

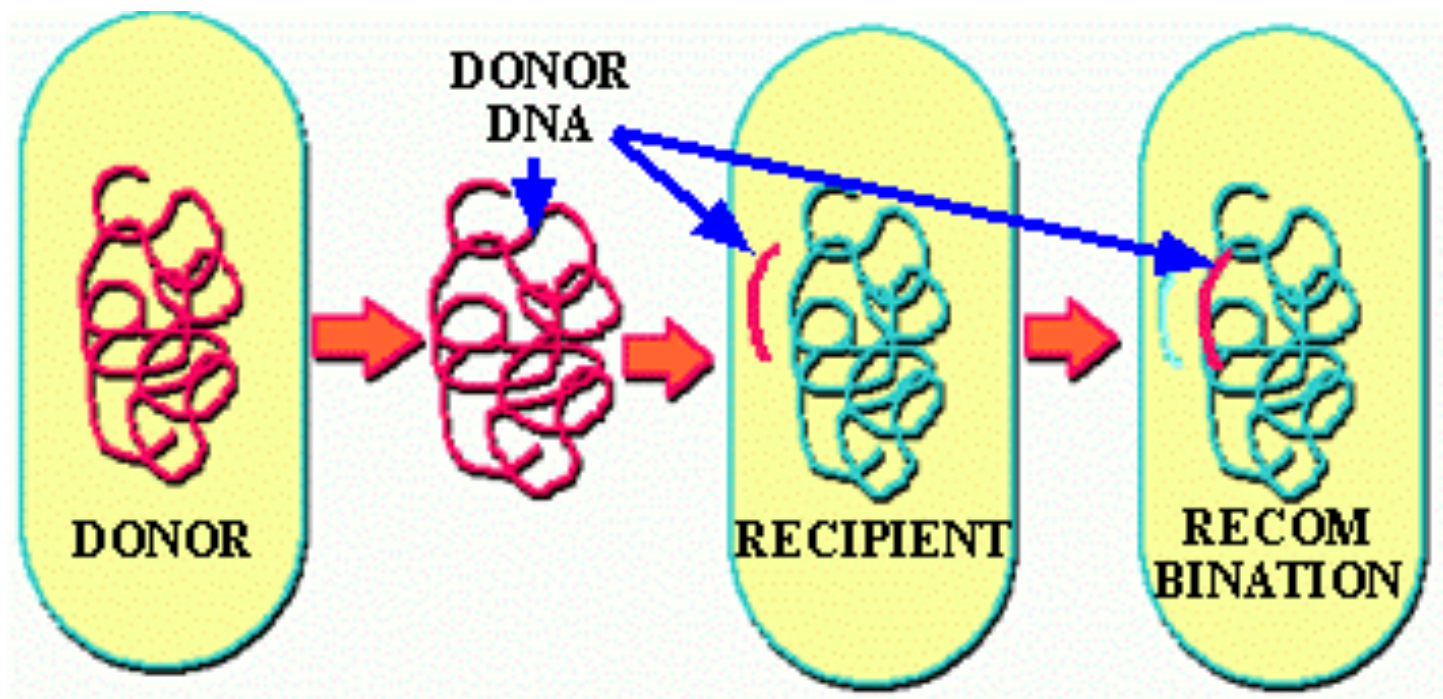
10. Hafta

BAKTERİLERDE GENETİK MADDE AKTARIMI

Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Bilinmesi gerekenler...

- Donör (verici) bakteri, recipient (alıcı) bakteri
- in vivo ve in vitro transfer
- Alıcının kromozomu ile birleşme: Bakterilerin genetik yakınlığı
DNA sekansları arasındaki homoloji
- Alıcı bakteri kendi kromozomuna integre olan yabancı DNA sekansında bulunan gen/genlerin taşıdığı özel karakterler yönünden pozitif hale dönüşebilir



Bakteriler arasında genetik madde aktarımı (doğal gen transferi);

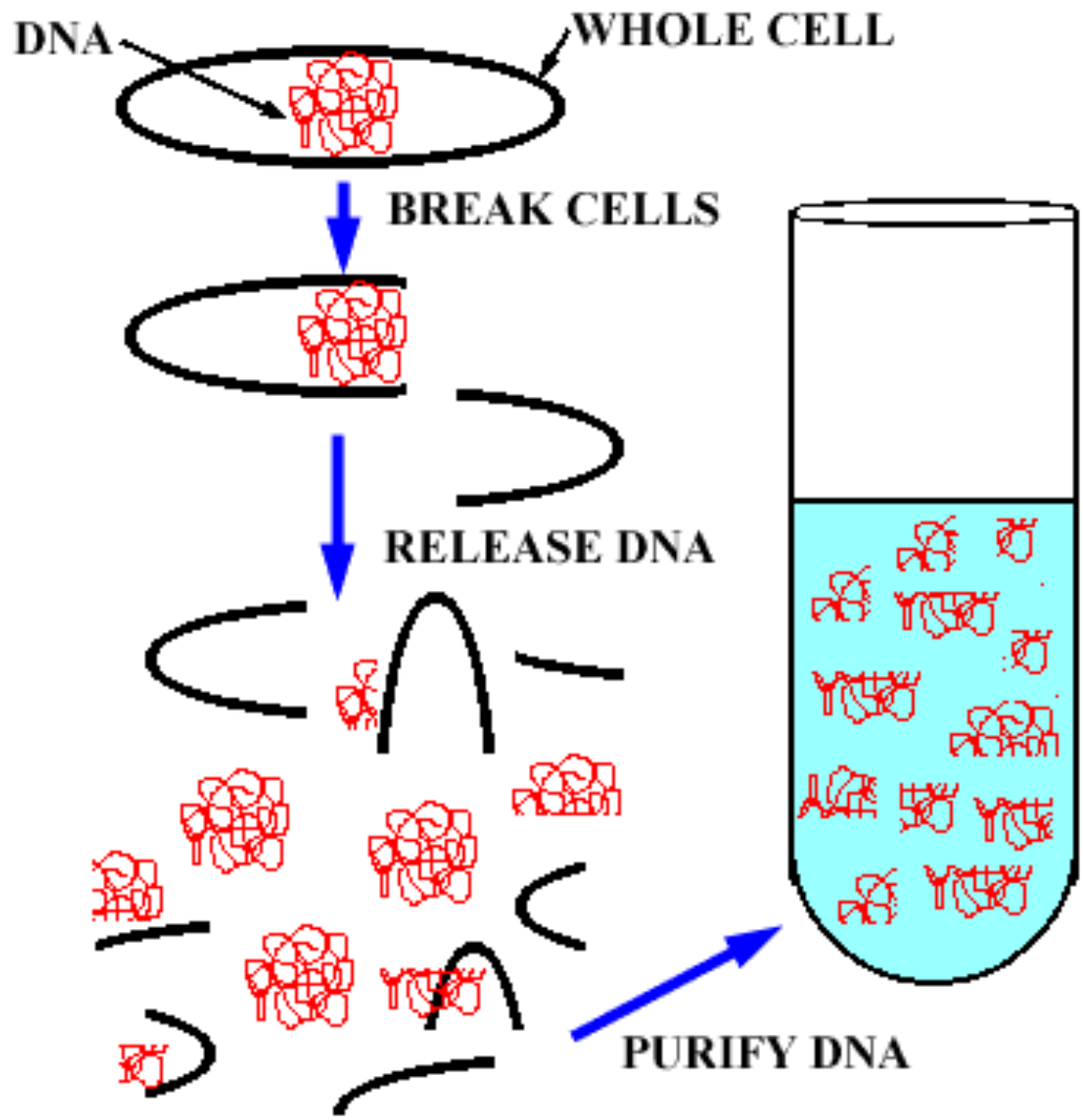
1. Transformasyon
2. Konjugasyon
3. Transdüksiyon

TRANSFORMASYON

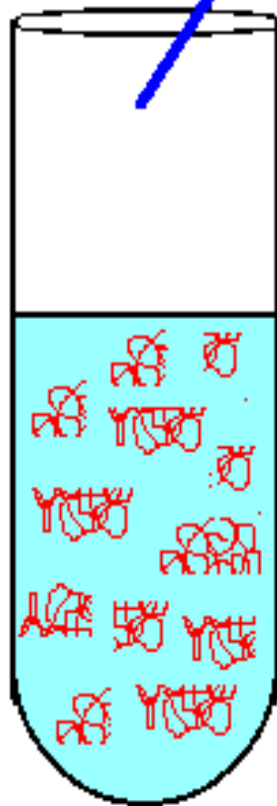
- DNA kompozisyonu birbirine yakın iki mikroorganizma
- Bu m.o.lardan birisi diğerine ait genetik materyal içeren bir ortamda üretilirse, alıcı m.o. verici m.o.'nın genetik maddesini alarak onun fiziksel özelliklerini gösterebilir...

