BAKTERİLER ARASINDA GENETİK MADDE AKTARIMI

- Transformasyon
- Konjugasyon
- Transdüksiyon

Bakteriler Arasında Genetik Madde Aktarımı

Bakteriler arasında genetik madde aktarımı 3 şekilde gerçekleşir**.**

Transformasyon: vericinin ortamda çözünmüş olan DNA segmentlerinin alıcı bakteriye geçmesi

Konjugasyon: alıcı ve verici bakteriler arasında köprü kurularak, seks pilusları aracılığı ile DNA segmentlerinin aktarılması

Transdüksiyon: bakteriyofaj aracılığı ile DNA segmentlerinin aktarılması

Bakteriler Arasında Genetik Madde Aktarımı

Genetik madde aktarımı her zaman vericiden alıcıya doğrudur. Bu duruma polarite denir.

Transformasyon

Verici bakteri hücresi tarafından ortama bırakılmış bağımsız **hücre dışı DNA**'nın alıcı bakteri tarafından alınması, böylece bakteriden bakteriye genetik materyal aktarılması ve yeni bileşen (rekombinant) bakteriler oluşmasına **transformasyon** denir

Transformasyon

- DNA ortama genellikle verici bakterilerin parçalanması ya da bazı kimyasal maddeler kullanılarak ekstraksiyonu ile salınmış olur

- Alıcı bakterilerin yüzeyinde DNA tanıma bölgeleri bulunur. Bunların sayısı bakteri türüne göre değişiklik gösterir. Bu özellik bazı bakteri kökenlerinde **kompetans faktörün**ün varlığı halinde olanaklı olur

Transformasyon

- Kompetans faktör, bakterilerin gelişme döngüsünün spesifik bir noktasında imal edilir
- Bu faktörü taşıyan, bakteri DNA'sı alma yeteneğindeki bakteri hücrelerine **Kompetan Hücreler** denir
- Kompetans olayı, logaritmik üreme döneminin sonuna doğru ortaya çıkar

Transformasyon

- Bir hücrenin transforme olma yeteneğinin (**kompetans**), DNA'nın hücre zarından geçebilmesine, bunun da hücrenin fizyolojik durumuna bağlı olduğu gösterilmiştir

Transformasyon

- Serbest çift zincirli DNA, alıcı hücreye girerken, iki zincirden biri **nükleazlar** tarafından parçalanır
- Kalan tek zincir kromozomda homolog dizinin bulunduğu bölgeyi arar
- Eğer böyle bir sıra bulunuyorsa, hücreye giren zincir, kompleks bir '**kes ve yapıştır**' süreci ile alıcı hücreye ait iki zincirden birinin yerini alır

Transformasyon

- Alıcı kompetan bakteri genellikle verici ile aynı türdendir

- İçeri alınan DNA eğer alıcının genomu ile yeterli benzerliğe sahipse o zaman kendini alıcının genomu içine sokabilir, değilse **endonükleaz** enzimleri ile ortadan kaldırılır.

Transformasyon

- Transformasyon 1928 yılında Griffith'in yaptığı deneylerle gösterilmiştir
- *Streptococcus pneumoniae*'nin patojen suşları polisakkarit yapısında ve bakteriyi konağın immün sistemine karşı koruyan bir kapsül ile çevrelenmiştir
- Bu polisakkarit, agar yüzeyinde kolonilerin parlak ve düzgün (**S koloni**) bir görünüm almasına neden olur

Transformasyon

- Buna karşın polisakkarit sentezlemeyen mutant suşlar, patojen değildir ve düzgün olmayan (**R koloni**) oluşturur
- Isı ile öldürülmüş **S hücreleri**, **canlı R hücreleri** ile karıştırılıp, farelere enjekte edildiğinde, farelerin öldüğü gözlenmiştir

Transformasyon

- Kapsülü kodlayan genin, ısıyla ölen pnömokoklardan salınıp, kapsülsüz olan **R hücrelerine geçtiği** bu deneyle görülmüştür (**transformasyon**)

GRIFFITH DENEYİ

Canlı, kapsülsüz, avirülan, R formunda (öldürmez)

+

Öldürülmüş, kapsüllü, virülan, S formunda (öldürmez)

↓↓↓

Canlı, kapsüllü, virülan, S formunda (ÖLDÜRÜR)

Konjugasyon

Genetik bakımdan seks ayrımı gösteren iki bakteri hücresinin yanyana gelip aralarında oluşacak geçici bir hücre birleşmesi ile bakteriden bakteriye genetik materyal aktarılması olayına **konjugasyon** denir

