleşmeleri bulup onları onararak DNA sentezinin doğruluğunu ek olarak 2-3 kat arttırır.

E. coli'de birkaç proteinden (Mut proteinleri) oluşan bir kompleksin bu yanlış eşleşmeleri replikasyondan sonra yok ettiği bilinmektedir.

Onarım sürecinde, önce MutS protein dimeri DNA'yı tarar ve yanlış eşleşmeyi DNA omurgasında yol açtığı bükülmeden bulur.

MutS'nin bu bölgeyi kuşatmasıyla oluşan MutS-DNA kompleksi, onarım sisteminin ikinci proteini olan MutL'nin katılımını sağlar.

MutL de yanlış eşleşmenin olduğu yerin yakınında bir iplikte bir çentik meydana getirecek olan MutH enzimini aktifleştirir.

MutH, yeni sentezlenmiş iplikte yanlış eşleşmenin 5' veya 3' tarafında kesme yapar.

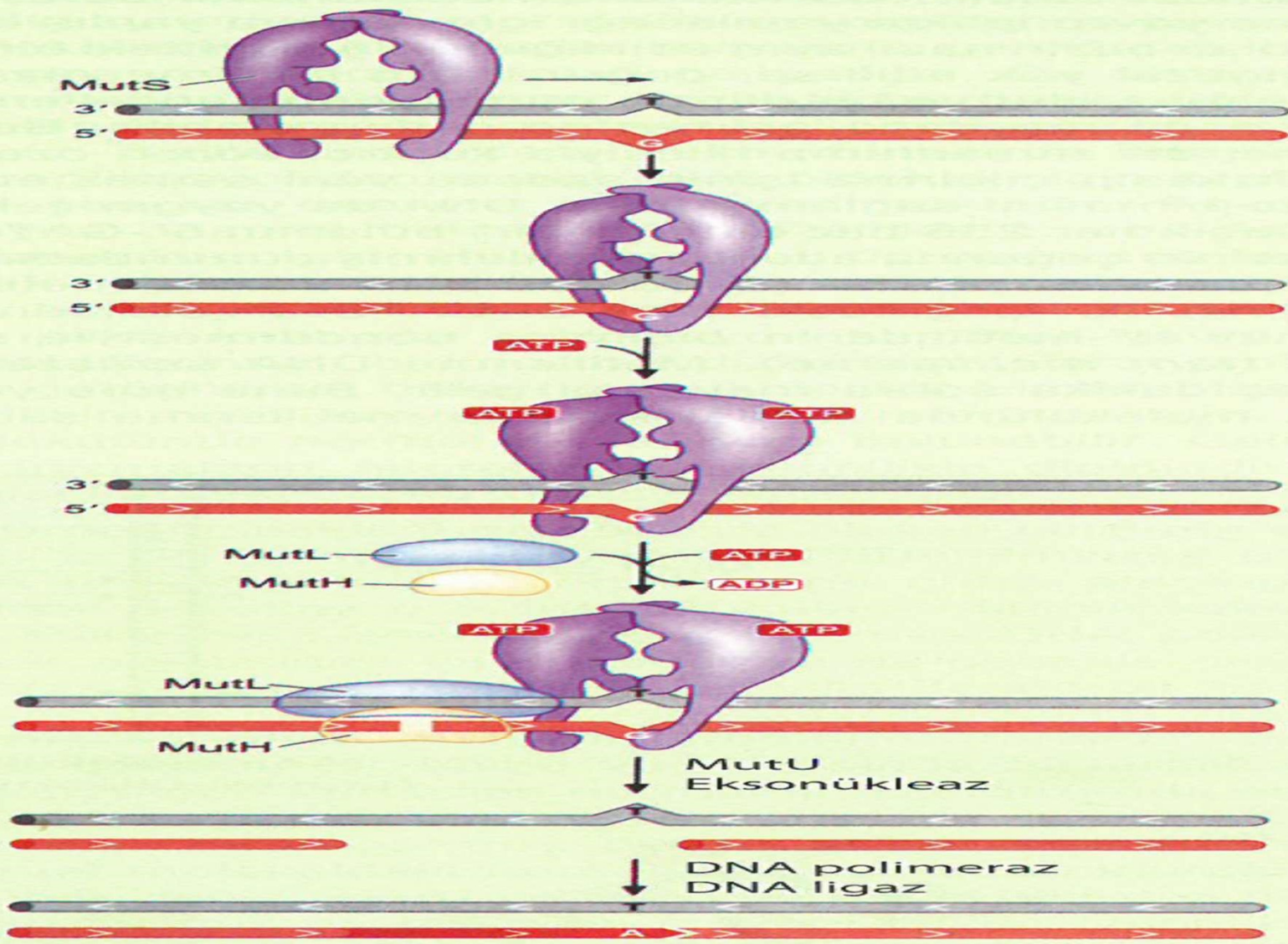
Kesme yerleri yanlış eşleşmeden 1000-2000 bp uzaklıkta olabilir.

Çentik oluşumunu özel bir helikaz olan MutU'nun DNA'yı çözmesi ve eksonukleazın da iplikteki bir bölgeyi yok etmesi izler.

Eğer, MthI kesmeyi yanlış eşleşmeni 3' tarafında yapmışsa eksonukleaz VII veya RecJ DNA'yı 5'-3' yönünde yok eder.

Kesme 5' tarafta yapılmışsa parça DNA eksonukleaz I veya VII tarafından 3'-5' yönünde yok edilir.

Meydana gelen tek iplikli oldukça büyük aralık DNA pol. I veya III tarafından doldurulur ve DNA ligazla kapatılır.



Bu onarım sisteminde hem yanlış eşleşmelerin hızlı biçimde bulunması hem de çok doğru biçimde düzeltilmesi gerekir.

Ancak, replikasyon sırasında sentezlenen ipliğe yanlışlıkla girmiş olan bazlar kimyasal yapı bakımından farklı değildir.

