MİKROORGANİZMALARDA GÖRÜLEN DEĞİŞİKLİKLER

Varyasyon

- Modifikasyonlar
  - Morfolojik
  - Kültürel
  - Fizyolojik ve Biyokimyasal
- Mutasyonlar

Varyasyon

Varyasyon: Aynı türdeki canlılar arasında, mutasyon ya da çevresel etkiler sonucunda oluşan farklılıklara varyasyon adı verilir

•Bir türün bireylerindeki aynı karakterin farklı şekilleri, değişiklik, çeşitlilik

Varyant: Varyasyon sonucu yeni özellikler kazanmış canlıya denir

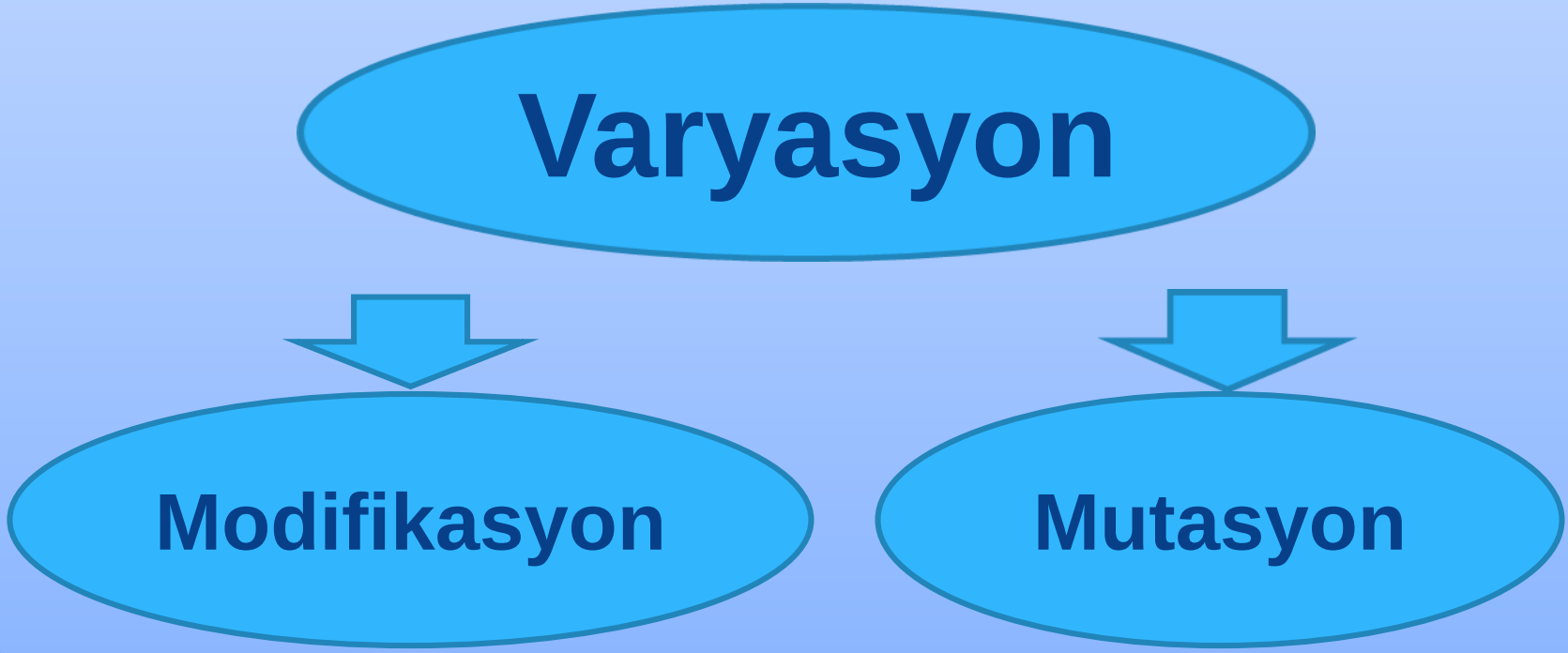
Varyasyon

Mikroorganizmalarda görülen değişiklikler iki bölümde incelenebilir:

•**MODİFİKASYON (FENOTİPİK):** Isı, ışık, pH, nem, yüzey gerilimi, bazı kimyasal maddeler vb. gibi dış ortam koşullarının etkisi ile oluşan ve mikroorganizmaların genetiğinde değişikliğe yol açmayan değişikliklerdir. Sadece o jenerasyonda görülür. Değişikliğe neden olan etken ortadan kalkınca normale döner

Varyasyon

- **MUTASYON (GENOTİPİK):** Bakterinin DNA'sında değişiklik oluşur. Bir sonraki jenerasyonda da görülür. Dölden döle aktarılır



Modifikasyonlar

1. MORFOLOJİK

- Koloni varyasyonları
- Kapsül varyasyonları
- Flagella varyasyonları
- Fimbria varyasyonları
- Spor varyasyonları
- Şekil varyasyonları

2. KÜLTÜREL

3. FİZYOLOJİK VE BİYOKİMYASAL

- Boyanma özelliğinde varyasyon
- Pigment varyasyonları
- Enzimatik varyasyonlar
- Attenüasyon

Koloni Varyasyonları

- Ayrı düşmüş tek bir bakterinin bulunduğu yerde üreyerek oluşturduğu sınırlı bakteri topluluğuna **koloni** adı verilir

- **M koloni:** Kapsüllü bakteriler organizmadan ilk ayrıldıkları zaman zengin besiyerlerinde üretilirlerse, sümüksü görünüşlü, yapışkan ve akıcı koloniler oluşturdukları görülür