Konjugasyon

- **F faktörü:** F faktörü içeren bakterilerin, içermeyen bakteriler ile yanyana gelme, aralarında köprüler oluşturma ve bakteriden bakteriye bu faktörü ya da aynı anda bakterinin esas kromozomundan bir parçayı aktarma yeteneği vardır

- F faktörü içeren (**fertilite-seks faktörü**) içeren bakterilere, **erkek hücre (F+ bakteri)**, içermeyenlere **dişi hücre (F- bakteri)** adı verilir

Konjugasyon

- F faktörü **tra** adı verilen ve yaklaşık 12 civarında bir sıra gen taşır
- Bakteriden bakteriye genetik madde aktarılmasını bu genler yönetir
- **Tra (transfer) genleri** bir operon içinde düzenlenmiştir. Konjugasyon bu operondaki bazı genlerin yönetiminde, bakteride **seks pilusu** oluşturulması ile başlar

Konjugasyon

- Seks pilusu ayrı bir antijen yapısında olup, buna **F+ antijeni** adı verilir. Bu antijeni özel yöntemlerle saptamak olanaklıdır

F faktörünün F+ hücrelerden F- hücrelere geçişi: İki bakteri hücresinin birleşmesi anında bir ucu ile sitoplazmik zara tutunmuş bulunan F faktörü de replikasyona uğrar. Bu suretle çift kat olan DNA iplikçikleri birbirlerinden ayrılırken, bir tanesi F- hücreye geçer, diğeri esas verici hücrede kalır

Konjugasyon

- Hem alıcı, hem verici hücrede bulunan tek katlı F faktörünün DNA iplikçikleri bulundukları yerde aynı anda eşletilerek, **her iki hücrede birer F faktörü oluşur ve her iki hücre erkek hücre (F+ hücre) haline geçerler**

Konjugasyon

Konjugasyonla Bakteri Kromozom Parçalarının Aktarılması:

F faktörü ekstrakromozomal bir faktördür (**plazmittir**) ve sitoplazma içinde ayrı bir çember halinde DNA yapısında bulunur. Bazı durumlarda F faktörü esas bakteri kromozomunun uygun bir yerine yapışmakta ve aynı bir fajın bakteri hücresinde profaj durumuna geçmesi gibi bakteri DNA'sı ile bütünleşmektedir

Konjugasyon

Hfr (high frequency of recombination) hücreler adı verilen bu hücrelerin bazı özellikleri:

- Bu hücrelerde de **seks pilusu** bulunur ve erkek bakterilere özgü fajlarla enfekte olma özelliği gösterirler
- Hfr hücreleri, diğer bakteri hücrelerine ve özellikle F- hücrelere, yüksek oranda bakterinin esas kromozom parçacıklarından aktarabilir ve yeni bileşenlerin (rekombinant) oluşmasına yol açar

Konjugasyon

- Hfr bakterileri hiçbir zaman alıcı hücre olamazlar, ancak özellikle F- hücrelere bakteri kromozomu aktarabilirler
- F faktörü bütünleşmiş olduğu bakteri kromozomundan ayrılarak, kromozom dışında çembersel şekil oluşturabilir. Bu suretle **Hfr hücrelerden F+ hücreler** oluşabilir. Bu ayrılma sırasında bazen F faktörüne bakteri kromozomunun bir parçası bağlı kalabilir

Konjugasyon

- Bu ayrılma sırasında bazen F faktörüne bakteri kromozomunun bir parçası bağlı kalabilir. Bu şekilde serbest kalan plazmit niteliğindeki bu oluşumda hem F faktörüne, hem de bakteri kromozomuna ait bazı genler birlikte bulunmaktadır. Bu faktörlere **F' faktörü**, onu içeren hücrelere de **F prime hücreler** denir

Konjugasyon

- Konjugasyon olayı *E. coli*, *Salmonella*, *Shigella*, *Pseudomonas*, *Serratia*, *Vibrio* gibi mikroorganizmalarda görülür

- Konjugasyon aynı cins bakteriler arasında olabileceği gibi, farklı cins bakteriler arasında da olabilir

Plazmitler

- Kromozomların dışında, bakterilerin içinde bulunabilen, DNA yapısındaki ve içinde bulundukları bakterilere bazı özellikler kazandıran ve bu özellikleri genetik kontrol altında tutan elementlere (replikonlara) **plazmid** adı verilir

- Plazmitlerin bakteri kromozomu ile bütünleşmeleri halinde plazmitlerin epizomik durumlarından söz edilir

Plazmitler

- Bazı plazmitlerde bakteriden bakteriye kendi transferlerini sağlayan **tra genleri (transfer geni)** bulunur. Bunlara **konjugatif plazmitler** adı verilir