Bu nedenle bu onarım sisteminde (DNA'daki yapısal değişimleri baz ya da nükleotid kesip çıkarma onarımlarından farklı olarak) ana veya yeni iplik arasında doğru baz eşleşmesinin olmaması tanınır.

Bu mekanizmada önemli soru, düzeltme yeni iplikte yapılacağı için, yapıya yanlış katılmış olan bazın nasıl ayırt edileceğidir.

Eğer çiftteki bir baz gelişigüzel yok edilirse, doğru bazı seçilme olasılığı yarı yarıya olur ve bu durum mutasyonun engellenmesine değil meydana gelmesine neden olur.

Bunun yerine, bir zamanlama mekanizmasıyla kontrol edilen özel bir işaret kesip çıkarma işinin sadece yeni sentez edilen iplikte olmasını sağlamaktadır.

DNA'da yaygın şekilde (yaklaşık her 256 bç'inde bir) bulunan 5'-GATC-3' dizilerinin çoğunda A metillenmiş durumdadır.

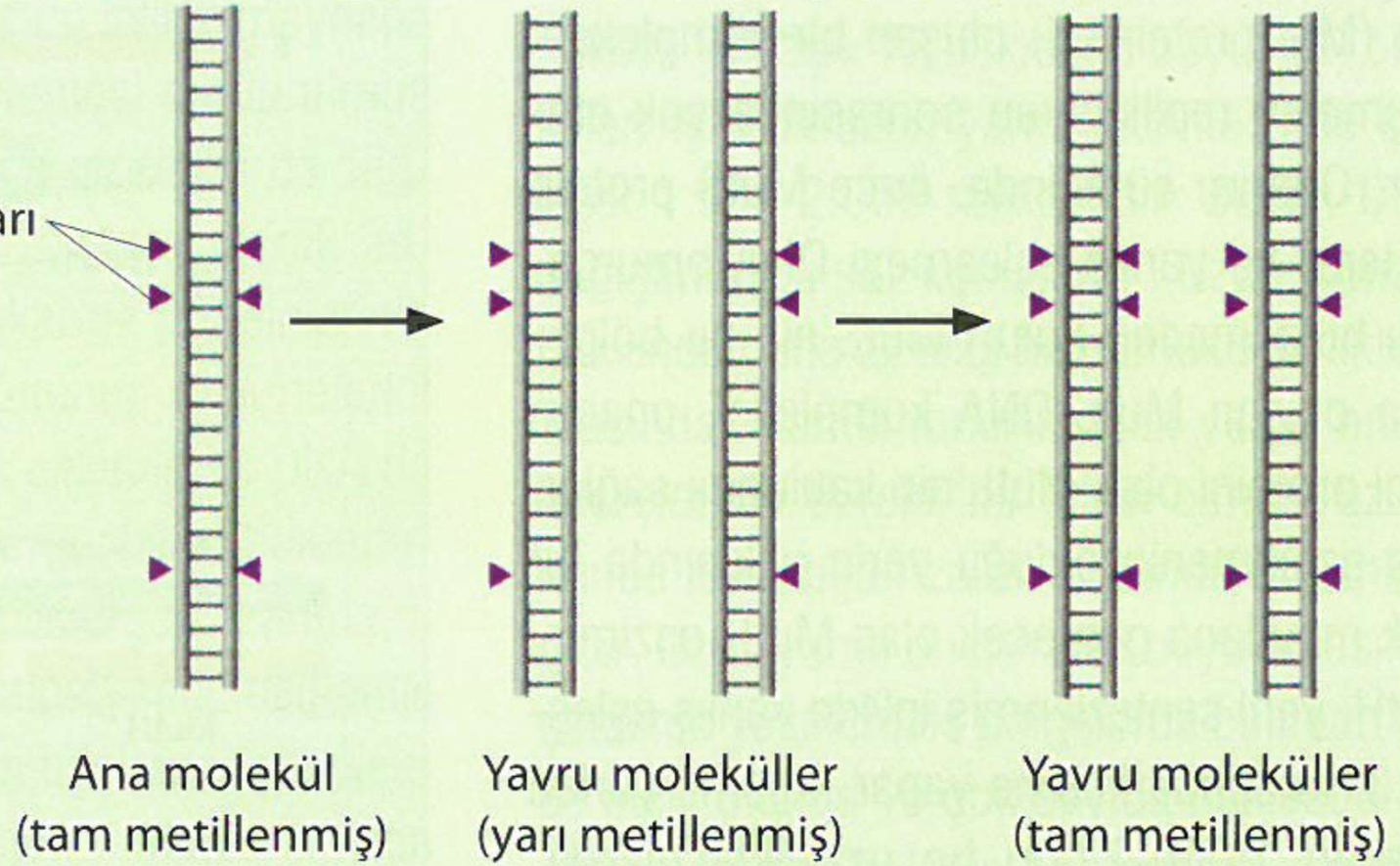
Bu değişim bir metilazın DNA'nın iki ipliğindeki tüm 5'-GATC-3' dizilerindeki Adenini N⁶-metiladenin biçimine döndürölmesiyle sağlanır (tam metillenme).

Metillenme DNA sentezinden birkaç dakika sonra meydana gelir.

Buna göre yeni DNA molekülünde ilk dakikalarda metillenme sadece bir ipliktedir (yarı metillenme)

(a)