- **S koloni:** Yuvarlak, düzgün kenarlı, kabarık, düzgün yüzeyli, nemli ve homojen kolonilerdir

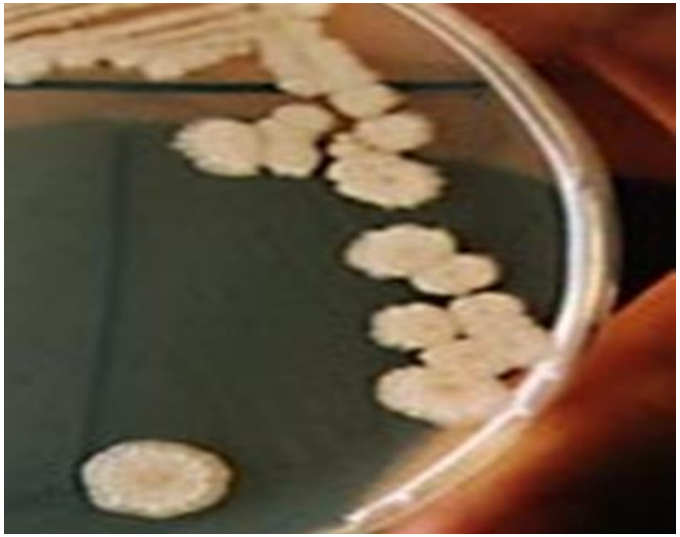
Koloni Varyasyonları

- **R koloni:** Yüzeyleri buruşuk veya tanecikli, kenarları girintili-çıkıntılı, basık, yassı görünümlü kolonilerdir
- Ortam koşullarına bağlı olarak bakterilerde koloni değişikleri görülebilir
- M-S-R dönüşümünde virülans gittikçe azalarak kaybolur. Olaylar geçici olup, uygun koşullar sağlandığında geri dönüş söz konusudur

Koloni Varyasyonları



M koloni



R koloni



S koloni

Kapsül Varyasyonları

- Bazı bakterilerde bulunan **kapsül**, hücrenin en dışında bulunur. %98 su, %2 polisakkarit yapısındadır
- *Bacillus anthracis*'de kapsül protein yapısındadır
- Kapsül bakteriyi fagositoza karşı korur
- İyi antijenik özellik gösterir

Kapsül Varyasyonları

- Kapsül oluşturma özelliğindeki bakteriler uygun olmayan ortamlarda kapsüllerini kaybederler

- Aynı zamanda virulansları da azalan bu bakterilerin yeniden kapsüllerini kazanmaları için serumlu, kanlı vb. gibi besiyerlerinde üretilmeleri gerekir

Flagella Varyasyonları

- Flagella, flagellin adı verilen proteinden oluşan bakterilere özgü hareket organelidir
- Hareketli türlerin çevre koşullarının etkisi ile kirpiklerini kaybederek hareketsiz görünüm almaları, sık görülen bir değişmedir
- Uygun koşullarda kirpikleri yeniden ve hızla yerine gelir

Flagella Varyasyonları

- *Listeria monocytogenes* oda sıcaklığında hareketlidir (20º-25º), ancak vücut sıcaklığında flagella sentezini gerçekleştiremediği için hareketsizdir (37º)

Fimbria Varyasyonları

- Fimbria harekette rol oynamaz. Bakterilerin yüzeylere ve birbirlerine tutunmasında görev alır
- Anaerob koşullarda, çalkantılı ortamlarda, katı besiyerlerinde fimbrialı bakteriler, fimbrialarını geçici olarak kaybedebilirler

Fimbria Varyasyonları

- Bazı bakteriler sıvı besiyerinin yüzeyinde ince bir tabaka halinde bulunurlar. Bu tabaka aerobik bakterilerin fimbriaları aracılığı ile yüzeye tutunması ile oluşur. Böylece yüzeyde kalarak oksijen ve besin maddelerinden faydalanırlar. Bu bakteriler anaerob koşullarda fimbrialarını kaybederler

Spor Varyasyonları

- Uygun olmayan koşullarda, bazı bakteriler (*Bacillus sp. - Clostridium sp*.) vejetatif şekilden sporlu hale geçerler. Uygun ortamda sporlardan yine vejetatif şekiller ortaya çıkar

- *B. anthracis* sporları insan vücuduna kaşıma, çizik, kesik gibi küçük travmalarla deriden, sporların inhalasyonu ile akciğerlere veya enfekte etlerin yenilmesi ile gastrointestinal kanaldan girer

- Bacillus anthracis vücut içinde spor oluşturmaz

vejetatif formu ⟶ vücut içinde
spor formu ⟶ vücut dışında (in vitro koşullarda)

Şekil Varyasyonları

- Uygun olmayan ortamlarda ve özellikle hücre çeperini etkileyen etmenlerin varlığında bakteriler **involüsyon şekillerine** ve hücre çeperlerini kaybettiklerinde **protoplast**, **sferoplast** ve **L biçimlerine** dönüşürler. Ortam koşulları düzeldiğinde bu durumlardan esas biçimlerine dönerler

Şekil Varyasyonları

- Hayvan ve insanların tükürük, gözyaşı, burun salgısı gibi salgılarında bulunan lizozim, peptidoglikanın parçalanmasına neden olur

- **Gram pozitif bakteriler** lizozim ile muamele edilirse, hücre çeperleri tamamen parçalanır ve **Protoplast** adı verilen yapı oluşur. Protoplastlarda, hücre çeperine ait kalıntılar bulunmaz

