

Bakterilerde Genetik Madde Aktarımı

Doç. Dr. İnci Başak Müştak

Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Mikrobiyoloji ABD

Genetik madde aktarımı (Doğal gen transferi)

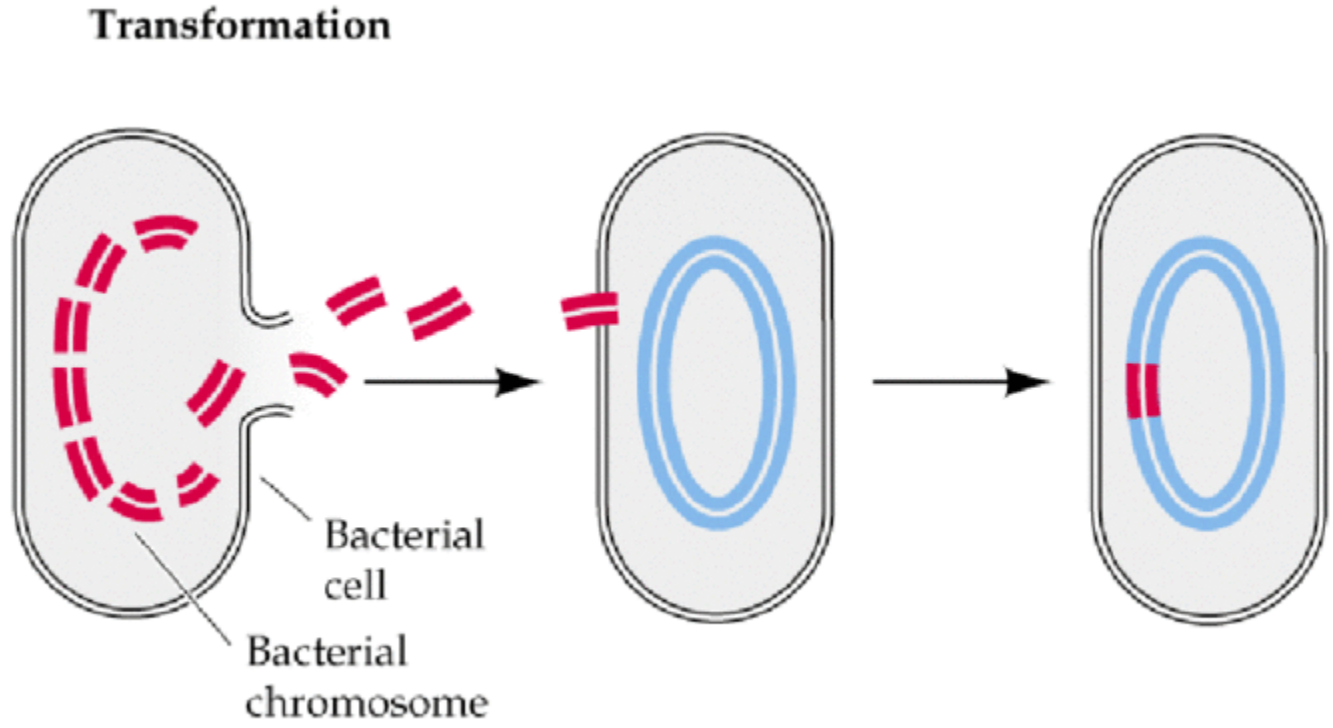
1. Transormasyon
2. Konjugasyon
3. Transdüksiyon

Transformasyon

- Bazı bakterilerde genetik bilginin rekombinasyonu transformasyon ile sağlanır
- Hücre dışından küçük bir DNA parçası canlı bir bakteri tarafından alınır ve alıcı hücrede kalıcı genetik değişikliğe neden olur
- İki temel aşamadan oluşur;
 1. Alıcı hücreye DNA'nın girişi
 2. Alıcı kromozomdaki homolog bölge ile verici DNA'nın yer değiştirmesi

1. DNA'nın girişi bakteri hücre yüzeyindeki sınırlı sayıdaki reseptör bölgelerden gerçekleşir
2. Hücreye girdikten sonra DNA molekülünün iki ipliğinden biri nükleazlar ile kesilir ve tek iplik kalır
3. Kalan DNA ipliğİ bakteri kromozomundaki tamamlayıcı DNA bölgesi ile karşı karşıya gelir. DNA parçası kromozomdaki homolog bölge ile yer değıştirir ve kromozomun bu kısmı çıkarılarak parçalanır
4. Kromozoma yabancı DNA katıldıktan sonra oluşan rekombinant bakteri DNA bölgesinde, artık konak kromozom DNA'sına ait bir iplik ve bir mutant DNA ipliğİ bulunur. Bir replikasyon döngüsünde bir iplikte orijinal DNA bulunurken diğeri mutant geni taşır. Hücre bölünmesi sonunda bir mutant olmayan (transforme olmamış) hücre ve bir de mutant (transforme olmuş) hücre oluşur

Transformasyon



Permission pending from Sinaur Associates, Inc.