Metil grupları

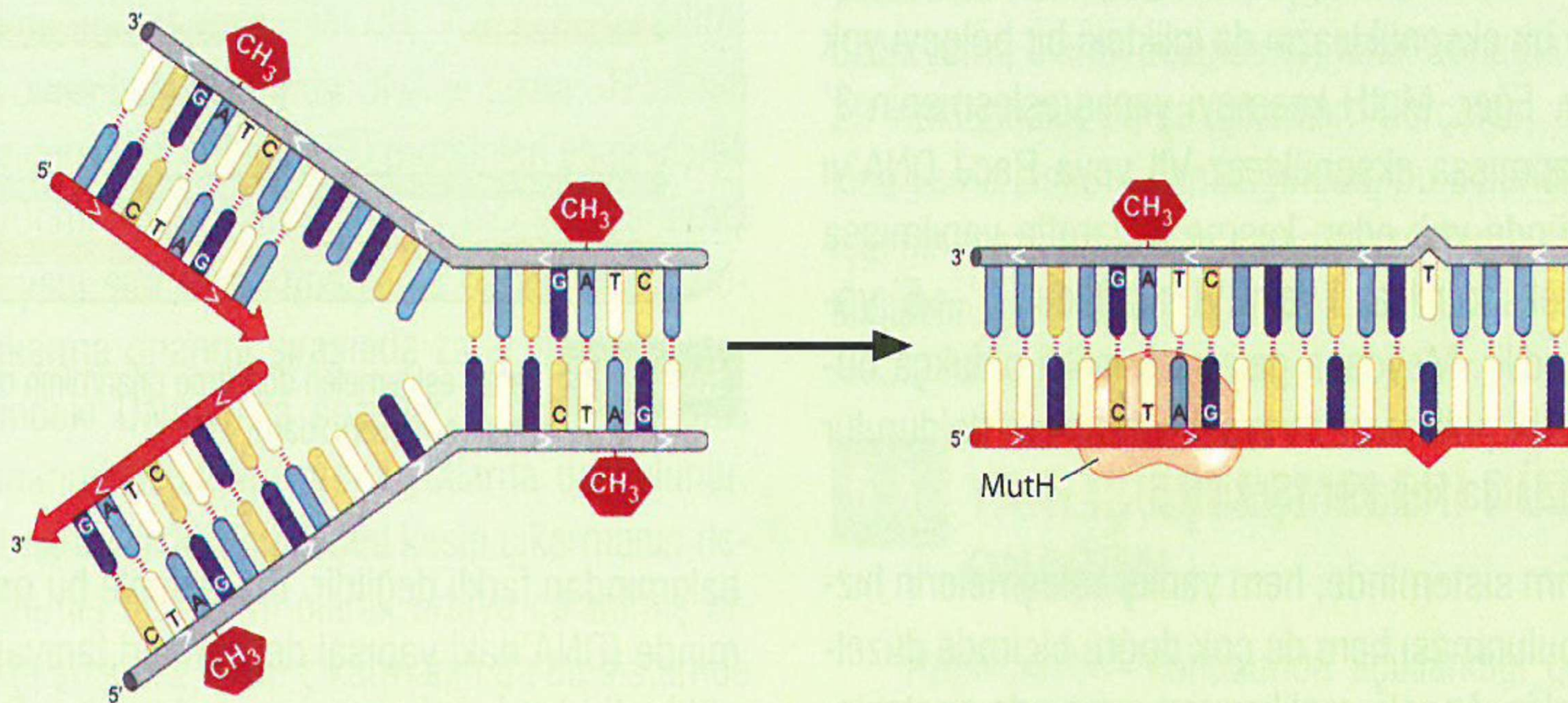


Bu geçici yarı metillenmeyle, yeni sentezlenmiş iplik (metil gurubu taşınamaması nedeniyle) onarımı yapılacak iplik olarak tanınabilir.

Onarımda ilk kesmeyi yapan MthH proteininin 5'-GATC-3' ye özgü endonukleaz aktivitesi vardır.

Yanlış eşleşmenin 5' veya 3' tarafındaki yarı metillenmiş 5'-GATC-3' yerlerindeki henüz metillenmemiş ipliğe bağlanır.

(b)



Yanlış eşleşmenin yakınında yerleşmiş MutL ve MutS ile etkileşime girdiğinde aktifleşir ve seçici olarak metillenmemiş iplikte endonukleaz aktivitesiyle çentikler oluşturur.

Yanlış eşleşmeleri düzeltmede iş gören enzimler sadece yanlış eşleşmiş bazları değil aynı zamanda az sayıda baz eklenmelerini ve kayıplarını da tanırırlar, böylece baz değişimleri kadar çerçeve kayması mutasyonlarını da engellerler.

Gen dönüşümünün moleküler mekanizması da bu sisteme dayanır

4. Rekombinasyon Onarımı

Kesip çıkarma onarımında, DNA'da zarar görmüş parçanın değiştirilmesinde tamamlayıcı iplik kalıp olarak kullanılır.

Fakat bazen böyle bir kalıp bulunamaz.

Örneğin, daha kesip çıkarma onarımı yapılmadan yeni bir replikasyon başlamışsa zarar görmüş baz(lar)ı taşıyan ipliğin kalıp olarak kullanımında zorluklar ortaya çıkar.

Ayrıca, eğer tamamlayıcı ipliklerde karşılıklı 2 baz değişikliğe uğramışsa ikisi de birbirini için kalıp görevi yapamaz.

Bundan başka, ikili sarmalda tam karşılıklı noktalarda kırılma (çift iplik kırığı) olabilir.

Sarmalın 2 parçaya ayrılmasına neden olduğu için çift iplik kırıklarının ciddi etkisi vardır.

Kırık uçların parça kayıplarına yol açacak başka yıkımlardan korunması gerekir.

Bu korunmanın sağlanmadığı durumda zarar gören bölgedeki genetik bilgi tamamen kaybolabilir.

Bu sistemde onarım, hücredeki benzer özellikteki bir başka DNA molekülünden parça alınmasıyla (rekombinasyon) yapılır.

Böyle onarımlara, **Rekombinasyon Onarımı** ya da replikasyondan sonra etkili oldukları için **Replikasyon Sonrası Onarım** adları verilmektedir.

Örneğin ipliklerden birinde oluşan bir T dimerinin kesip çıkarma onarımıyla düzeltilmemiş olduğu DNA molekülünde bir replikasyon çatalı oluştuğunda yapısal bozulma o bölgedeki kusurlu ipliğin kalıp olarak kullanımını engeller.