Şekil Varyasyonları

- **Gram negatif bakterilerin** hücre çeperlerinin dış zar katmanları lizozimi geçirmez. Önce EDTA daha sonra lizozim ile muamele edilirlerse, hücre çeperi eriyerek parçalanır. **Sferoplastlarda** hücre çeperine ait kalıntılar bulunur

- Sferoplast ve protoplastların uygun ortamda kalıp, gelişerek bölünmeleri ile ortaya çıkan oluşumlara bakterilerin **L-formu** denir

Şekil Varyasyonları

- Aynı tür bakteriler uygun ortamlarda çoğalırken genellikle hücre şekillerini muhafaza ederler. Ancak, içinde besin maddelerinin azaldığı, zehirli veya zararlı maddelerin çoğaldığı ortamlarda, bakteriler arasında büyüklük ve şekil bakımından farklılıklar olur. Mesela, kok şeklindeki bakteriler çok büyük, balon veya şekilsiz; çubuk veya sarmal bakteriler bir uçları şişkin, yuvarlak ve düzensiz şekiller alırlar. Bunlara **involüsyon şekilleri** denir

KÜLTÜREL VARYASYONLAR

- **Kültür:** Bir besleyici ortamda üretilmiş olan mikroorganizmaların tümüne kültür denir

- Yalnız tekbir tür mikroorganizmanın üremesi ile oluşan kültüre **saf kültür** denir

- Mikroorganizmaların sıvı ve katı besiyerlerinde üreme özellikleri ortam karakterinin optimalden ayrılması sonu değişebilir

KÜLTÜREL VARYASYONLAR

- Örneğin, *Staphylococcus aureus*, sıvı besi yerinde homojen ürer, ortamın yüzey gerilimi artırılırsa, üstte üremeye başlar

- Mikropların üreme tarzı üzerine besi yerinin bileşimi ve çevresel koşulların etkisi büyüktür

Boyama Özelliğinde Varyasyonlar

•Taze kültürlerdeki mikroorganizmalar, boyanma özelliklerinde bir homojenite göstermelerine karşın, eski kültürlerde bu durum görülmeyebilir

•Gram (+) bakterilerin organizmadan yeni ayrıldıklarında veya taze kültürlerinde Gram (+) boyanmalarına karşı eski kültürlerde Gram (-) özellikte boyandıkları görülür

Pigment Varyasyonları

- Pigment oluşturan mikroorganizmalar, uygun olmayan koşullarda üretilirse, bu özelliklerinin zayıfladığı ya da tamamen kaybolduğu görülür

- Örneğin; *Serratia marcescens* en iyi aerobik koşullarda ve oda ısısında (25 ^{0}C) tipik kırmızı pigment oluşturur. Aynı mikroorganizma 37°C 'de ve anaerobik şartlarda pigment oluşturmaz

Enzimatik Varyasyon

- Mikroorganizmalar ortamda bulunan çeşitli gıda maddelerinden yararlanabilmek için, bunları etkileyen değişik özellikteki enzimleri sentezlerler

- Bir kısım enzimler, besiyerinin içeriğine bağımlı olmaksızın devamlı sentezlenirler (**yapısal enzimler**)

Enzimatik Varyasyon

- Bazı enzimler ise besiyerinde ancak özel maddelerin bulunması durumunda ve bunların stimulasyonuna bağlı olarak sentezlenirler (**indüklenebilen enzimler**)

- Örneğin; *E. coli* 'deki **beta galaktosidase** ve **galaktosid permease** enzimleri böyledirler

Enzimatik Varyasyon

- Bu enzimler, ortamda laktoz varsa, bunun uyarımı ile sentezlenirler. Laktoz ortamda bitince, enzim sentezi de durur. Böyle enzimlere, **indüklenebilen enzimler** adı verilir

- Bu nedenle, *E. coli* 'nin glukozu ayrıştırması, laktozu fermente etmesinden daha çabuktur

Enzimatik Varyasyon

•Glukozu ayrıştıran enzimler her zaman sentezlendiği için hazırdırlar ve zaman geçmeden etkileyebilirler

•Ancak laktozun fermantasyonu için gerekli enzimin sentezi, en azından 30 dakikalık bir sürede gerçekleşir

Attenüasyon

•Bir patojenin bağışıklık oluşturma yeteneğini değiştirmeden, hastalık oluşturma yeteneğinin azaltılmasına denir

•Mikroorganizmalar, normal koşulların dışında üretildikleri zaman oluşan değişikliklerden yararlanılarak aşılar meydana getirilmektedir

Attenüasyon

•Örneğin *Bacillus anthracis*, 42-43°C 'de devamlı pasaj yapılırsa, yalnız kapsül oluşturma özelliğini kaybetmez, aynı zamanda, duyarlı hayvanlar için hastalık oluşturma kabiliyetinde de zayıflama görülür (**Pasteur'ün aşısı**)

Attenüasyon

•Aynı şekilde, sığır tüberküloz etkeni bakteriler, gliserinli safralı patatesli besiyerinde yıllarca pasajı yapıldıktan sonra, insanlar için çok önemli olan ve korunmada büyük yararlar sağlayan **tüberküloz aşısı (BCG)** haline getirilmiştir

Mutasyonlar

- DNA'daki gen yapısını oluşturan nükleotit çiftlerinin sıralanmasında veya yapısında oluşan, bu yüzden imal edilecek olan proteinin yapısını ve dolayısıyla işlevini değiştirici nitelikteki sürekli değişikliğe **mutasyon** denir