- Bu tür genleri bulunmayan ve bu yüzden başka bakterilere aktarılamayanlara da **non-konjugatif plazmitler** denir

Plazmitler

- Non-konjugatif plazmitler ancak F faktörlerinin de bakteride bulunması ya da diğer konjugatif plazmitlerin aracılığı ile harekete geçirilerek konjugasyonla başka bakterilere aktarılabilirler. Bu olaya **plazmit mobilizasyonu** denir

- Aynı bakteri içindeki plazmitler, kendi aralarında birleşerek rekombinant plazmitler oluşturabildikleri gibi bakteri kromozomuna entegre olarak **epizom** şekline geçebilirler

Plazmitler

Bilinen başlıca plazmitler:

1. Fertilite (F) Faktörü: F+ ⟶ erkek

F- ⟶ dişi

Hfr ⟶ F faktörü DNA'ya entegre olmuştur

- Bakteriye erkeklik özelliği kazandırır. Bir bakterinin verici özellik taşıyabilmesi için F faktörü taşıması gerekir

Plazmitler

- Hfr bakterilerde F faktörü epizomik durumdan bağımsız duruma geçerken beraberinde bakteri DNA'sından bazı genleri de kendine yapışmış olarak alabilir

- Bu şekilde bakteri sitoplazmasına yapışan F faktörü, kendi genleri ile birlikte bakteriye ait bazı genleri de taşır. Bu faktöre **F' faktörü**, taşıyan bakteriye de **F-prime** ya da **F' hücresi** adı verilir

Plazmitler

2. **Col Plazmitleri (Kolisinojenik Faktörler):** Koli basillerinin bazı kökenlerinde yine başka koli basillerini eriten bazı maddelerin yapıldığı gözlenmiş ve bunlara **kolisin** adı verilmiştir

- Aynı durumun koli basilleri dışındaki birçok bakteride de ve özellikle enterik bakterilerde bulunabileceği saptandıktan sonra kolisinlere genel olarak **bakteriosin** adı verilmiştir

Plazmitler

- Bakterilerin **kolisin (bakteriyosin)** oluşturabilme özellikleri hücrelerinin içinde bulunabilen DNA yapısında ve tipik plazmit niteliği gösteren yapılar tarafından yönetilir

- Bu plazmitlere **Col plazmitleri** (kolisinojenik faktör) adı verilir

Plazmitler

3. **R Plazmitleri (RTF Faktörleri):** Bakterilerde antimikrobiklere karşı ekstrakromozomal dirençliliğin bakteriden bakteriye aktarılmasını yöneten kromozom dışı elementler vardır. Bu faktörlere **RTF (rezistans transfer faktörü)** ya da **TF (transfer faktörü)** adı verilir.

Plazmitler

4. **Stafilokok Plazmitleri:** Genellikle bu plazmitler tek genli (penisilinaz plazmiti dışında) plazmitler olup, sık sık bakteri kromozomu ile bütünleşebilme ve yine ayrılma özelliği gösterirler

- Esas önemli özellikleri; bu plazmitlerin konjugasyon ile bir bakteriden diğerine aktarılmaması aksine bu aktarımın bakteriyofajlar aracılığı ile ve transdüksiyon yolu ile yapılmasıdır

Plazmitler

Bilinen stafilokok plazmitlerinden başlıcaları:

- **Penisilinaz plazmitleri:** Bakterilerde penisilini parçalayarak etkisiz hale getiren penisilinaz enziminin yapımını yöneten genler içerir
- **Tetrasiklin plazmitleri:**
- **Kloramfenikol plazmitleri:**

Plazmitler

5. **Virülans Plazmitleri:** Bazı plazmitler bakterilerin virülansını etkiler. Bunların arasında enteropatojenik *E.coli* basillerinde bulunan ve onların enterotoksin ve kolonizasyon antijeni oluşturmalarına yol açan plazmitler bulunur

Transdüksiyon

- Bakteri hücreleri arasında temas olmaksızın, bir **bakteriyofaj aracılığı** ile bir bakteriden diğerine genetik materyal aktarılması olayına **transdüksiyon** denir

- **Ilımlı (temperate) yaşam:** Bakteri ile bakteriyofaj bir araya gelir ama bakteriyofaj bakteriyi öldürmez. Bakteride, bakteriyofajın içinde çoğalmasına izin verir

Transdüksiyon

- **Litik yaşam:** Bakteriyofaj çoğaldıktan sonra içinde bulunduğu hücreyi patlatır

- İçlerinde bulunan faj (profaj) ile denge sağlamış ve onu her zaman ortama salabilecek yetenekteki bakterilere **lizojen (eritici) bakteriler** adı verilir

Transdüksiyon

Bakterilerin içerisine giren ılımlı (temperate) faj genomları bakteri ile iki türlü ilişkide olabilirler:

- Hemen bakteri kromozomuna yapışarak onunla bütünleşir ve bakteri DNA'sının bir parçası haline gelirler. Bu durumda bakteri hücresi çoğalırken, faj DNA'sı ile birlikte replikasyona uğrar ve yavru bakterilere de aynı şekilde geçerek onlarda **lizojen bakteri** olurlar.