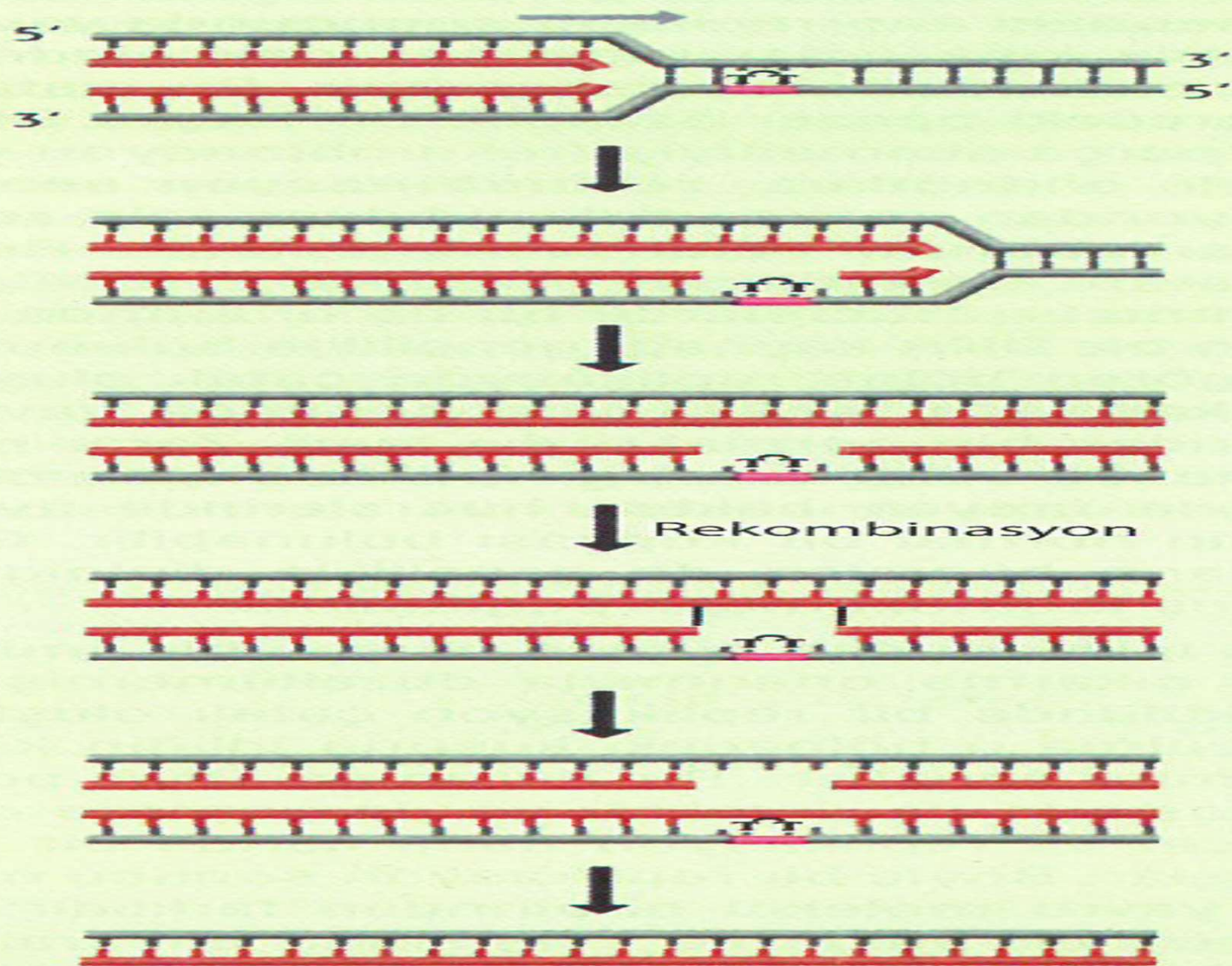
Bu durumda DNA pol. dimer noktasında ya duraklar ya da genelde orayı atlayarak ve replikasyon daha ileride bir noktada yeniden başlar.

Böyle bir replikasyon sonucu meydana gelmiş 2 yavru molekül birbirinden farklıdır.

Birinde zarar görmüş bölge ve karşısında bir aralık bulunurken diğeri tamamen normaldir.

Bu durumda onarım sistemi sağlam molekülden yararlanır.

Moleküllerden birinde zarar görmüş bölgenin karşısındaki boşluk normal moleküldeki homolog bölge ile doldurulur.



DSB Onarım Yolu

DNA'da meydana gelen değişiklikler arasında en önemli olumsuz sonuçlara yol açan etkenlerden biri çift iplik kırıklarıdır.

Replikasyon geçirmekte olan DNA molekülü ipliklerinden birinde onarılmamış bir kırık içeriyorsa bu durumda replikasyon yavru DNA'ların birinde çift iplik kırığına neden olur.

O noktadan sonra replikasyon çatalı kaybolur ve replikasyon sadece bir iplikte devam edebilir.

Bu durumda kullanılan onarım mekanizması, **Çift İplik Kırığı** (Double Strand Break, DSB) **Onarımı** olarak adlandırılır.

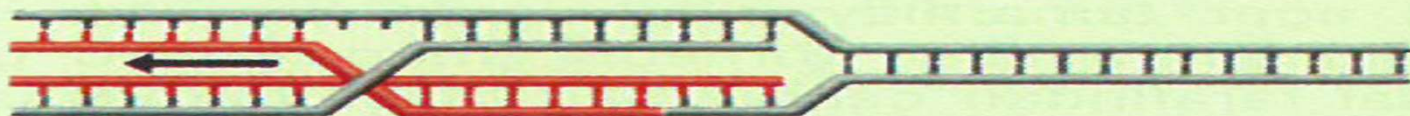
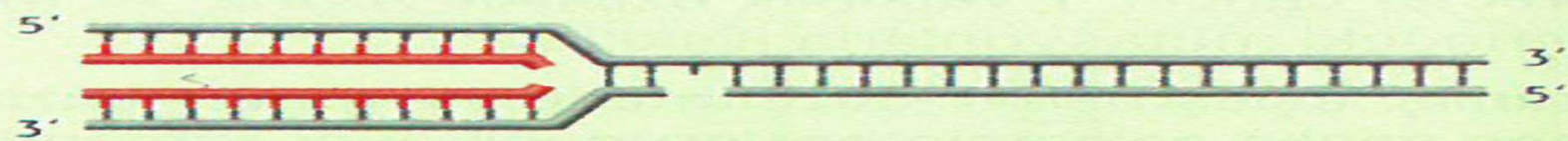
Organizmaların çoğunda çift iplik kırıklarının onarımında 2 yol vardır.