In vitro

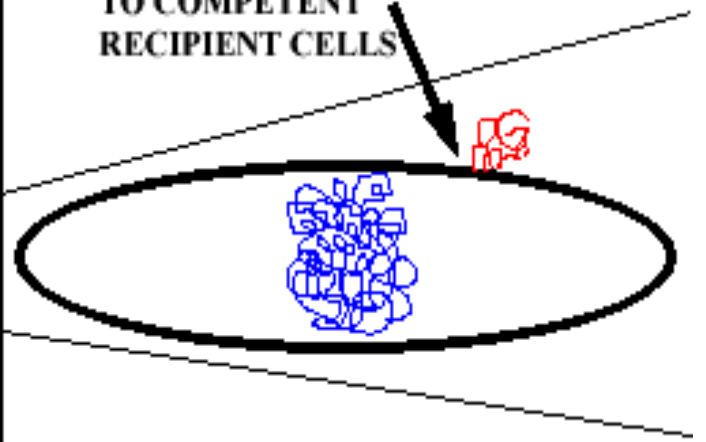
- *D. pneumoniae*'nin II-S ve II-R suşu ile yapılan denemeler
- II-S öldürülmüş buna ait DNA ekstratları ortama katılmış
- Canlı olan II-R suşu ortamdan II-S suşuna ait genetik materyalleri alarak bu elementlerde taşınan karakterler yönünden pozitif hale gelmiş (II-S haline dönüşmüş)

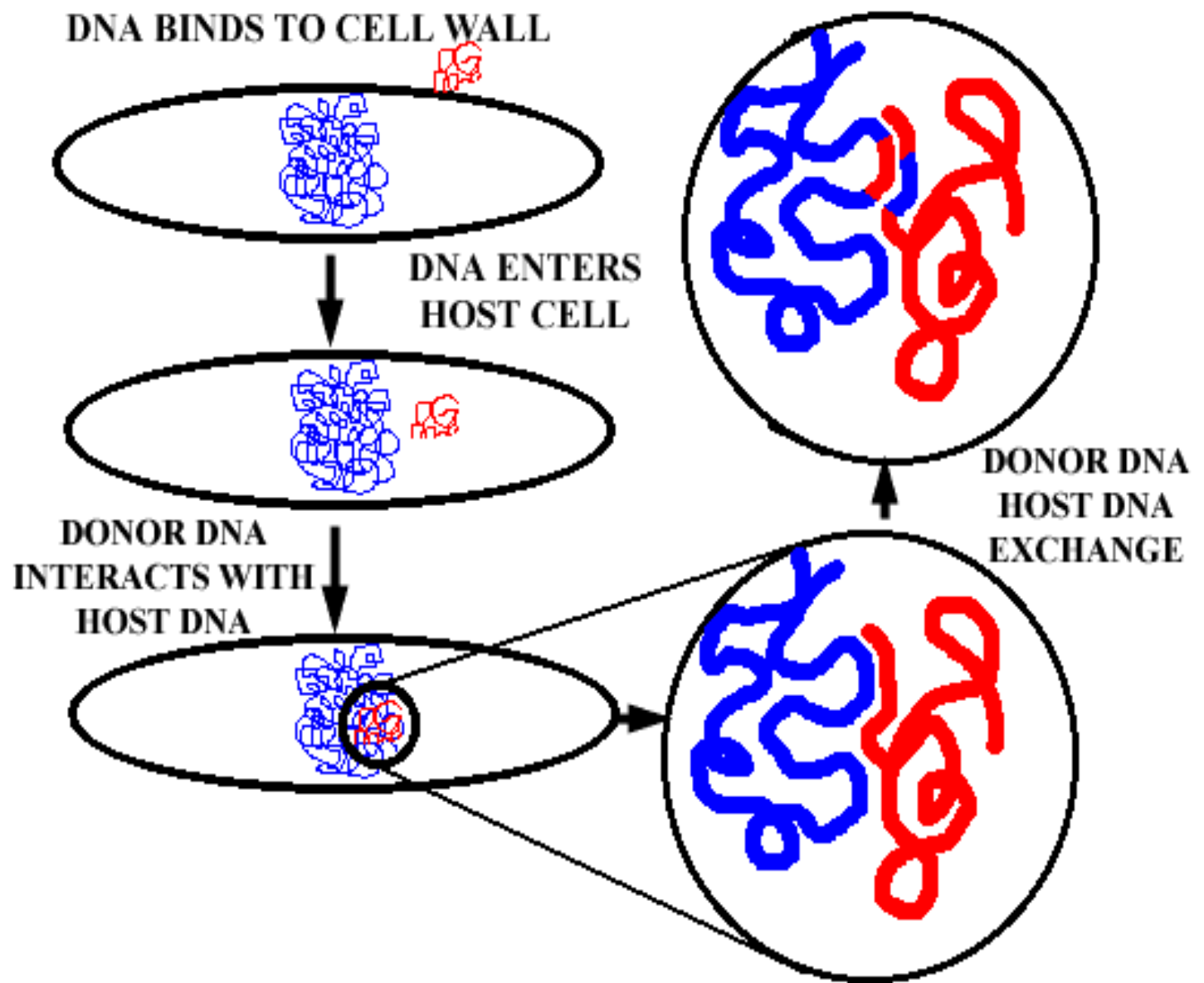


**TRANSFER
DONOR DNA INTO
COMPETENT
RECIPIENT CELLS**



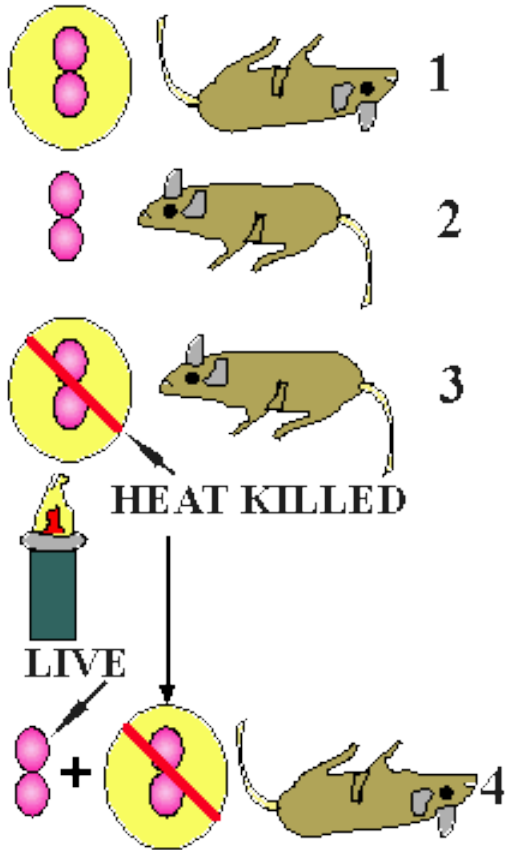
**DONOR DNA BINDS
TO COMPETENT
RECIPIENT CELLS**





In vivo

- Griffith Deneyi



1 Kapsüllü II-S suşu (virulent)

2 Canlı II-R suşu (kapsülsüz, avirulent)

3 Isı ile inaktive edilmiş II-S suşu

Canlı II-R suşu bunun arkasından ısı ile inaktive edilmiş II-S suşu verilir

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 (en az $0.3-8 \times 10^5$ dalton) ve yapısı (çift iplikçikli)
- Alıcı hücrenin yüzeyinde adsorpsiyon ve penetrasyon için gerekli reseptörlerin bulunması

- DNA segmenti alıcı hücre yüzeyine adsorbe olduktan ve içeri girdikten sonra kompetent DNA ile birleşmesine kadar geçen süreye *eklips (latent) dönem* denir.
- Dışarıdan içeriye giren DNA parçacığı *ekzogenot*
- Alıcı hücre DNA'sı *endogenot* ile birleşme *rekombinasyon*

Transformasyonla;