- Meydana gelen değişiklikler yeni jenerasyonlara aktarılır

- Mutasyon sonucu ortaya çıkan yeni değişik tip canlıya **mutant** denir

Mutasyonlar

- Dışardan herhangi bir indükleyici madde katılmadan veya müdahale edilmeden, kendiliğinden oluşan mutasyonlara **spontan mutasyonlar** denir

- Mutasyonlar **zararlı** olabilir
- Mutasyonlar **yararlı** olabilir
- Mutasyonların organizma üzerinde **herhangi bir etkisi olmayabilir**

Mutasyonlar

Genin yapısındaki nükleotit çiftlerinin sıralanmasındaki değişiklikler çeşitli şekillerde ortaya çıkabilir:

1. Gendeki nükleotit çiftlerinden birisinin yerine değişik bir nükleotitin yer alması şeklindeki değişiklik:

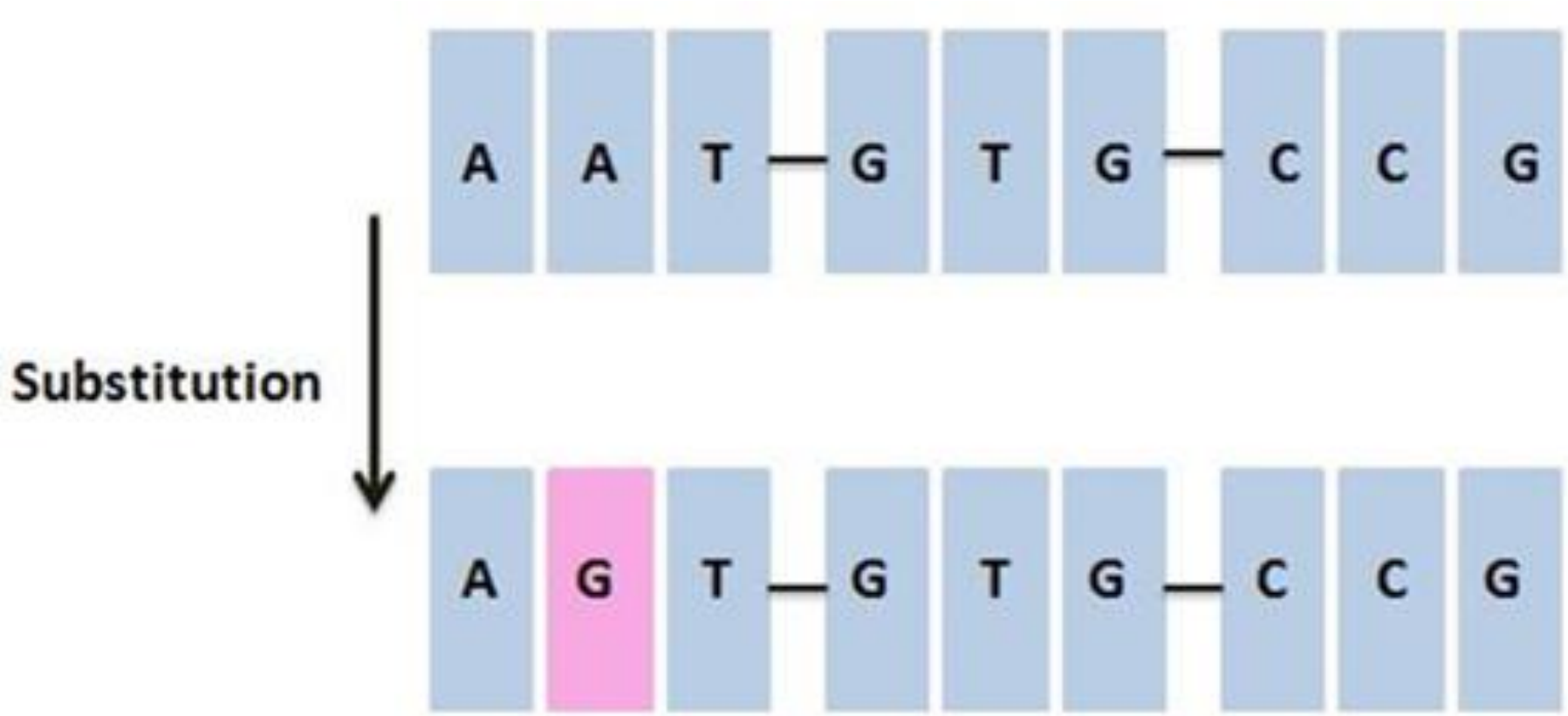
- Pürin yerine diğer bir pürin (A-G) ya da pirimidin yerine diğer bir pirimidin (T-C) ya da pürin yerine pirimidin geçmesi ya da aksi tipte bir değişiklik olabilir

Mutasyonlar

- Değişiklik sadece bir nükleotitte olduğu için genin yapısını kontrol ettiği protein zinciri üzerindeki aminoasitlerden yalnızca birinde değişiklik görülür

- Bu suretle imal edilen proteinin tekbir aminoasiti değişik olarak oluşur ki genellikle bu durum proteinin işlevinde önemli ve hayatsal bir değişikliğe yol açmaz

Mutasyonlar



Mutasyonlar

I.	AAT / TCC / GGA / TGC / T…	gen bölgesi (tabanlar)
	UUA / AGG / CCU / ACG / A…	mRNA (kodonlar)
	leu arg pro thr	polipeptit a.a. dizilişi

II.	AAT / TGC / GGA / TGC / T…	gen bölgesi (tabanlar)
	UUA / ACG / CCU / ACG / A…	mRNA (kodonlar)
	leu thr pro thr	yeni a.a. dizilişi