Homolog Uç Birleşmesi

Çift iplik kırığı onarımının bu tipinde, çift iplik kırığı taşıyan molekülle zarar görmemiş bir molekül arasında gerçekleşen rekombinasyon mekanizması kullanılır.

Homolog uç birleşmesi, hücrelerde aynı DNA sarmalından iki kopya bulunabilme özelliğinden yararlanır.

Sağlam DNA çift sarmalındaki dizi bilgisi bir homolog rekombinasyon (genel rekombinasyon) mekanizması ile çift iplik kırığı olan taşınır.



Çift iplik kırıklı moleküldeki iplikler iki DNA molekülü arasındaki karşılıklı iplik değiş tokuşu reaksiyonu ile uzatılır.

Homolog uç birleşmesi eşleşen DNA dizilerini tanıyan ve onları bir araya getiren özel rekombinasyon proteinlerinin gerektirir.

Bu onarım sistemi bakterilerde *RecBCD* yoluyla gerçekleşir.

Ökaryotlarda da rekombinasyonla yapılan homolog uç birleşmesi onarımında iş gören bazı proteinlere ait genler tanımlanmıştır.

Bu onarım genlerinin çoğu Rad gen ailesinin üyeleridir.

Homolog Olmayan Uç Birleşmesi

Yapısında kırıklar oluşmuş DNA molekülünün hücrede eşi bulunmadığı zaman çift iplik kırığı onarım yolu iş görmez.

Ökaryotik bir kromozomda hücre çevriminin erken aşamasında kırıklar oluştuğunda onarım için farklı bir mekanizma kullanılır.

Bu mekanizma homolog rekombinasyonu içermez.

DNA'nın iki ucu kırık uçlardan dışarı doğru çıkıntı yapan tek ipliklerin karşı karşıya gelmeleriyle doğrudan birbirlerine bağlanırlar.

Tek iplikler birbirlerine çok az sayıdaki tamamlayıcı bazlar arasında eşleşmelerle bağlanabilir.

Daha sonra, tek iplikli kısımlar nukleazlar tarafından yok edilir ve aralıklar DNA pol. tarafından doldurulur.

Homolog olamayan uç birleşmesinde iş gören genler, bakterilerde, mayalarda ve insanlarda çok korunmuş bir protein ailesine ait çok alt birimli bir protein kompleksini belirler.

Kompleksteki **Ku proteinleri** DNA'ların kırık uçlarının birleştirir.

Onları proteazlardan korur ve diğer onarım proteinlerinin toplanmasını sağlar.

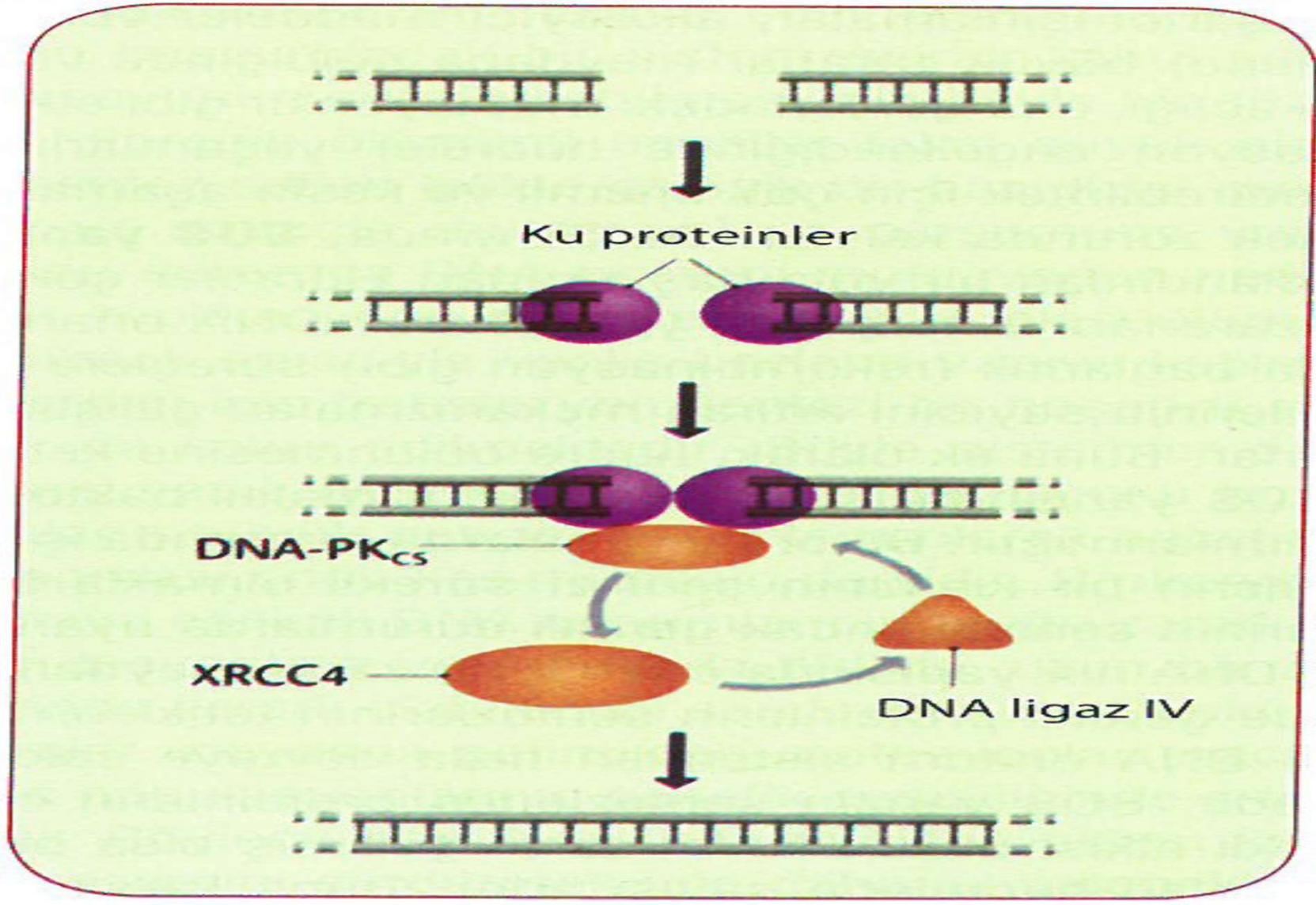
Her kompleksete Ku proteinin 2 kopyası bulunur.