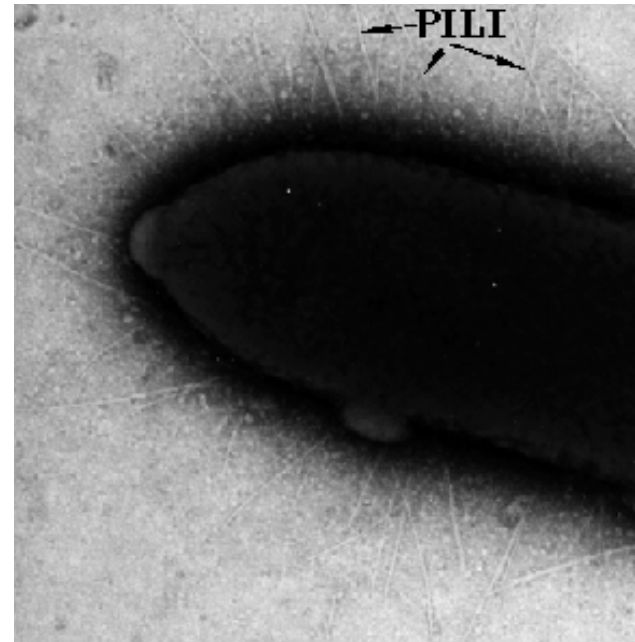
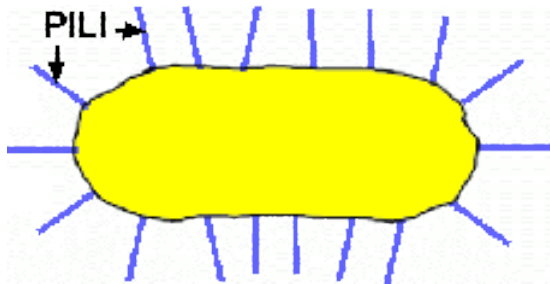
- Laktoz ve galaktoz pozitif genler,
- Antibakteriyel maddelere karşı dirençlilik,
- Çeşitli virulens genlerinin alıcı bakteriye aktarımı,
- Bakterilerin kromozom haritalarının belirlenmesi

Transfeksiyon

- Faj DNA'sının (ya da plasmid) kompetent bakteri hücrelerine aktarılması olayı

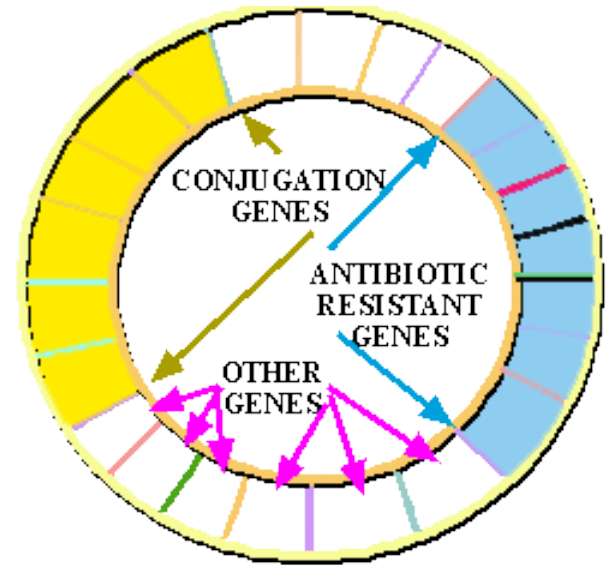
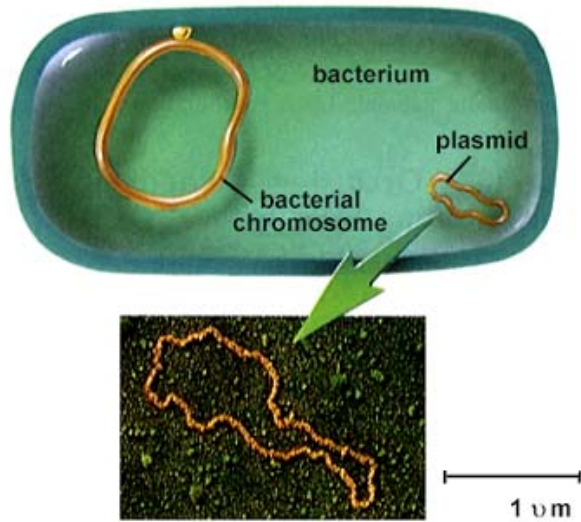
KONJUGASYON

Verici hücre DNA'sının tümünün veya bir segmentinin, bu *iki hücrenin direkt teması* ya da *seks pilusları* aracılığıyla alıcıya aktarılması olayı

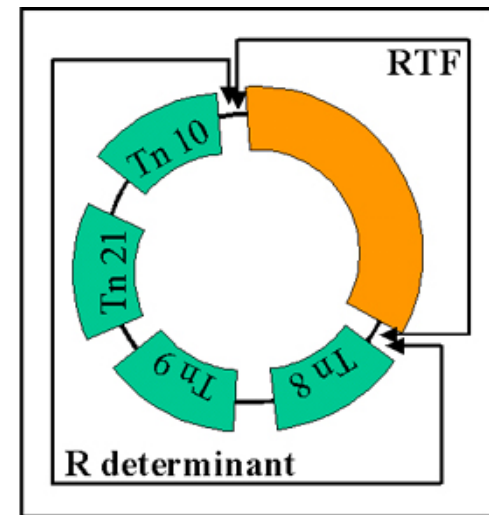
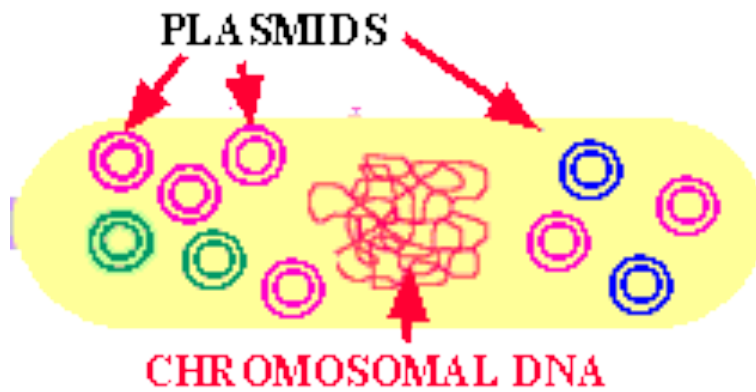


Konjugasyon için;

- Direkt temas
- verici durumda olma kabiliyeti, hücrede bulunan ve nakledilebilir bir genetik element olan plazmidlerle (*transfer faktörü* veya *seks faktörü*) tayin edilir.
- Bu faktörü alan hücreler taşınan karakterler yönünden pozitif hale gelir.
- *seks pilusu* (*fimbria*) hücre içindeki seks faktöründeki (*plazmid*) özel genler tarafından sentezlenir



CIRCULAR PLASMID DNA



Konjugasyonla aktarılabilen ekstrakromozomal genetik elementler

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

F faktörünün kromozomun üzerinde olduğu hücrelerin (*Hfr, high frequency recombination*) genetik materyallerini aktarma sıklığı F faktörü bağımsız olan hücrelere göre F^+ daha yüksektir.

F faktörü

- Sirküler, çift iplikçikli DNA segmenti
- 32 nm uzunlukta (bakteri DNA'sının %1.2'si kadar)
- 40-60 proteini kodlayabilir