İn-vivo

- Griffith Deneyi

Transformasyon için gerekli şartlar

- Bakterilerde antijenik yakınlığın olması
- DNA'ları arasındaki homoloji
- Alıcı hücrenin kompetent (DNA parçasını alabilecek kabiliyete, permeabiliteye sahip) olması
- DNA'nın moleküler ağırlığı ve yapısı (çift iplikçikli)
- Alıcı hücrenin yüzeyinde adsorpsiyon ve penetrasyon için gerekli reseptörlerin bulunması

Transformasyon ile;

- Laktoz ve galaktoz pozitif genler aktarılabilir
- Antibakteriyel maddelere karşı dirençlilik kazanılabilir
- Çeşitli virulens genlerinin alıcı bakteriye aktarımı gerçekleşebilir
- Bakterilerin kromozom haritaları belirlenebilir

Konjugasyon

- Genetik bilginin bir bakteriden diğesine aktarımı ve diğ bakterininki ile rekombinasyonudur
- Verici hücre DNA'sının tümünün veya bir segmentinin, bu iki hücrenin direkt teması ya da seks pilusları aracılığıyla gerçekleşir

Konjugasyonla aktarılabilen ekstrakromozomal genetik elementler

- Fertilité faktörü (F- faktörü)
- Dirençlilik faktörleri (R-faktörleri)
- Kolisin faktörü (Col-faktörü)

F+ ve F- Bakteriler

- Kromozomun bir bölümü için verici olan hücreye F+ hücreleri denir
- Alıcı bakteri, vericinin kromozom materyallerini alır, kendi kromozomu ile birleştirir. Bu hücrelere de F- hücreleri denir
- Kromozom aktarımı için direkt temas gereklidir

F faktörü bir hücrede;

- Bağımsız genetik element (F+), plazmid
- Konakçı DNA'sı ile birleşmiş olarak (Hfr), episom
- Bağımsız fakat konakçı DNA'sından bir parça olarak, F' prime olarak bulunabilir

- Sirküler F faktörünün alıcı hücre kromozomu ile birleşebilmesi için birbirlerine homolog bölgelerin bulunması gereklidir
- Birleşmeden önce F faktörü lineer bir durum alır ve bakteri kromozomu üzerindeki homolog bölge yanına gelir. Birleşme homolog bölgeler arasındaki tek bir kros-over ile gerçekleşir ve hfr hücreler meydana gelir
- Hfr hücre oluşumundan sonra bu faktör hücreyi seks pilusu oluşumu için uyararak sentez mekanizmasını aktive eder

- *E. coli* K 12 suşu enterobakterilerin diğer türleriyle (*Shigella*, *Salmonella*, *Serratia*, *Proteus*, vb) konjugasyon yapabilmekte
- Konjugasyon sıklığı ve alıcı hücre kromozomuna integrasyon bakteriler arasındaki homoloji ile doğru orantılıdır
- İntegrasyon olmadığı durumlarda F faktörü hücre içerisinde serbest halde (plazmid şeklinde) bulunur
- Hücre DNA'sı ile birlikte ve aynı anda senkronize replike olur

Transdüksiyon

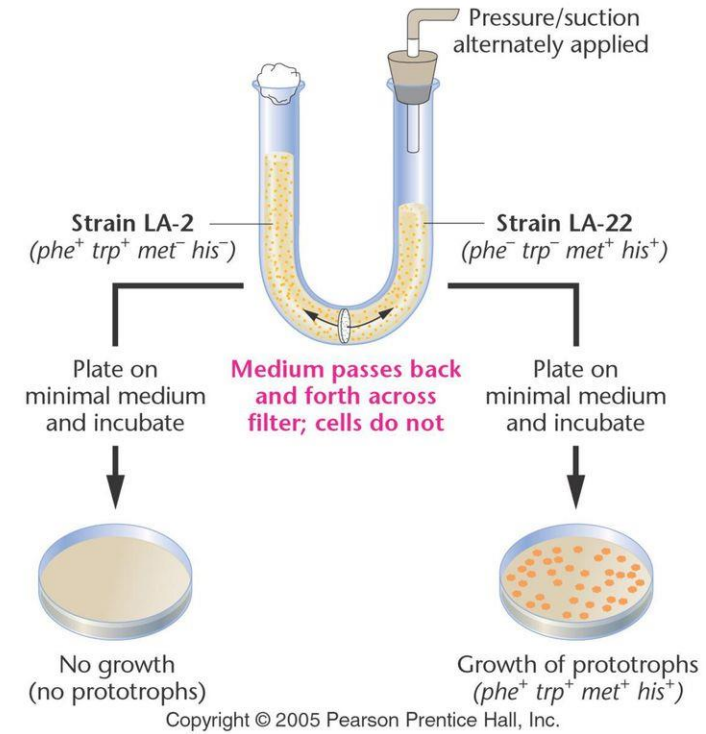
- Bakteriyofajlar aracılığı ile yapılan bir bakteriyel rekombinasyon işlemidir
- Norton Zinder ve Joshua Lederberg, 1952 *Salmonella Typhimurium* ile yapılan araştırmalar