Sadece kırık uçlarda iş gören bu proteinlerin her kopyası DNA'nın bir kırık ucuna bağlanır.

Ku proteinlerinin birbirlerine olan ilgisi nedeniyle bu bağlanmalar DNA molekülünün kırık iki ucunun birbirine yaklaştırır.

Memelilerde Ku proteini DNA'ya özel bir protein kinaz (DNA-PK_{cs}) ile birlikte bağlanır.

Bu aşamada aktifleşen XRCC4 proteini, çift iplikli kırığını onaran bir protein olan DNA ligaz IV ile etkileşime girerek sürecin tamamlanmasına yol açar.



Homolog olmayan uç birleşmesi fazla etkin olmayan bir süreçtir

Kırılmanın başlangıçta meydana geldiği yerde birkaç baz çiftinden birkaç kb'a kadar değişen boyutta kayıpların oluşumuna yol açabilir.

Bu nedenle hataya eğilimli bir onarım sistemidir.

SOS Yanıt

Hücreler bulundukları ortamdaki büyük çaptaki değişikliklere karşı çoğu kez bazı gen serilerinin anlatımını harekete geçirirler ve böylelikle bu genlerin ürünleri olan proteinlerin yardımıyla değişimlerin yol açacağı zararlardan korunmayı hedeflerler.

Tüm hücrelerde başvurulan korunma yollarından biri, yüksek sıcaklıkta bırakılan hücrelerde ısı şoku yanıtıdır.

Bu süreçte sentezleri uyarılmış olan ısı şoku proteinleri, hücrede denatürasyona uğramış diğer proteinlerin kararlılıklarını ve onarımını sağlarlar.

Aynı şekilde, DNA moleküllerinde (iyonlaştırıcı ışınlamalar, alkilleyici maddeler vb) büyük zarar meydana geldiğinde ve/veya (timin açlığı, dna genlerindeki mutasyonlar gibi etkilerle) replikasyon engellendiğinde hücreler yaşamlarını devam ettirebilmek için çok önemli ve kesin aşamalardan geçmek zorunda kalırlar.

Bu durumda, **SOS Yanıt** olarak adlandırılan bir yola başvurulur.

Hücreler çok ciddi DNA zararlarına karşı acil yanıt olarak DNA onarımı ve onunla bağlantılı (rekombinasyon gibi) süreçlere ilişkin enzimlerin sayısını arttıran mekanizmaları aktive ederler.

Buna ek olarak hücre bölünmesine ket vurulur.

Bakterilerde onarımda iş gören enzimlerin bir kısmının sentezi sürekli olmakla birlikte bazılarının sentezi ancak gerekli durumlarda uyarılmaktadır.

DNA'nın yapısında önemli bir zarar meydana geldiğinde gerekli proteinlerin sentezinin tetiklenmesiyle çeşitli DNA onarım sistemleri hızla devreye sokulabilmektedir.

SOS yanıtta sentezlenen proteinlerin canlıya 2 farklı etkisi olur.

- * DNA'sı zarar görmüş olsa bile hayatta kalan hücrelerin sayısı artar.
- * Buna karşılık, DNA replikasyonunda yapılan yanlışlık oranının artmasıyla mutasyon sıklığı da yükselir.

Translezyon Sentezi

Genomda çok büyük çaplı hasarlar meydana geldiğinde hatasız iş gören onarım sistemleri tam etkinlikle çalışamazlar.

Onarım sistemlerinin başa çıkmakta zorlandığı bu durumda hücre 2 seçenekle karşı karşıya kalacaktır.

- Ölüm
- Replikasyonu sürdürmek

E. coli'deki çalışmalar hücrelerin 2. yolu seçtiklerini ve sonuçta mutasyona yol açsa da, zarar görmüş bölgelerde replikasyonu hata yapabilen tipte sürdürdüklerini ortaya çıkarmıştır.

Özellikle DNA'da biçimsel değişimlere yol açan zararlar onarılamadan replikasyon başladığında, DNA polimerazın böyle bölgelerde ilerlemesi engellenir.