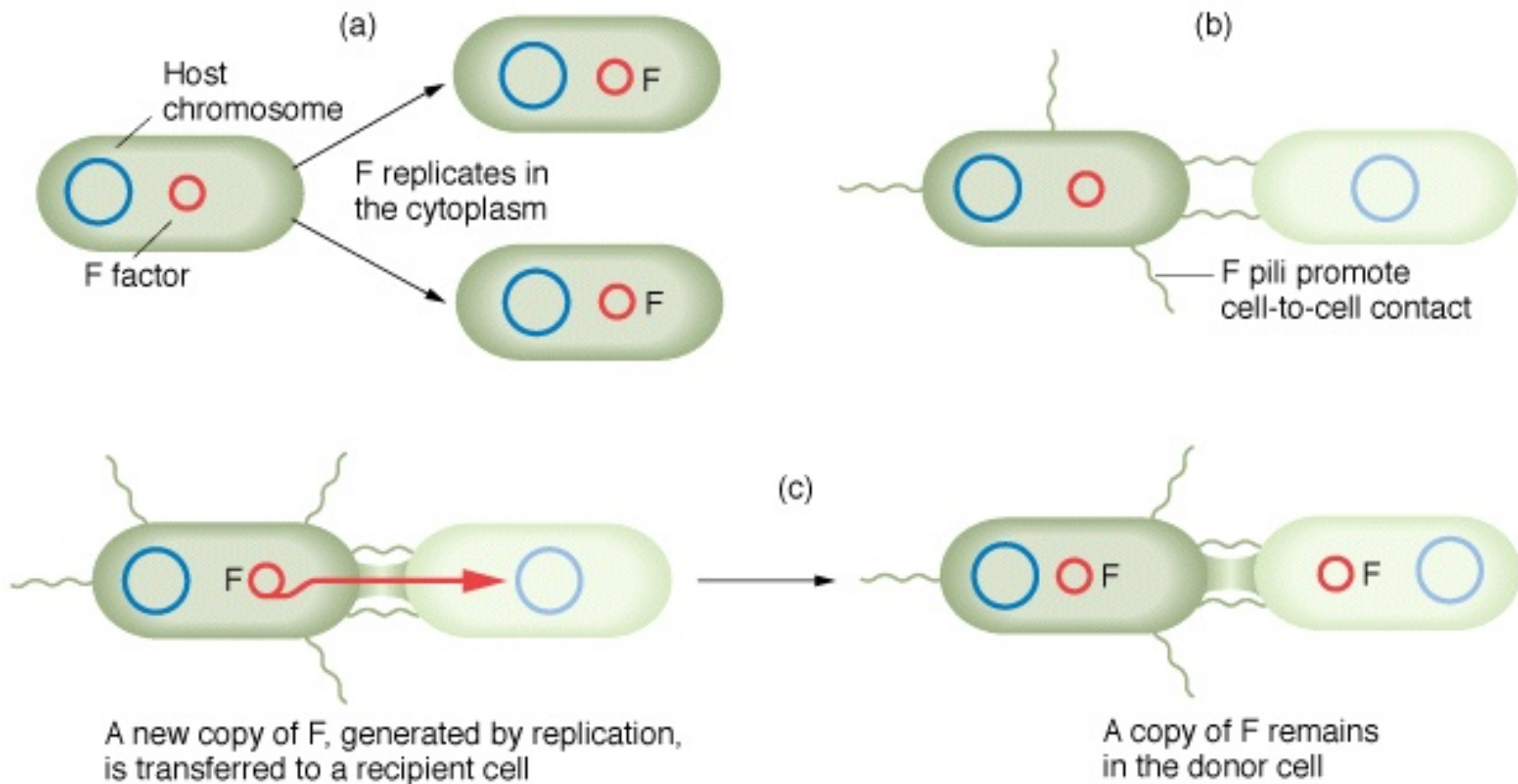
F faktörü bir hücrede;

1. Bağımsız genetik element (F^+), *plazmid*
 2. Konakçı DNA'sı ile birleşmiş olarak (Hfr), *episom*
 3. 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.

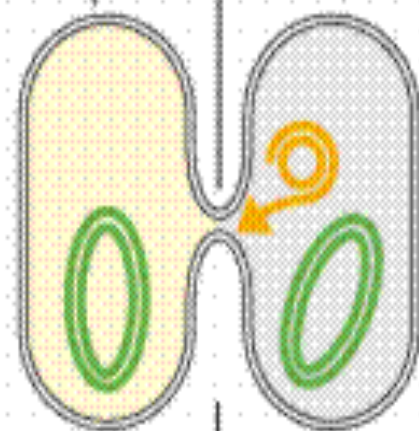
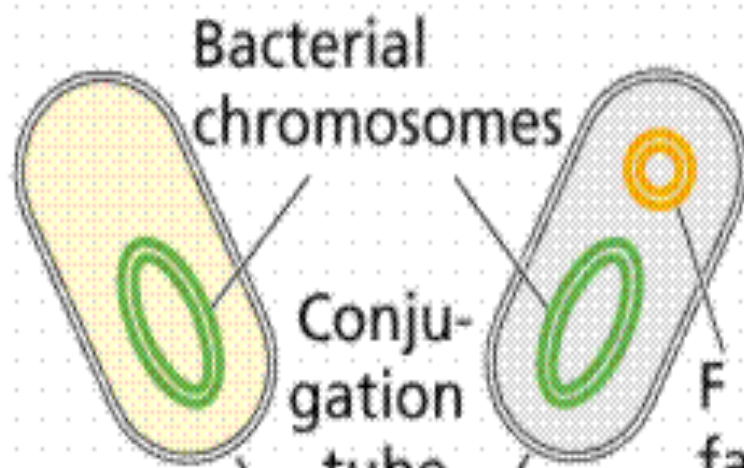
- *E. coli* K 12 suşu enterobakterilerin diğer türleriyle (*Shigella*, *Salmonella*, *Serratia*, *Proteus*, vb) konjugasyon yapabilmekte...
- Konjugasyon sıklığı ve alıcı hücre kromozomuna integrasyon bakteriler arasındaki homoloji ile doğru orantılı
- İntegrasyon olmadığı durumlarda *F faktörü* hücre içerisinde serbest halde (*plazmid* şeklinde) bulunur.

- Hücre DNA'sı ile birlikte ve aynı anda senkronize replike olur
- Yabancı genom parçası içeren F faktörüne F-prime faktör (F') alıcı hücreye de *F genot* adı verilir.
- Bazen F faktörü hücre DNA'sında iken galaktoz veya laktoz genlerinin yanında olup, ayrılırken bu genlerden birini yanına alarak ekstrakromozomal genetik element haline geçebilir. Bu plazmid başka bir hücreye transfer olduğunda o hücreleri gal+ ve lak+ hale dönüştürebilirler. Oluşan bu hücrelere *sekonder F'-hücreler*, bu olaya da *seksduksiyon* adı verilir.
- Bazı durumlarda F faktörü konakçı hücreyi terk ederek ayrılabilir. Böyle hücreler F- hale gelir ki bu olaya (Hfr---F+---F-) kurtulma veya iyileşme denir.