Bakteriyofajlar

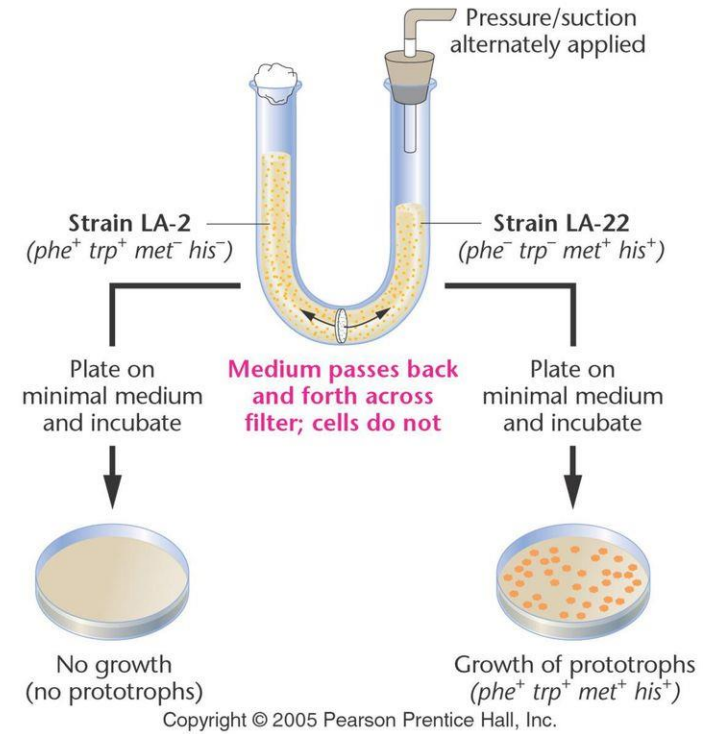
- Konak organizmaları bakteri olan virüslerdir
- Bakteriyel kromozoma katılmış viral DNA'ya **profaj** denir
- Hücreyi sadece lize eden fajlara **virulent** denir
- Profaj ihtiva eden bakteri lizojeize olmuştur ve **lizojenik** olarak isimlendirilir
- Hem stoplazmada kromozomdan bağımsız hem de kromozomun bir parçası olarak replike olabilen viral DNA bazen **epizom** olarak isimlendirilir

Lederberg- Zinder deneyi

- Bu araştırmacılar okzotrofik *Salmonella* suşları olan LA-22 ve LA-2'yi minimal beşiyerinde karıştırarak prototrof hücresel elde etmişlerdir
- LA-22, fenilalanin ve triptofan amino asitlerini sentezleyememektedir
- LA-2 ise metionin ve histidin amino asitlerini sentezleyemez
- Prototroflar ise hepsini sentezleyebilmektedir
- İlk bakışta bu rekombinasyonun kaynağı konjugasyon olarak düşünölmüştür
- Daha sonra Davis U-tüpü kullanılarak konjugasyon olmadığı anlaşılmıştır