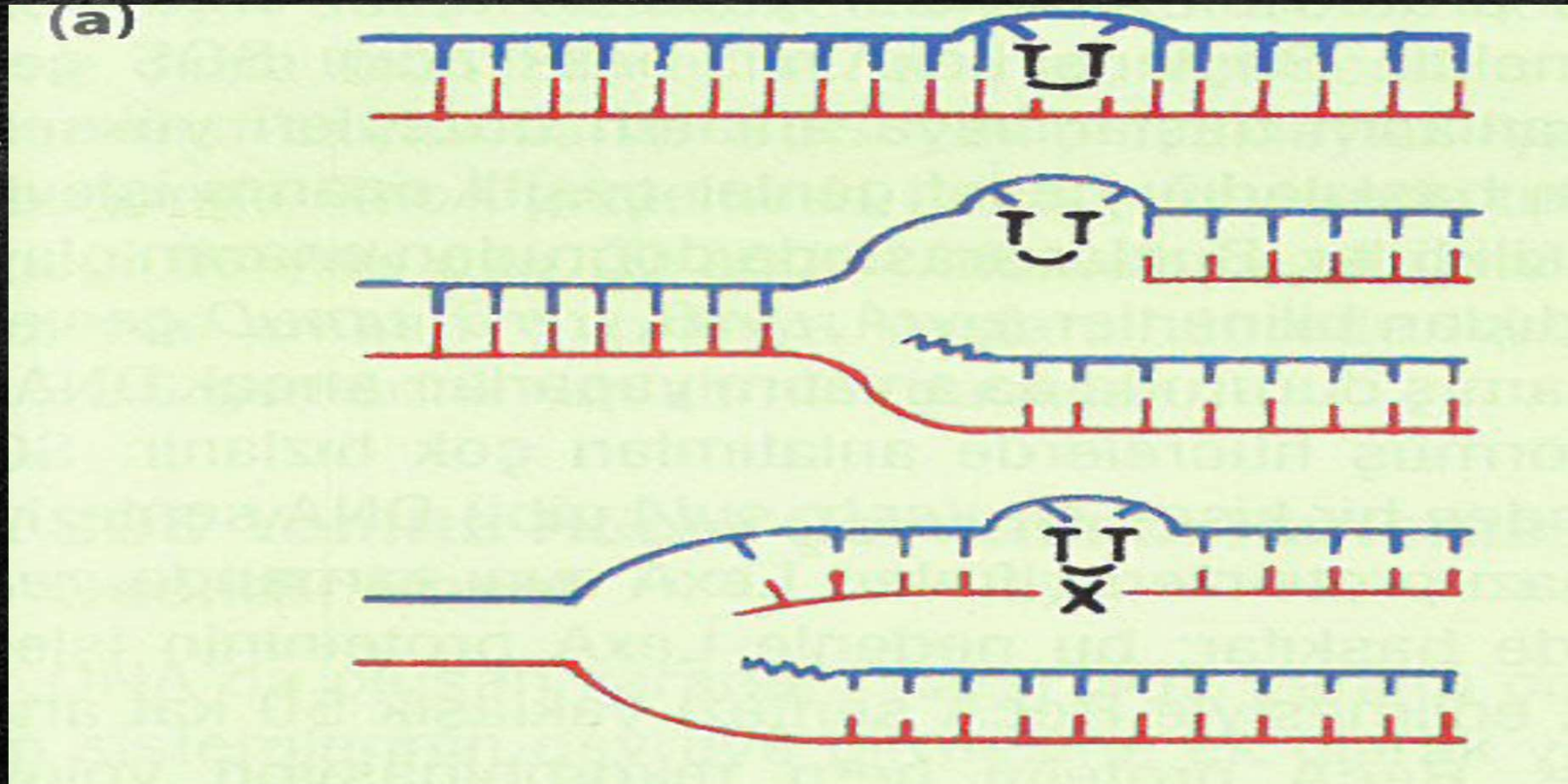
Bu durumda izlenen bir yol; enzimin o bölgeyi atlayıp belli bir uzaklıkta yeniden sentezi sürdürmesidir.

Ayrıca, replikasyon aygıtının bu bölgeyi atlamadan kopyalamayı sürdürmesine olanak veren bir yol da geliştirilmiştir.

Translezyon sentezi ya da Aşıma sentezi olarak adlandırılan bu mekanizma replikasyon aygıtının zarar görmüş bölgede de sentezi devam ettirmesi sağlanmaktadır.

Çalışması sırasında hata yapabilen bir mekanizma olmakla birlikte, replikasyonun ve sonuçta hücre yaşamının sürdürülmesine olanak verir.

Translezyon sentezinin gerekli olduğu bir örnek olarak; DNA'da meydana getirdiği bükölme vb yapısal değişimler nedeniyle baz eşleşmesinin hiç yapılmamasına neden olan pirimidin dimerleri oluşumu verilebilir.



Zarar görmüş yerlerin translezyon senteziyle aşılması bir **mutazom** oluşumunu gerektirir.

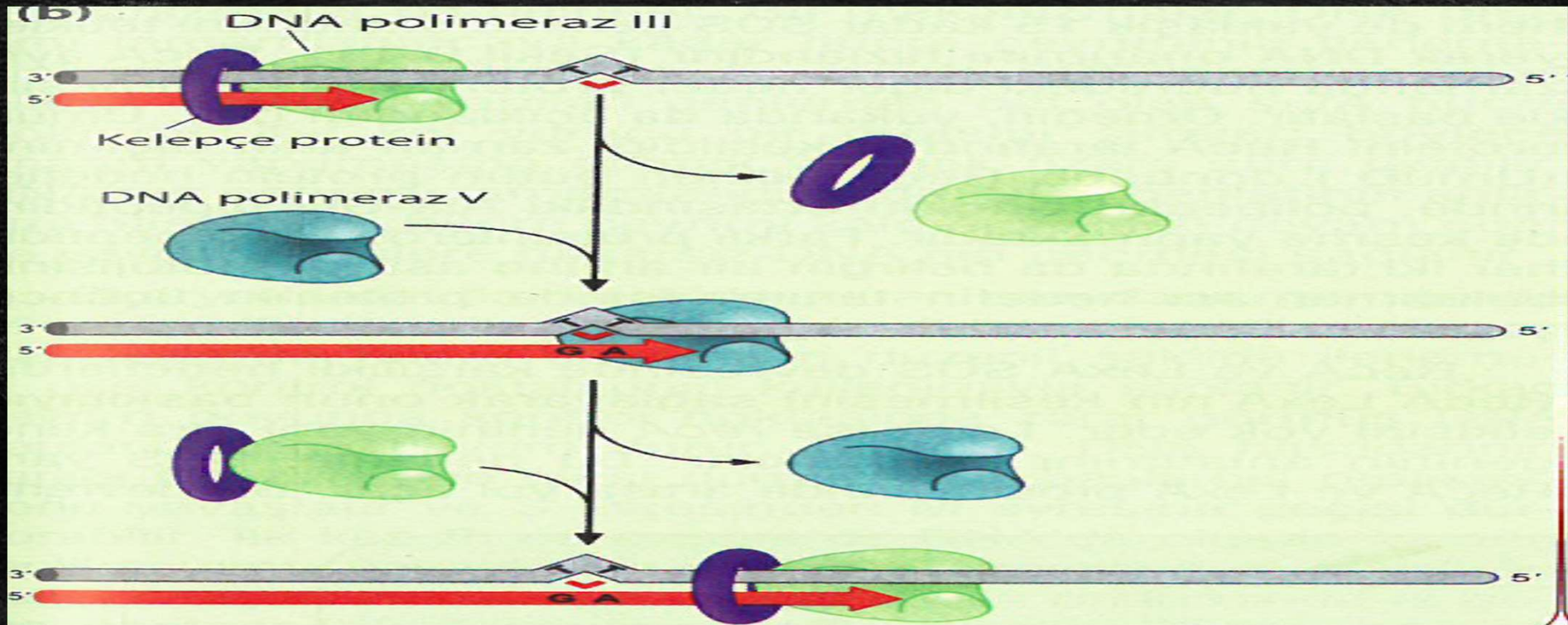
E. coli'deki mutazom, bir DNA pol V enzimi (UmuD₂C kompleksi) ile RecA proteinin çok sayıda kopyasını içerir.