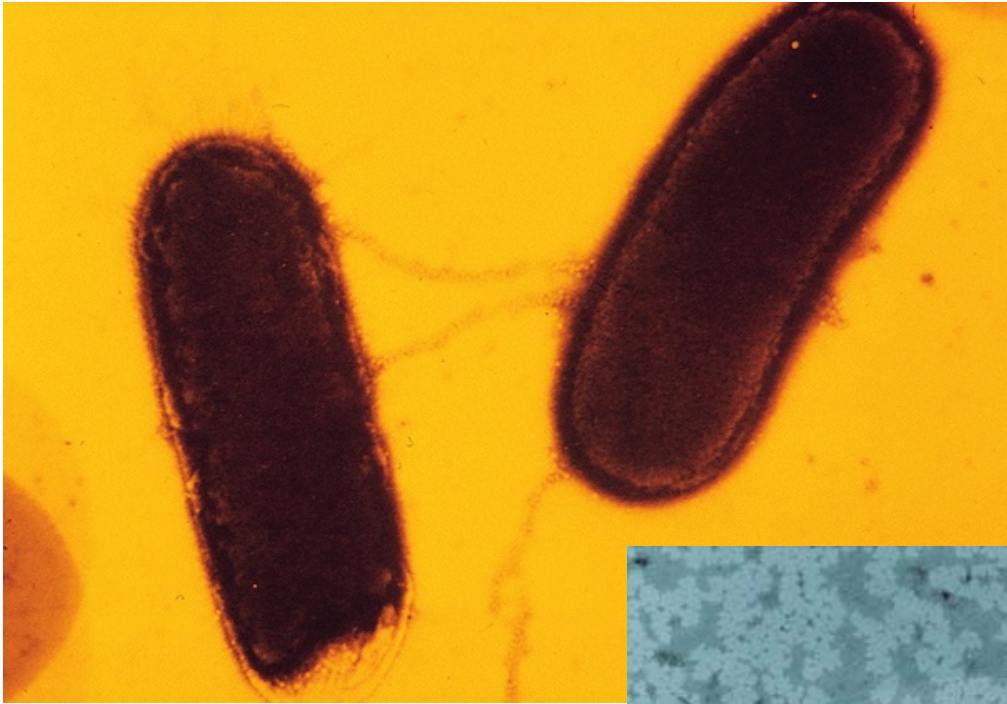


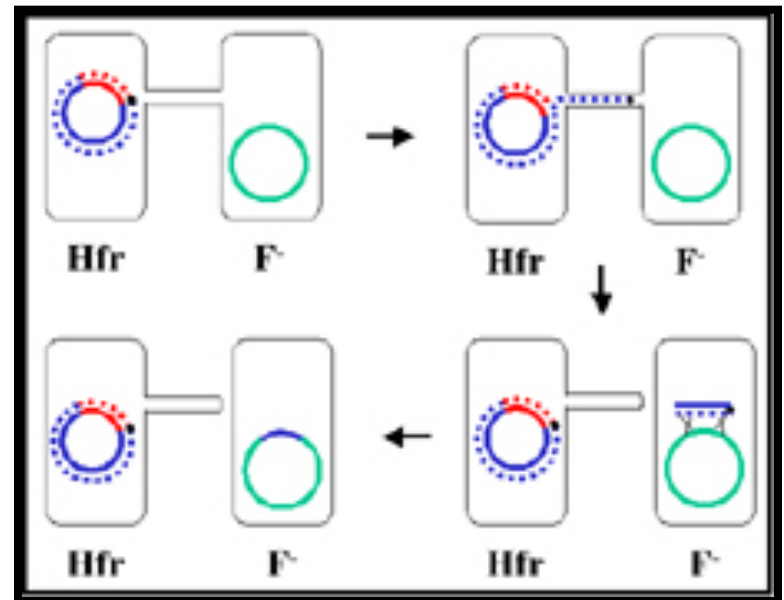
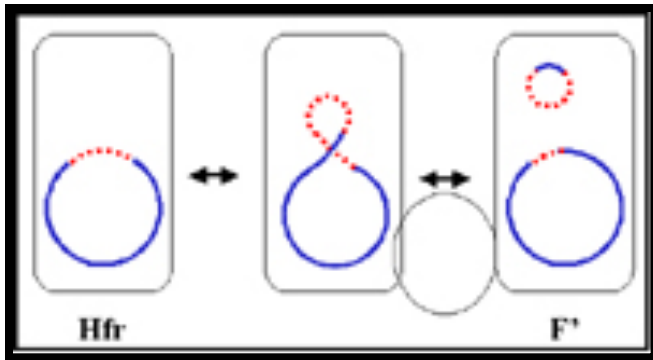
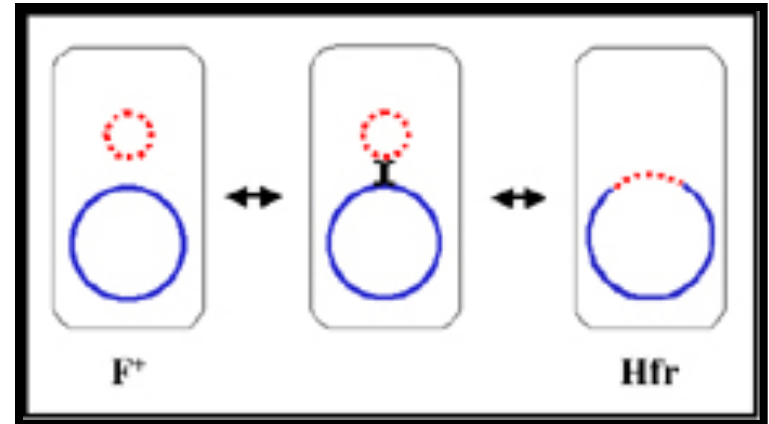
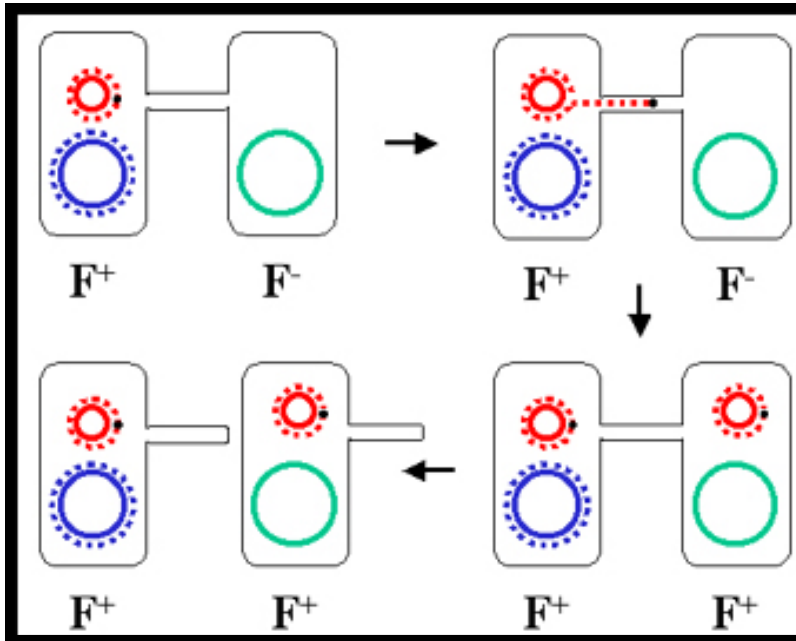
F^- *E. coli*
(female)

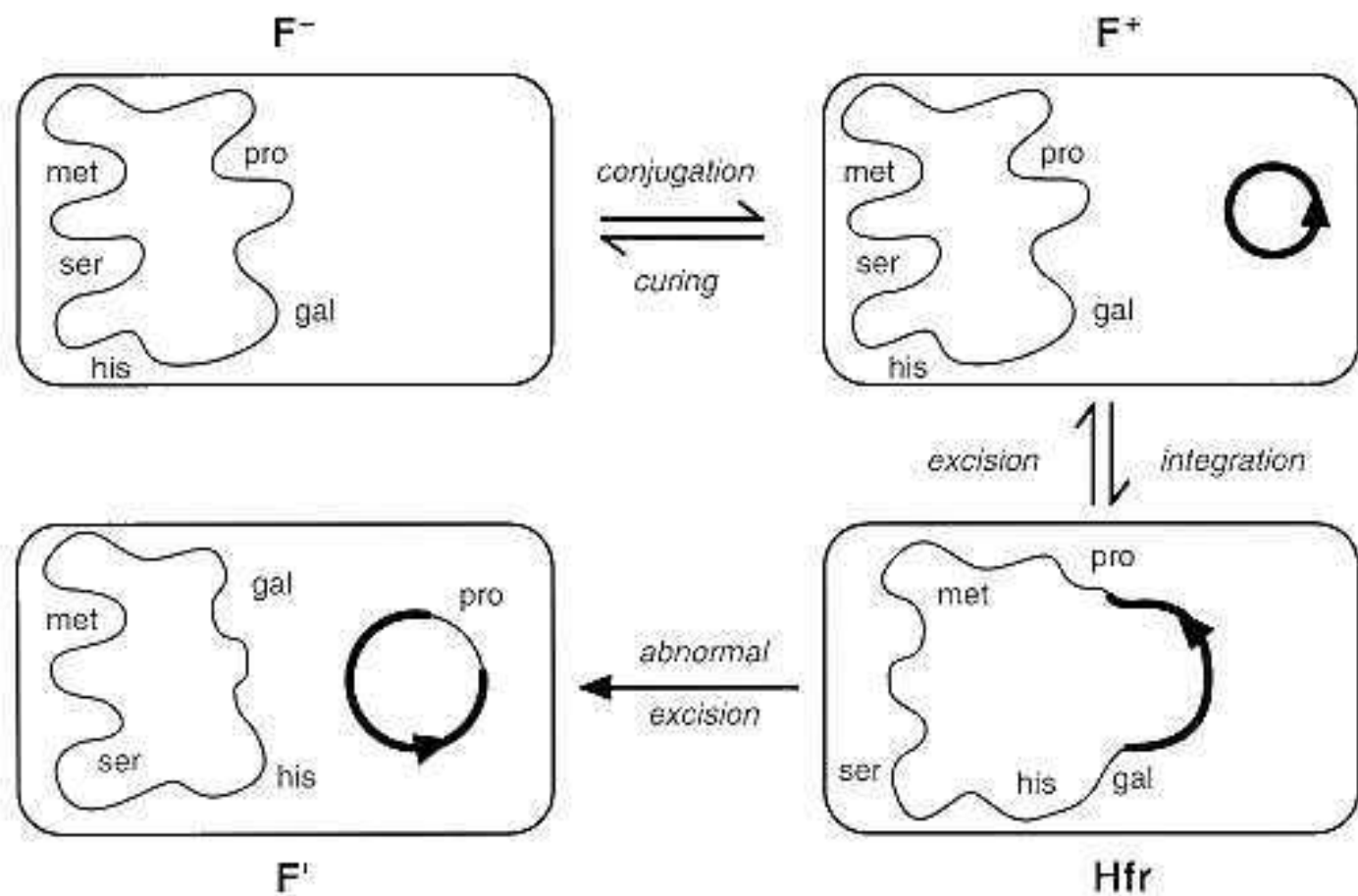
F^+ *E. coli*
(male)