Sadece tekbir aminoasit değişti

Mutasyonlar

- **Pirimidin** yerine başka bir **pirimidin**, **pürin** yerine başka bir **pürin** girmesi ile oluşan mutasyona **transisyonel mutasyon** denir

  T ↔ C A↔G

- **Pirimidin** yerine **pürin** ya da **pürin** yerine pirimidin girmesi ile oluşan mutasyona **transversiyonel mutasyon** denir

  A→C-T T→A-G

➢**Transition**: purine ↔ purine
pyrimidine ↔ pyrimidine

➢**Transversion** : purine ↔ pyrimidine

Mutasyonlar

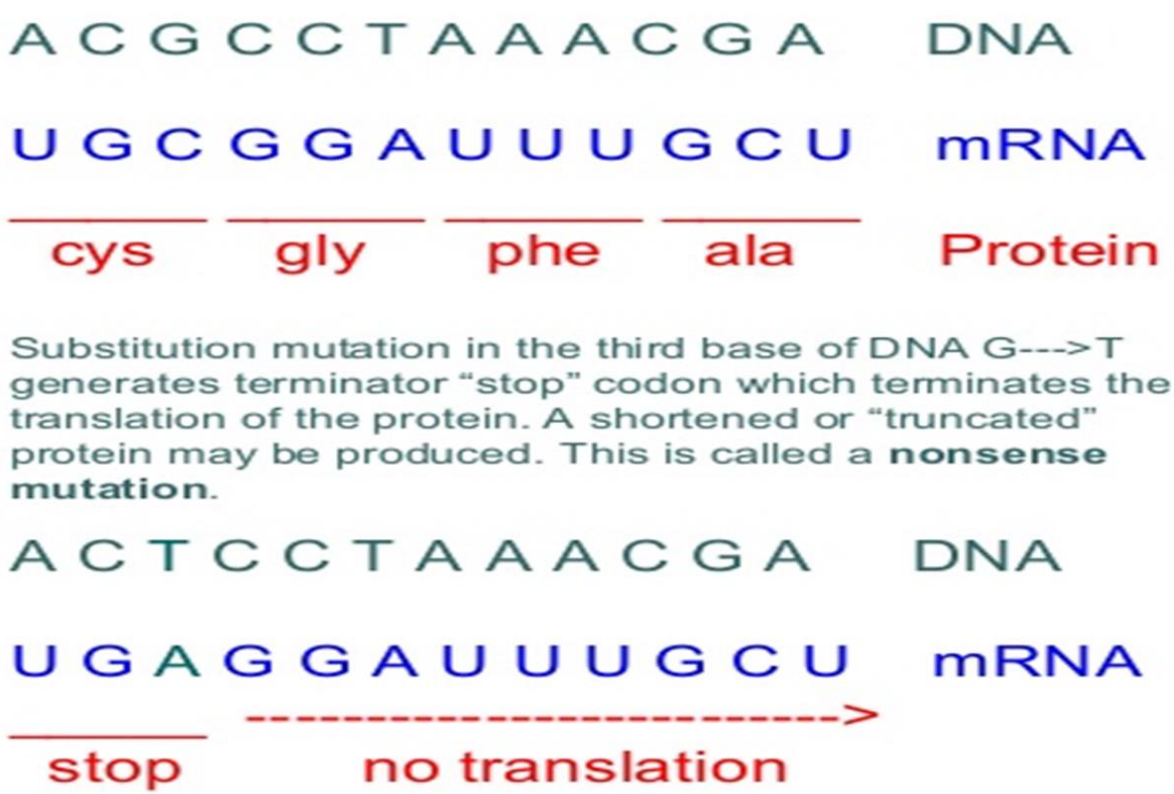


Substitution mutation T--->A at position #1 in DNA changes the mRNA codon to code for the amino acid serine in place of cysteine. This is a **missense mutation**



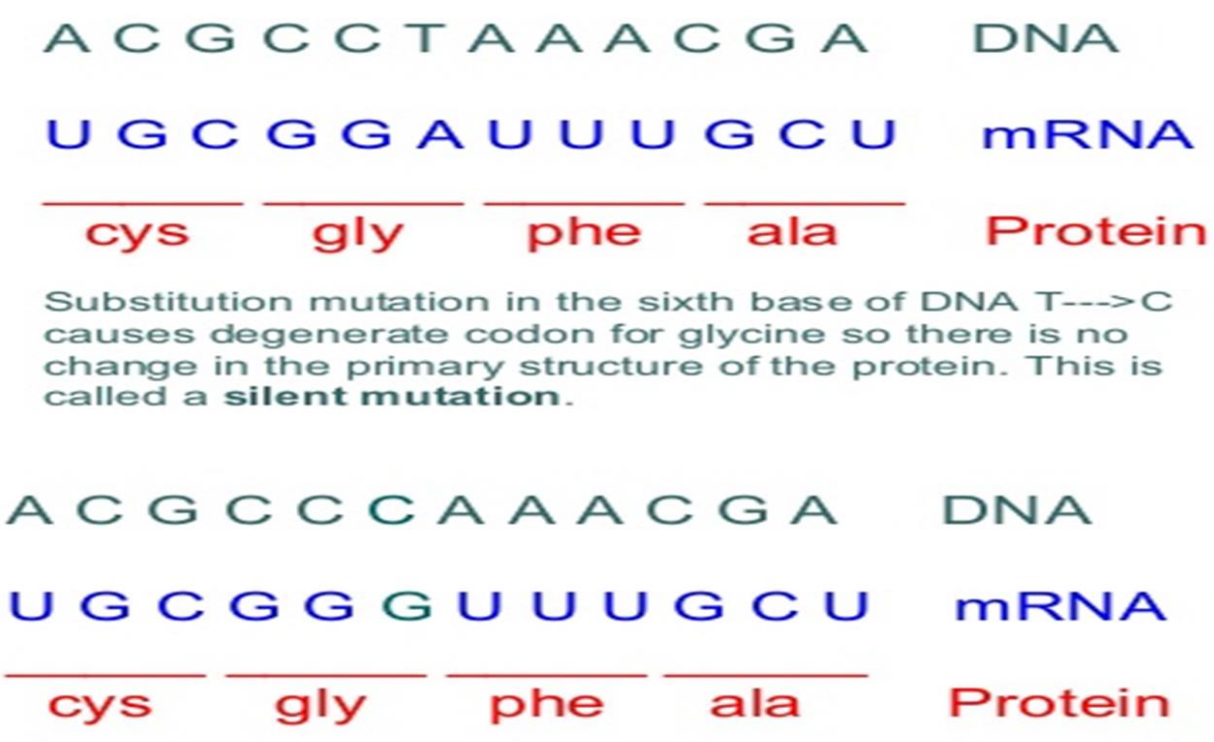
- **Missense (Kayıp) Mutasyon:** DNA üçlü (triplet) kodonunda bir nokta mutasyon sonrasında kodon tarafından sentezlenen aminoasit değişir