DNA pol V'in katalitik alt birimi olan UmuC çok sayıda organizmada bulunan ve γ -ailesi olarak bilinen farklı bir DNA polimeraz ailesinin üyesidir.

Bu polimerazların önemli bir özelliği, bir kalıba bağlı olmakla birlikte, bazıları eşleşme yapılmasına gerek duymadan yapıya katmalarıdır.

Bu nedenle işlevleri sırasında hata yapabilirler.

DNA pol V DNA'da zarar görmüş olan ve DNA pol III'ün aktivitesinin engellendiği bölgelerin replikasyonunu gerçekleştirir.



Translezyon sentezi SOS yanıtının bir parçası olarak meydana gelir.

Bu nedenle, translezyon polimerazları normal koşullarda hücrede bulunmazlar.

Bu proteinlere ait genler sadece DNA'da önemli zararların meydana geldiği ve onarım için doğrudan kalıp bulunmadığı durumda anlatım yaparlar.

Ayrıca, translezyon sentezi, yüksek derecede hataya eğilimli olması nedeniyle en son başvurulacak bir sistem olarak kabul edilebilir.

İnsanlarda Onarım Kusurları ile Hastalıklar Arasındaki İlişkiler

Adı	Gen	Ürün	Etkilenmiş Enzim ya da Süreç	Başlıca belirtileri
<i>Xeroderma pigmentosum</i> (A-G grupları)	XPA XPB XPC XPD XPE XPF XPG	DNA'daki hasarı tanıyan protein 3'→5' helikaz DNA'daki hasarı tanıyan protein 5'→3' helikaz DNA'daki hasarı tanıyan protein Nükleaz, 3' kesme Nükleaz, 5' kesme	Nükleotid kesip çıkarma	Deri kanseri, UV duyarlılığı, nörolojik bozukluklar
<i>Xeroderma pigmentosum V</i>	XPV	DNA polimeraz η	Translezyon sentezi	UV duyarlılığı
<i>Trikotiyodistrofi</i>	TTDA	Temel transkripsiyon faktörü, TFIIF	Transkripsiyonla bağlantılı nükleotid kesip çıkarma onarımı	UV duyarlılığı, nörolojik bozukluklar, zeka geriliği
<i>Cockayne Sendromu</i>	CSA (ERCC8) CSB (ERCC6)	DNA kesip çıkarma onarım proteini DNA kesip çıkarma onarım proteini	Transkripsiyonla bağlantılı kesip çıkarma onarımı	UV duyarlılığı, nörolojik ve gelişimsel bozukluklar, erken yaşlanma
<i>Lynch sendromu</i> (HNPCC)	MSH2, 3 ve 6 MLH1 ve 3 PMS1 ve 2	Yanlış eşleşme onarım proteinleri	Yanlış eşleşmeleri düzeltme onarımı	Bağırsak kanseri yatkınlığı
<i>Louis-Bar Sendromu</i> (Ataksi telanjiektazi)	ATM	Serin/treonin kinaz	Çift iplik kırıkları tarafından aktive edilen bir protein kinaz	Lösemi, lenfoma, meme ve yumurtalık kanseri yatkınlığı, γ ışını duyarlılığı, genom (kromozom) kararsızlığı, nörolojik bozukluk, kanserlere yatkınlık
<i>Bloom sendromu</i>	BLM	BLM RecQ helikaz	DNA helikaz yardımcı faktörü	Büyüme ve zeka geriliği, genom (kromozom) kararsızlığı, çeşitli kanserlere yatkınlık
<i>Werner sendromu</i>	WRN	WRN RecQ helikaz	3' eksonükleaz ve DNA helikaz yardımcı faktörü	Erken yaşlanma, nörolojik bozukluk, genom (kromozom) kararsızlığı, çeşitli kanserlere yatkınlık
<i>Rothmund-Thomson sendromu</i>	RECQL4	RecQ helikaz L4	Çift iplik kırıkları ve çapraz bağ onarımı	Genom (kromozom) kararsızlığı, mikrosefali, kanser yatkınlığı
<i>Nijmegen kırılma sendromu</i>	NBS1	DNA'daki çift iplik kırıklarını tanıyan protein	Çift iplik kırıkları onarımı	Mikrosefali, çapraz bağ oluşturan etkenlere duyarlılık, genom (kromozom) kararsızlığı, lenfoma yatkınlığı
<i>Fanconi anemisi</i>	FANC (~15 gen)	Replikasyonla ilişkili çapraz bağları tanıyan proteinler	DNA iplikleri arasındaki çapraz bağ onarımı	Genom (kromozom) kararsızlığı, zeka geriliği, lösemi yatkınlığı
<i>Spinocerebellar ataksi</i>	TDP1	Tirozil fosfodiesteraz 1	Tek iplik kırıkları onarımı	Hareketlerde bozukluk, beyincikte körelme