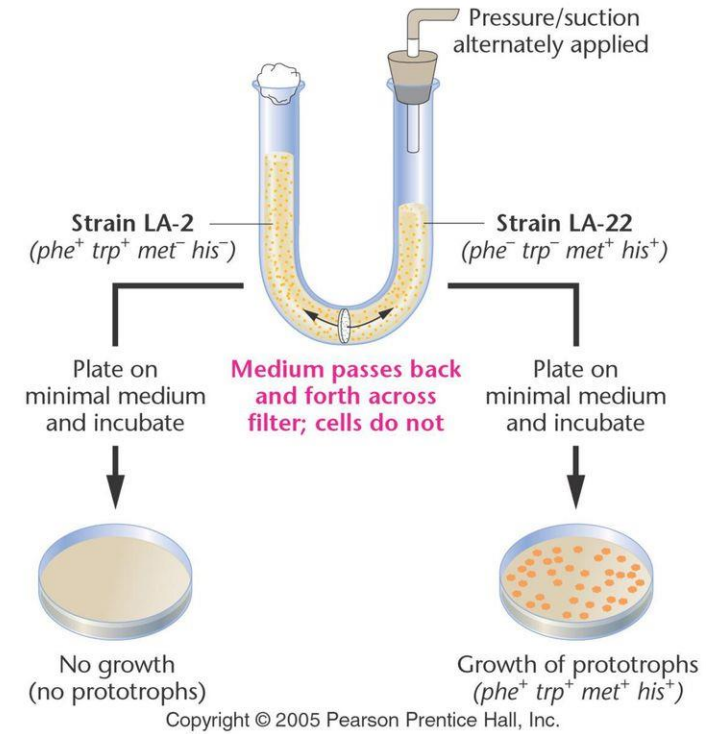


- Davis U-tüpü, bakterilerin geçemediği, ancak besiyerinin her iki tarafa geçişine izin veren cam bir filtre içermektedir
- Tüpün bir tarafına LA-22, diğer tarafına da LA-2 hücreleri yerleştirilmiştir
- Her iki taraftan da örnekler alınarak minimal besiyerine ekildiğinde sadece LA-22 bakterilerinin olduğu tarafta prototrofların çoğaldığı görülmüştür
- Eğer bundan konjugasyon sorumlu olsaydı, Davis U-tüpünün konjugasyonu tamamen engellemesi gerekirdi
- Burada genetik rekombinasyonun kaynağı LA-2 hücreleridir



LA-2 hücrelerinden bilgi filtreyi geçerek LA-22 hücrelerine nasıl aktarılmıştır?

- Bunu sağlayan faktöre filtre edilebilir ajan (FA) denilmiş ve bilgi aktarımından sorumlu olduğu düşünülmüştür
- Araştırmacılar, genetik rekombinasyon olayının, *Salmonella* LA-22 hücrelerinin kromozomunda başlangıçta profaj konumunda bulunan bakteriyofaj P22 ile yapıldığını öğrenmişlerdir
- P22 profajı nadiren litik faza geçebilir, çoğalır ve LA-22 hücrelerinden salınır
- Fajlar bakterilerden küçük oldukları için U-tüpün gözeneklerinden geçebilir
- Profaj, bakteri hücrelerinin kromozomundan ayrılırken bazen bir miktar bakteri kromozomunu da beraberinde alır.



Transdüksiyon Çeşitleri

- Özel transdüksiyon
- Generalize transdüksiyon
- Abortif transdüksiyon

Özel Transdüksiyon

- ÖT oluşturan fajlar konakçı DNA'sında belli bazı genlerin yanına yerleşirler ve hücre DNA'sı ile birleşerek **profaj** haline dönüşürler
- DNA'dan ayrılırken yanında bulunduğu veya yanına yapıştığı bakteriye ait geni de birlikte alarak ayrılırlar
- Böyle bir faj başka bir hücreyi infekte ettiğinde bu taşıdığı geni o bakteriye aktarır ve bakteriyi gende bulunan özel karakterler yönünden pozitif hale getirir

Generalize Transdüksiyon

- Bakteri hücresi içerisinde faj olgunlaşırken, parçalanan konakçı DNA'sından bir segment ayrı yerde sentezlenen faj kapsidi içerisine (fajın baş kısmı içinde) tesadüfen girebilir
- Böylece bu faj başka bir bakteriyi infekte ettiğinde, kendi DNA'sı ile birlikte konakçı DNA'sını da alıcı hücreye aktarır
- Eğer faj, taşıdığı bakteri DNA'sı ile birlikte konakçı hücre genomu ile birleşirse, taşıdığı karakterler yönünden alıcı hücreyi pozitif hale getirir
- Birkaç kros-over'dan sonra alıcı hücre kromozomu ile faj+bakteri DNA segmenti birleşir, birlikte replike ve transkripte olur
- Taşıdığı gendeki bilgiler aynen mRNA'ya aktarılarak translasyona iştirak eder

Abortif Transdüksiyon

- Fajlar tarafından, konakçısından alınan ve bazı karakterleri (genleri) taşıyan DNA segmenti, faj başka hücreyi infekte ettiğinde, bu hücreye aktarılır
- Ancak, bu DNA parçası hücre içinde kalır, *bakteri DNA'sı ile birleşmez*
- Bağımsız olarak hücre içinde bulunmasına karşın *hücre DNA'sı ile eş zamanda replike olamaz.*
- Taşıdığı karakterler yönünden hücreyi pozitif hale getirebilir
- Bakterinin her bölünmesinde bu **ekzogenot** bir kardeş hücrede kalır ve onu pozitif hale sokar.

Lizojenik ve antijenik konversiyon

- Bazı bakteriler, fajlarla infekte olup, lizojenik hale geldiklerinde kendilerinde bulunan karakterleri kazanırlar
- Örn. *C. diphtheriae*'nin toksijenik olmayan suşu beta faji ile lizojenize edilirse virulent (toksijenik) hale dönüşür
- Fajla infekte edilen bakterilerde bazı özel antijenik komponentlerin sentezlenmesi