Conjugating cells;
copy of F factor
transferred to F^- cell







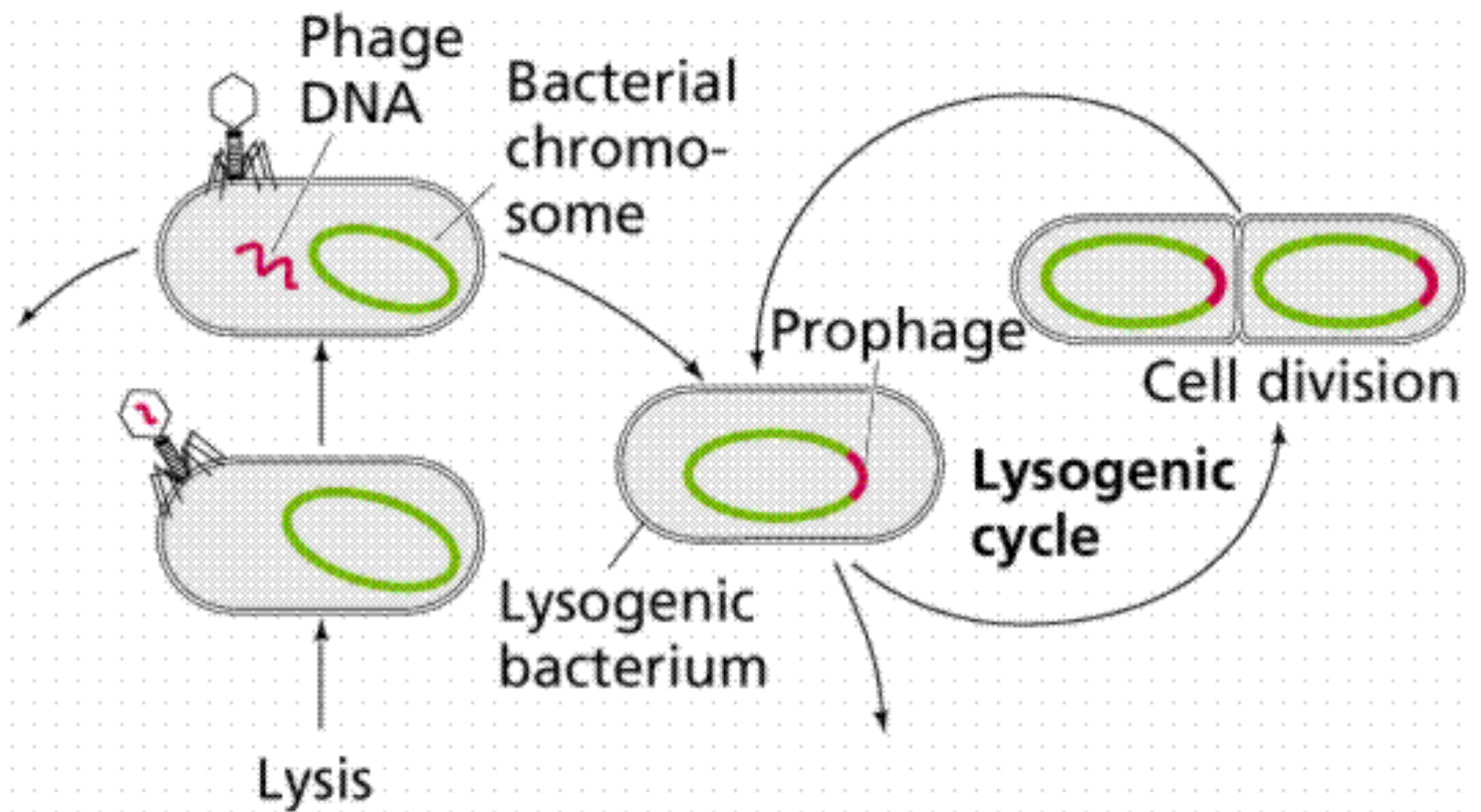
TRANSDÜKSİYON

Genetik materyalin verici bir bakteriden alıcı bir bakteriye *fajlar aracılığıyla* nakledilmesine *transdüksiyon* adı verilir.

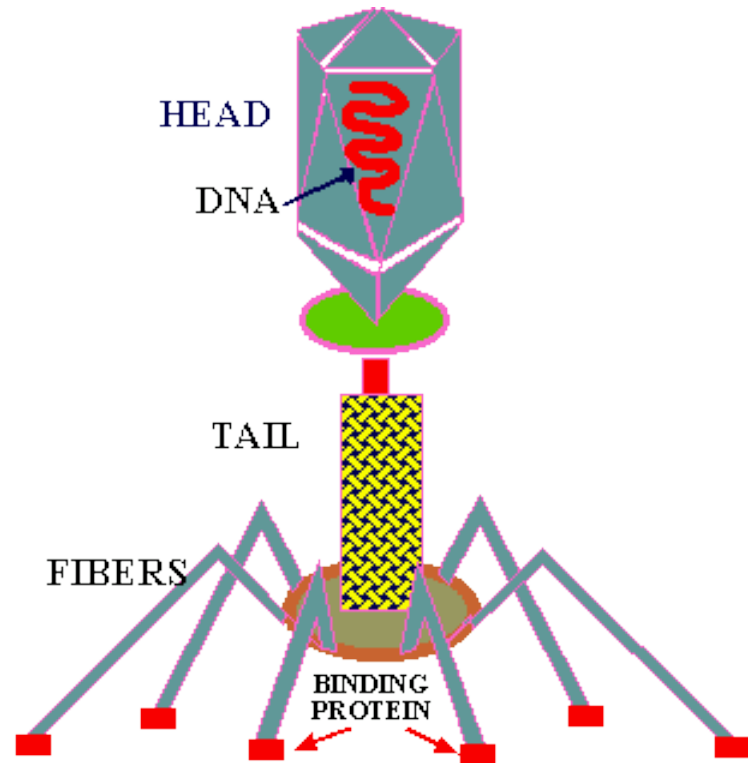
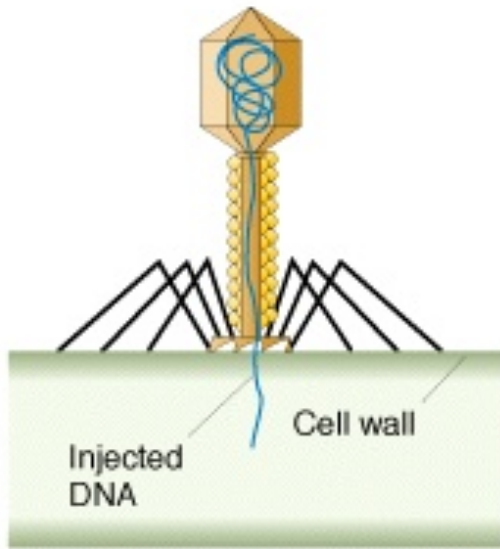
- Transdüksiyon ile gen aktarımı Gram negatif (*Salmonella, E. coli, Shigella, Proteus, Vibrio, P. aeruginosa*) ve Gram pozitif m.o.larda (stafilokok ve basiller)
- Fajlar bakterileri parçalayan veya lize eden viruslardır (bakteriyofaj). Konakçıya özel olup, bakteri fajları arasında tür spesifitesi vardır.

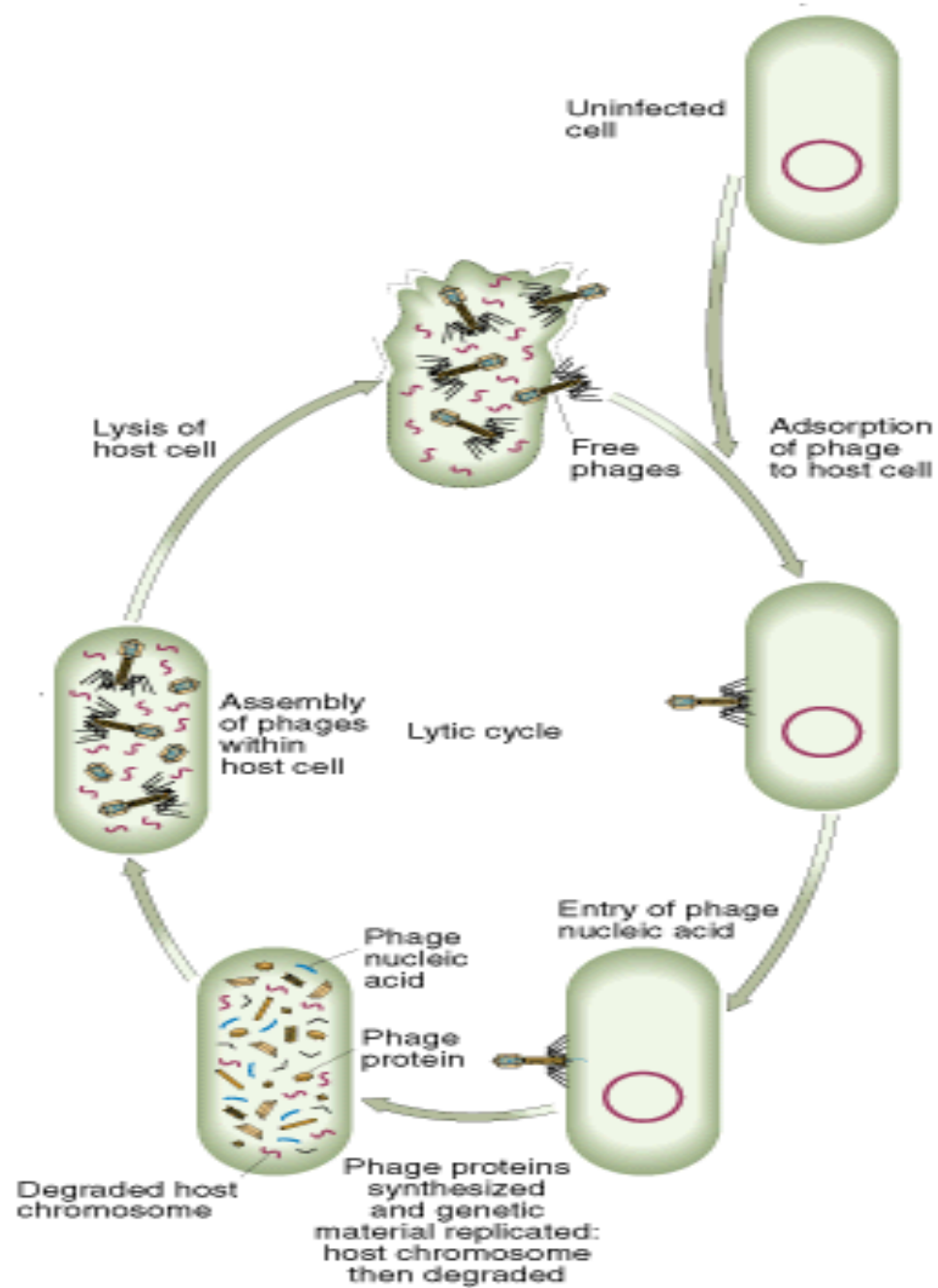
Fajlar;