Transdüksiyon

- Bakteri hücresinin içine giren faj genomu, bakteri DNA'sı ile bütünleşmez. Çember şeklini alarak sitoplazmik zarın bir noktasına (lateral mezozom) yapışır. Bakterinin çoğalması esnasında ayrı bir replikon olarak, o da replike olup aynı şekilde yavru bakterilere geçer

Transdüksiyon

- Her iki durumda da bakteri hücresi içindeki profajlar, çeşitli etmenlerin etkisi ile bulundukları bakterinin içerisinde aktive olarak çoğalmaya başlayabilirler. Yani litik faj durumuna geçerek, bakteriyi eritip dışarı çıkabilirler. Yeni bakterilere geçerler.

Transdüksiyon

İki tip transdüksiyon vardır:

1. **Kısıtlı (Lokalize) Transdüksiyon:** Bazı ılımlı fajlar (*E. coli* λ fajı gibi) girdikleri bakteride her zaman DNA'nın belirli bir noktasına yapışırlar

- Aktive olan profaj DNA'dan ayrılırken nadir olarak DNA'nın bu belirli noktasındaki genleri (**λ fajında galaktoz enzimi geninin bulunduğu bölgeyi**) kendine yapışık olarak alıp ayrılır

Transdüksiyon

- Faj replikasyonu esnasında normal faj kapsiti ile çevrilen ve bakteri sitoplazmasında onun DNA'sının genlerine ait bir parçayı da taşıyan bu faja **transdüksiyonlu faj** adı verilir

- Bu oluşum çoğalamaz. Ancak litik bir fajın etkisi ile bakteri eritilirse dışarı çıkar. Kapsit ile kaplı olduğundan bu kez tam bir bakteriyofaj gibi hareket ederek sağlam bakterilere yapışır

Transdüksiyon

- Transdüksiyonlu faj yapıştığı bakteriyi enfekte eder. Bu şekilde verici bakteriden belirli genleri taşıyan fajlı DNA parçası alıcı bakterinin DNA'sı ile bütünleşince bu bakteriye yeni bakteri genleri aktarılmış olur

Transdüksiyon

2. **Kısıtlanmamış (Genel) Transdüksiyon:** Burada olay iki türlü ortaya çıkabilir

- Ilımlı fajlar bakteri DNA'sında sınırlı bir bölgeye değil, herhangi değişik bir bölgeye yapışma özelliğindendir (**E. coli'nin Mu fajı** bu niteliktedir). Bu suretle bakterinin DNA'sındaki her bölgenin transdüksiyona uğrayabilme şansı vardır

Transdüksiyon

- Bakteri içerisindeki ılımlı faj genomu, sitoplazmik zara yapışık ayrı bir replikon konumundadır. Bu durumdaki bakteriyofajın çoğalmasında DNA replike olurken, kapsitinde ayrıca imal edildiği ve sonra ikisinin birleşerek olgun bakteriyofaj şeklinde dışarı bilinmektedir

Transdüksiyon

- İşte bu anda bir rastlantı sonucu aynı anda eşletilmekte olan bakteri kromozomunun herhangi bir parçası koparak, boş bir faj kapsitinin içine girebilir

- Bu suretle dışında faj kapsiti, içinde faj DNA'sı yerine, yanlış olarak bir bakteri DNA'sı parçacığı bulunan bir yanlış faj oluşur

Transdüksiyon

- Bakteri içinde aynı anda esas fajlarda bulunduğundan bunların etkisi ile hücre eritilir. Hücrenin parçalanması ile açığa çıkan yanlış faj yeni bir bakteriye yapışır

- Bu olayda verici bakteri kromozomunun tüm bölgeleri koparak yanlışlıkla faj kapasitleri içine girebileceklerinden tüm DNA bölgelerinin ve bunlara bağlı genlerin eşit şans ile transdüksiyon olasılığı vardır

Transdüksiyon

- Transdüksiyon pek çok bakterileri arasında görülür

Staphylococcus, Bacillus } Gram (+)

Salmonella
Shigella
Escherichia
Pseudomanas
Vibrio
Proteus

} *Gram (-)*