Mutasyonlar



- **Nonsense Mutasyon:** DNA üçlü (triplet) kodonunda bir nokta mutasyon sonrasında kodon STOP kodonu oluşturur

Mutasyonlar



- **Silent (Sessiz) Mutasyon:** DNA üçlü (triplet) kodonunda bir nokta mutasyon sonrasında kodon tarafından sentezlenen aminoasit değişmez

Mutasyonlar

2. Gendeki nükleotit çiftleri arasına yeni bir çiftin girmesi (insersiyon) ya da aradan birinin çıkması (delesyon) ile gendeki nükleotit sayısında ve dolayısıyla sırasında olabilen değişiklikler önemli mutasyonlara yol açarlar

Mutasyonlar

- Gendeki sıralamaya göre her üç nükleotitin bir aminoasiti kodladığı göz önüne alınırsa, araya bir nükleotit çiftinin girmesi ya da çıkması, o noktadan itibaren üçlü düzeni bozacağından bundan sonraki kodlanacak aminoasitlerin kodları değişir

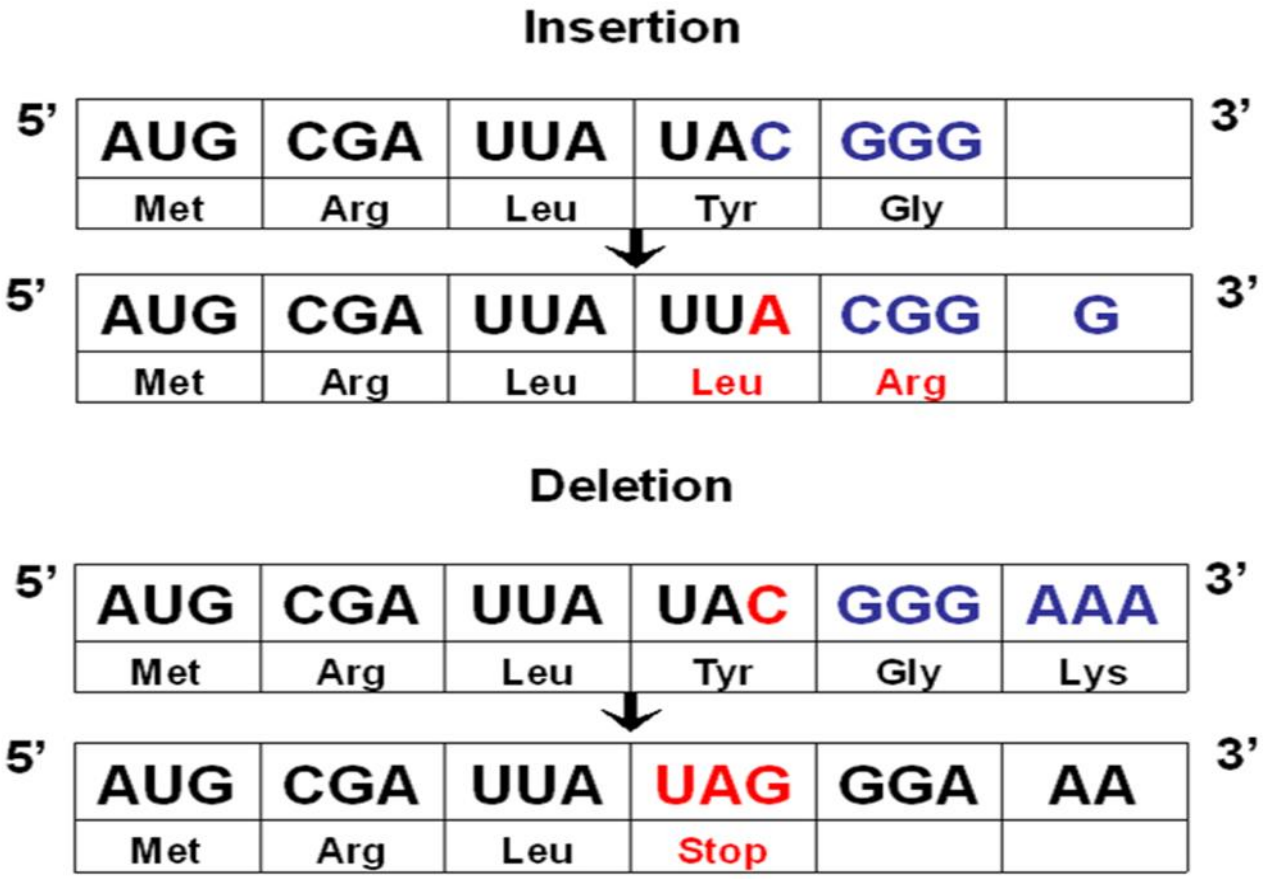
- Buna bağlı olarak da yapılacak proteinin yapısı ve dolayısıyla işlevi değişir