- konakçı hücre sine girdikten sonra replike olan ve bakteriyi parçalayan *virulent veya vegetatif fajlar*
- İnfekte ettiği hücreyi lize etmeyen; *temperate fajlar*
- Konakçı DNA'sı ile birleşenler; *profajlar*
- içerisinde profaj halinde bakteriyofaj bulunduran hücreler; *lizojenik hücreler*



Infecting phage



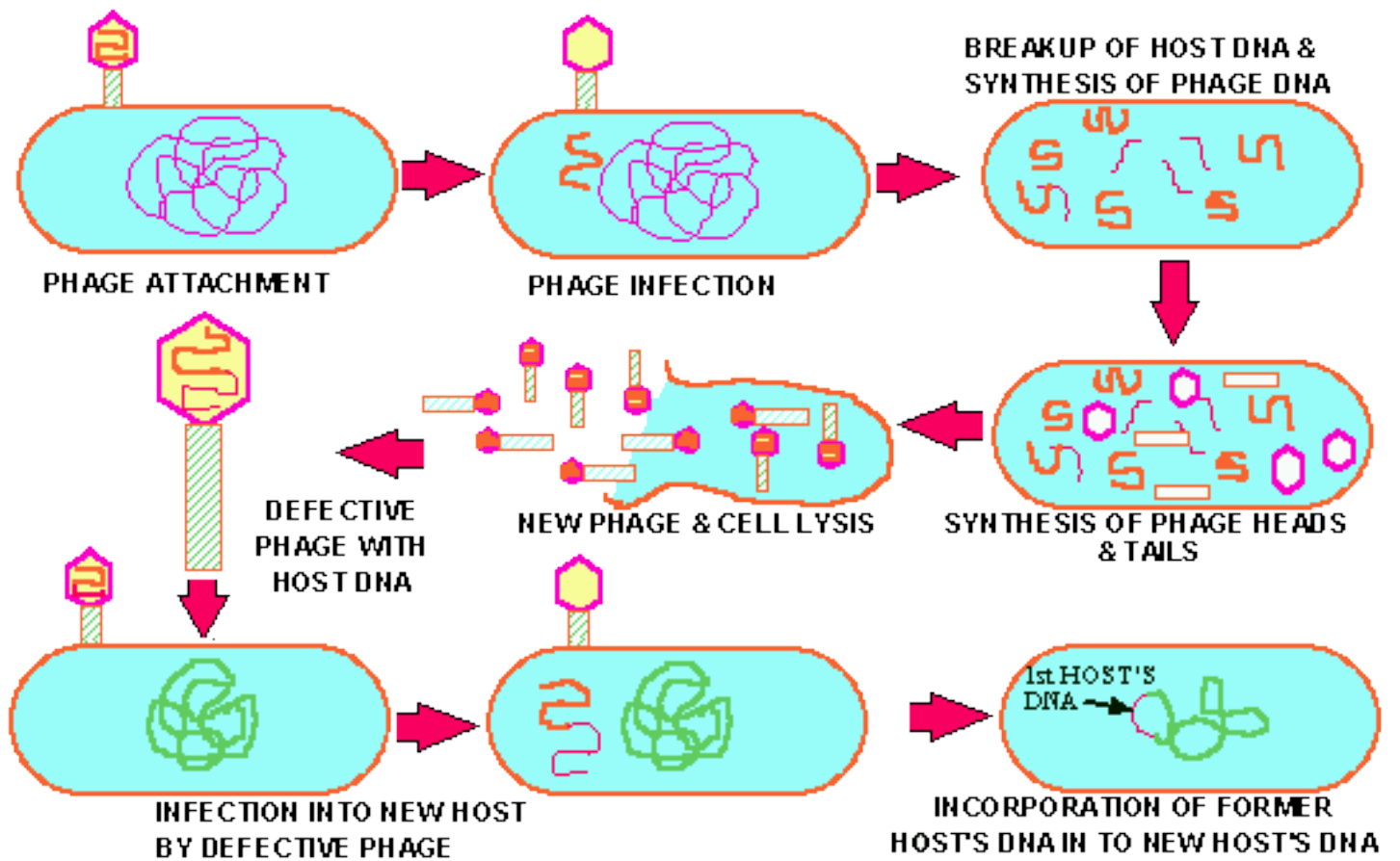


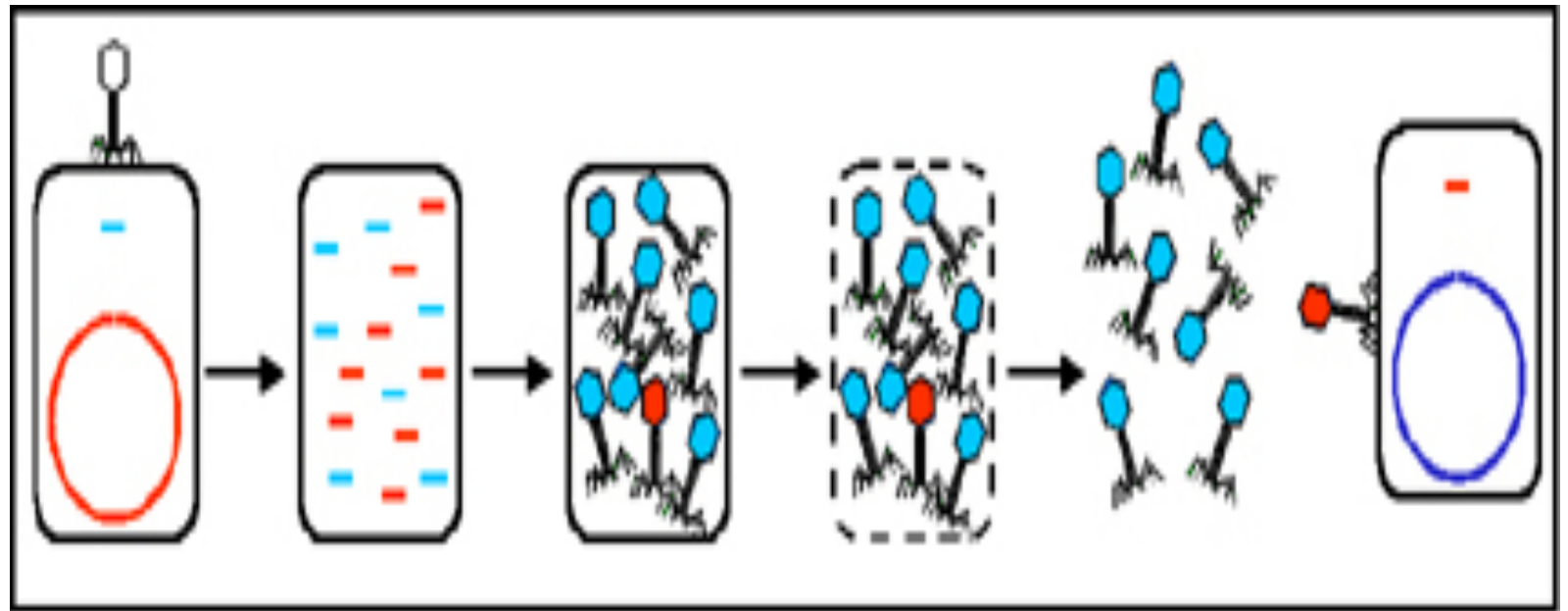
Transdüksiyon Çeşitleri

1. Generalize transdüksiyon
2. Özel transdüksiyon
3. Abortif transdüksiyon

1. Generalize Transdüksiyon

- Bakteri hücresi içerisinde faj olgunlaşırken, parçalanan konakçı DNA'sından bir segment ayrı yerde sentezlenen faj kapsidi içerisinde (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.





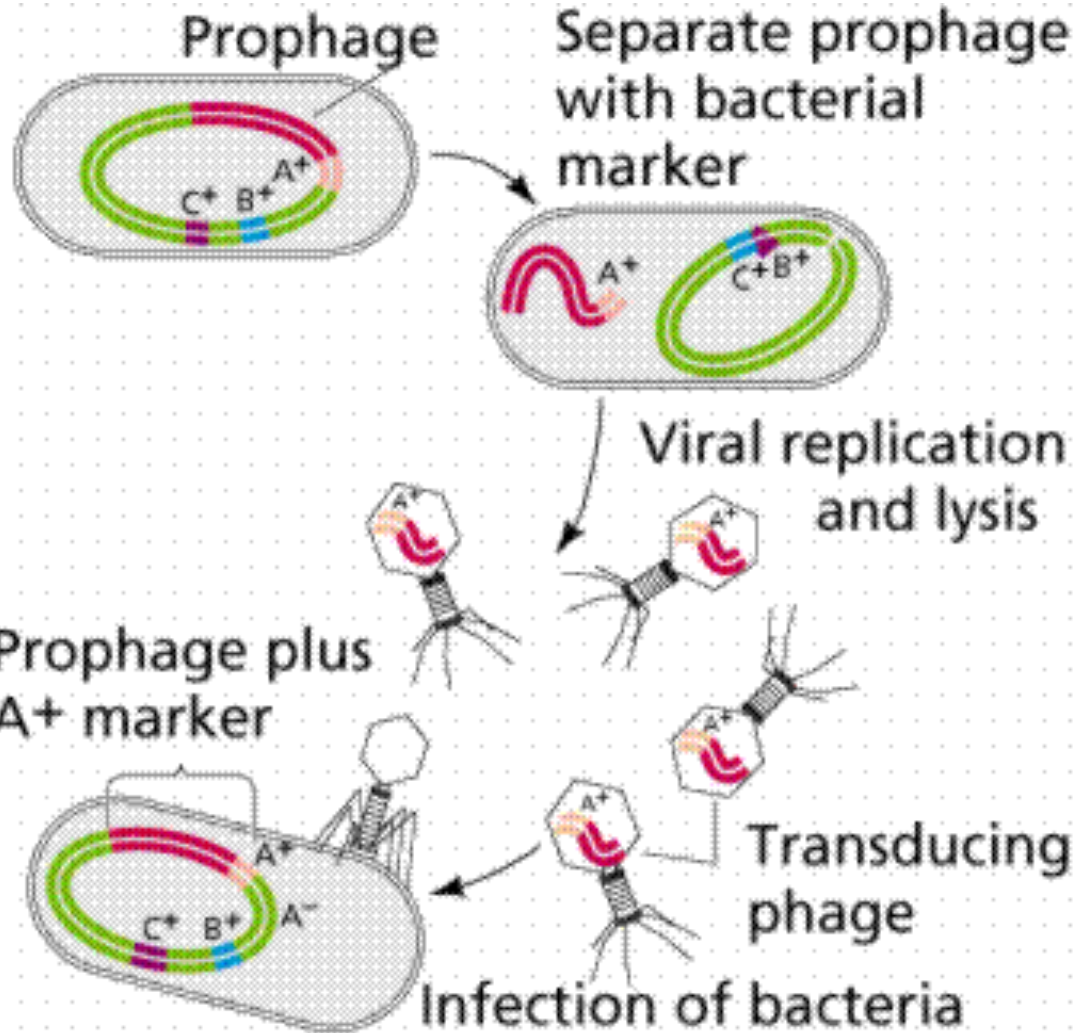
2. Özel Transdüksiyon

- 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.

Sınırlı transdüksiyon

- Bazı durumlarda, profaj, konakçı DNA'sından ayrılırken ve konakçı DNA'sından bir segment alırken buna karşılık kendi DNA'sından da bir kısmını konakçı DNA'sı üzerinde bırakabilir.
- Bu şekilde eksik olan faj genomu infekte ettiği başka bir hücrede replike olmaz ve olgunlaşamaz. Böyle transdüksiyona **sınırlı transdüksiyon** adı verilir.

Restricted transduction



A^- cell becomes A^+ with incorporation of marker carried by transducing phage

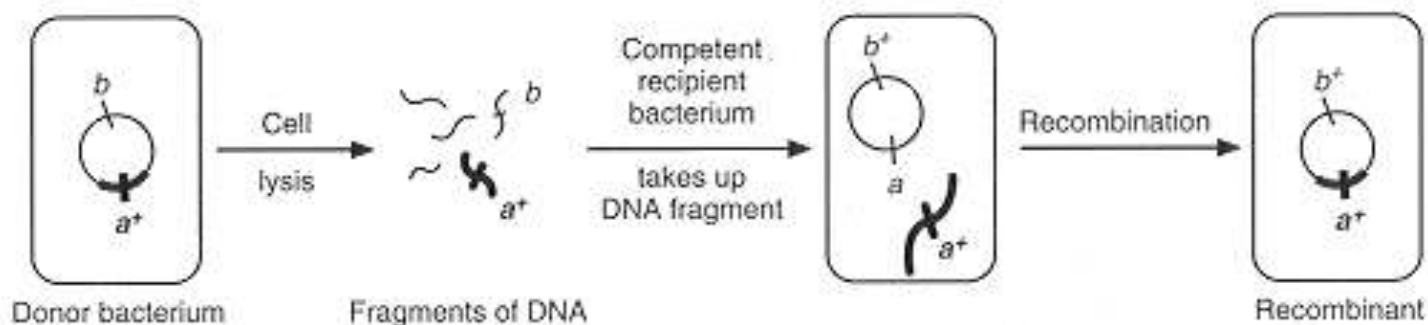
3. Abortif transdüksiyon

- 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.

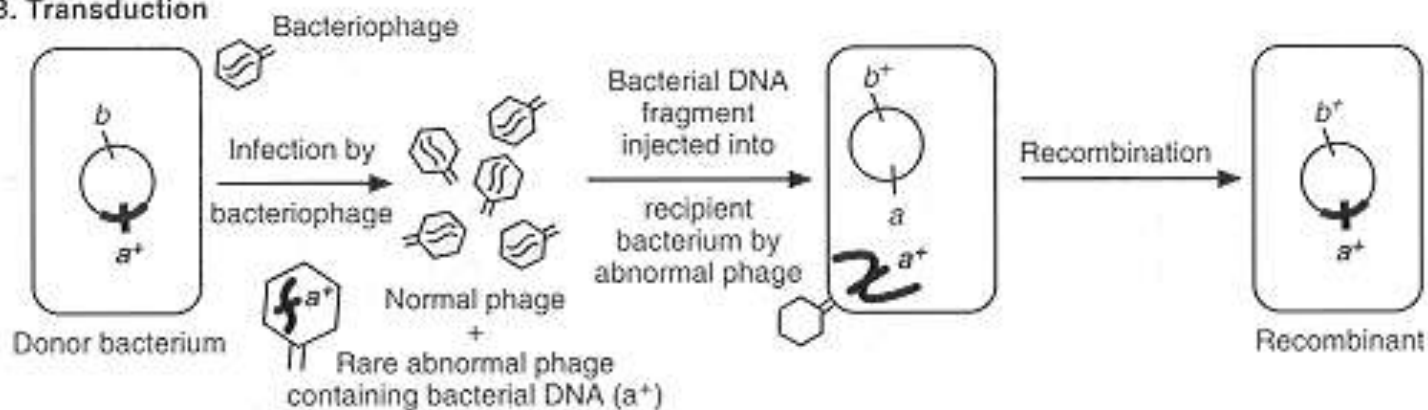
Lizojenik ve antijenik konversiyon

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

A. Transformation



B. Transduction



C. Conjugation