Mutasyonlar

Deletion

Insertion

→ çerçeve kayması mutasyonu (frameshift)



Mutasyonlar

I.	AAT / TCC / GGA / TGC / T…	gen bölgesi (tabanlar)
	UUA / AGG / CCU / ACG / A…	mRNA (kodonlar)
	leu arg pro thr	polipeptit a.a. dizilişi

II.	AAT / GTC / CGG / ATG / CT…	gen bölgesi (tabanlar)
	UUA / CAG / GCC / UAC / GA…	yeni kodonlar
	leu glu ala tyr	yeni a.a. dizilişi

Değişik aminoasitler halinde devam eder.

Sentezlenen proteinin yapısı değişti

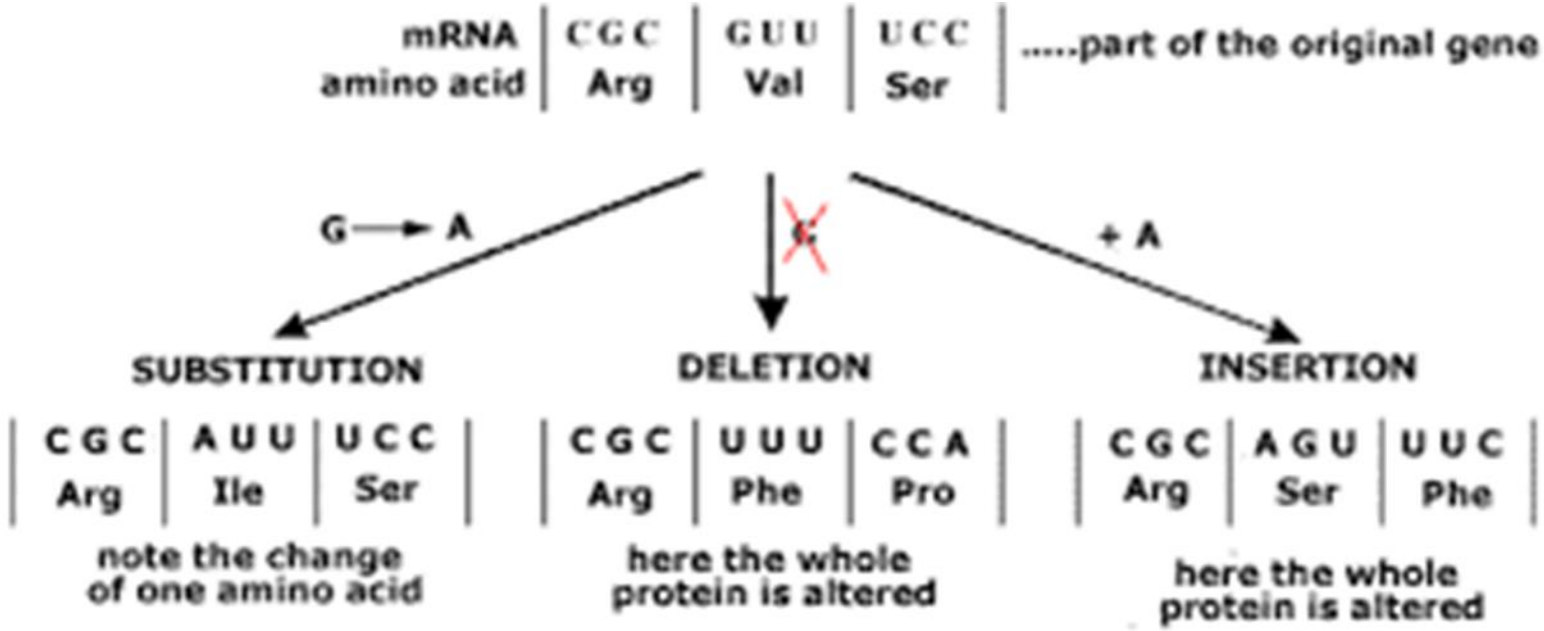
Mutasyonlar

3. Gende sıralı bulunan nükleotitlerden birden fazlasında olabilen değişiklikler yani birden çok nükleotitin kopup ayrılması (delesyonu) ya da araya birden çok nükleotitin girmesi (insersiyonu) ile olagelen mutasyonlarda 2. maddeye benzer ancak ondan daha büyük çapta hayatsal değişiklikler ortaya çıkar

Mutasyonlar

Hangi tip mutasyon organizmayı en fazla etkiler?

Insersiyon ve delesyonda mutasyon gerçekleşen noktadan itibaren bütün aminoasitler değişeceğinden, proteinin yapısı değiştir ve etkisi daha büyüktür



MUTAJENİK MADDELER

I. Kimyasal Mutajenler

II. Fiziksel Mutajenler

KİMYASAL MUTAJENLER

1. Taban Analogları: Bunlar replikasyon sırasında yeni iplikçik sentezlenirken, sıraya girecek bazların yerini alırlar ve böylece transisyonel mutasyonlara yol açarlar.

Timin analogu: 5-Bromourasil (5-BU)
Adenin analogu: 2-Aminopürin (2-AP)

MUTAJENİK MADDELER

- Bu analoglar, kimyasal yapı bakımından bazlara benzediğinden, replikasyon sırasında bazların yerini alabilirler

2. DNA'daki Tabanları Değiştiren Maddeler: Bazlar üzerine direkt etki yapan nitröz asiti (HNO_2), bunlardan oksidatif deaminasyon ile amin grubunu (NH_2) çıkarır ve bunun yerine keto (=O) grubunu koyar

MUTAJENİK MADDELER

- Sitozinin deaminasyonu sonunda Urasil ve Adeninin deaminasyonunda da hipoksantin meydana gelir.

- Bu olaylar sonucunda oluşan Urasil Adeninle ve hipoksantinde Sitozinle bağ kurar.

MUTAJENİK MADDELER

3. Alkilleyici Ajanlar: Birçok kimyasal madde, nükleotitler arasına alkil gruplar (CH_3, CH_2) sokarak, transisyonel mutasyonlar yaparlar. Alkil ajanlar, DNA'daki deoksiribozlar arasındaki bağlantıyı gevşetir

- Dimetil sulfonat (DMS)
- Dietil sulfonat (DES)
- Etil metan sulfonat (EMS)
- Metil metan sulfonat (MMS)
- Nitrosoguanidine (NG)

MUTAJENİK MADDELER

4. Akridinler: Proflavine, Akriflavin, akridin orange

- Akridin boyaları, DNA baz çiftleri arasına girerek 1-20 adet baz çiftinin çıkmasına sebep olabileceği gibi, bazı durumlarda baz çiftinin girmesine de neden olabilir

- Akridin boyaları, DNA sarmalında genişlemeler oluşturarak delesyon ve insersiyonlara neden olurlar

MUTAJENİK MADDELER

Diğer mutajenler:

- Arsenik
- Krom
- Asitler
- Alkaliler
- İlaçlar
- Hormonlar
- Fazla oksijen
- pH değişimleri

MUTAJENİK MADDELER

FİZİKSEL MUTAJENLER

1.Ultraviyole Işınları: U.V. Işınlarına maruz bırakılan bakterilerde pirimidinler (T veya C), pürinlerden (A, G) daha fazla U.V. Işınlarını absorbe eder ve kendilerinde birçok fotokimyasal değişmeler meydana gelir.

Bunun sonucu atomlar arası enerji artar ve timin dimerleri oluşur. Dimerlerin bulunduğu yerlerde transkripsiyonda atlamalar veya boşluklar oluşur ve bu bölge atlanarak devam edilir.

MUTAJENİK MADDELER

2. X Işınları: Delesyon şeklinde mutasyon gerçekleşir

3. Ultrasonik Vibrasyon: Yüksek ses dalgaları ile etkileşmede bakteri mutasyona uğrar, bazen de ölür. Delesyon şeklinde mutasyon gerçekleşir.

MUTAJENİK MADDELER

MUTANT TÜRLERİ

1.Rezistant Mutantlar: Mutasyon sonucunda organizma çeşitli ilaç, dezenfektan, antibiyotik, kemoterapötik, UV. ışınları gibi etkenlere karşı dirençli hale gelir

2.Nutrisyonel Mutantlar: Özel üretme faktörlerine gereksinim göstermeyen orijinal bakterilerden, mutasyonlar sonucu bir veya birkaç üretme faktörüne gereksinim duyan bakteriler meydana gelebilir

MUTAJENİK MADDELER

- Bunların besiortamlarına üretme faktörleri (aminoasit, vitamin, vs.) katılır.

3. **Fermantasyon Mutantları:** Normal koşullarda karbonhidratlardan bazılarını fermente etmeyen suşlardan oluşan mutantların bu karbonhidratlara etki ettiği görülebilir. Örneğin; *E. coli* laktozu fermente edebilirken, edemez hale gelebilir.

MUTAJENİK MADDELER

4. **Pigmentasyon Mutantları:** Bazı mutasyonlar, pigment oluşturan mikroorganizmaların bu kabiliyetlerini kaybetmelerine yol açar.
5. **Antijenik Mutantlar:** Bakterilerde bulunan kapsül, flagella, hücre duvarı antijenik karaktere sahiptirler. Bunların biyosentezini idare eden genlerde oluşan mutasyonlar, antijenik değişikliklere yol açabilir.

- Flagellalı bakteriler flagellasız, kapsüllülerde kapsülsüz hale gelebilirler.

MUTASYONLARDA GERİ DÖNÜŞÜM

Reversiyon: Mutasyona uğramış bakteri tekrar aynı faktörle karşılaşırsa, orijinal haline dönebilir. Buna reversiyon denir. Orijinal haline dönmüş bakteriye de **revertant** denir.

Reversiyon 3 çeşittir.

1. Tam ters mutasyon:

$(G\text{-}C) \xrightarrow{M} (A\text{-}T) \xrightarrow{R} (G\text{-}C)$

2. Orijinal tipte bulunmayan yeni bir taban çifti:

$(G\text{-}C) \xrightarrow{M} (A\text{-}T) \xrightarrow{R} (C\text{-}G)$

3. DNA'ya giren taban çiftinin aradan çıkması: