

# MOLEKÜLER BİYOLOJİ II B208

Prof. Dr. Özlem OSMANAĞAOĞLU

## A BAKTERİLERDE KISA YAŞAM SIKLUSU

Bakteriler değişen çevre koşullarına nasıl adapte olurlar?

- A. Bakterilerdeki kısa yaşam siklusu onların değişen çevre şartlarına adapte olmalarını sağlamaktadır
- B. Genetik rekombinasyon yeni bakteriyal suşların oluşumuna sebep olmaktadır
- C. Gen ekspresyonunun kontrolü tek bir bakterinin değişen çevre koşullarına karşı kendi metabolizmasını ayarlamasını sağlamaktadır
- D. Mutasyonlar genomdaki nükleotit sekansında meydana gelen kalıcı değişiklikler

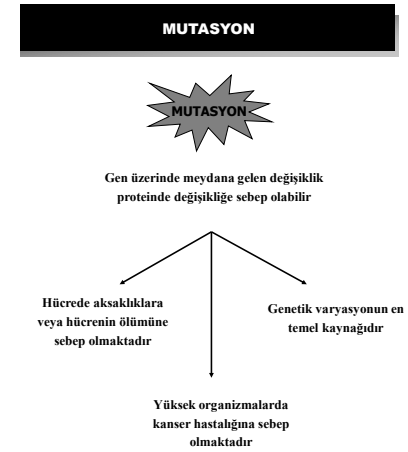
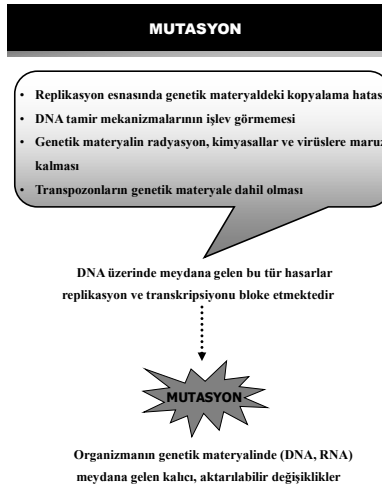
## B GENETİK REKOMBİNASYON

## C

### GEN EKSPRESYONUNUN REGÜLASYONU

## D

### MUTASYONLAR



## MUTASYON

- Mutasyonlar genlerin anlamını değiştirirler
- En basit mutasyon **nokta mutasyon** veya **tek bir kodonu etkileyen tek bir nükleotiddeki değişikliklerdir**
- Eğer spesifik bir proteini kodlayan gen mutasyona uğrarsa, proteini meydana getiren amino asit sekansında değişikliğe sebep olur ve proteinin aktivitesi değişebilir
- Ancak, her zaman fenotipte değişikliğe sebep olmazlar
- **Mutasyon** genotipti ifade eder, **mutant** alışılmamış fenotipi taşıyan suşu ifade eder

## MUTASYON (GENOTİP vs FENOTİP)

- Mutasyona bağlı olarak mutant suş, kendisinin oluşumuna sebep olan parental suştan fenotip bakımından farklılık gösterebileceği gibi göstermeyebilir

## MUTASYON

- **Mutant suş** parental suştan **genotip** bakımından farklılık göstermektedir, yani genomdaki nükleotit sekansı
- Ancak, bununla beraber, **fenotip** bakımından yani gözlemlenebilir özellikleri bakımından da parental suştan farklılıklar sergileyebilir
- Değişikliğe uğramış fenotip **mutant\_\_fenotipi** olarak isimlendirilir
- Doğadan izole edilmiş olan suş **wild-tip suş** olarak bilinir
- Mutant türevleri ise wild-tip suşlardan veya diğer başka bir mutant suştan elde edilir

## MUTASYON (GENOTİP vs FENOTİP)

- Geleneksel olarak organizmanın **GENOTİPİ** üç küçük italik harfî takiben bahsi geçen geni belirleyen büyük harf ile ifade edilir
  - Örneğin, *Escherichia coli* deki *hisC* geni histidine amino asitinin biyosentezinde gerekli olan HisC proteinini kodlamaktadır
  - *hisC* genindeki mutasyonlar *hisC1*, *hisC2* vs şeklinde ifade edilir, numaralar ise mutant suşun izolasyon sırasını göstermektedir
  - Her bir *hisC* mutasyonu farklıdır ve HisC proteinini farklı şekillerde etkiler

### MUTASYON (GENOTİP vs FENOTİP)

- Organizmanın **FENOTİPİ** ise bir büyük harf ve kendisini takip eden iki küçük harf ile beraber özelliğın varlığını veya yokluğunu belirleyen + veya – üst yazısı ile ifade edilir
  - Örneğın, *Escherichia coli* deki His<sup>+</sup> suşu ihtiyaç duymuş olduğu histidine amino asitini sentezleyebilme kapasitesine sahipken His<sup>-</sup> suşu bunu yapamaz
  - His<sup>-</sup> suşunun üreyebilmesi için bulunduğu besi ortamına histidine desteğı gerekmektedir
  - Ve hisC genindeki mutasyon His<sup>-</sup> fenotipine sebep olabilir, eğer HisC proteininde fonksiyon kaybına sebep olursa

### Protein seviyesinde mutasyonun etkileri. . .

- ✓ Protein üretimini durdurur veya yavaşlatır
- ✓ Proteinlerin fonksiyonlarına zarar verir
  - Salınımını, lokasyonunu ve diğeri proteinlerle interaksyonunu etkiler
- ✓ Proteinin çok fazla üretimine neden olur

### MUTASYONUN FENOTİPİK ETKİLERİ

- **Neutral**
  - Kimyasal olarak benzer bir amino asit ile yer değışimi
- **Fonksiyon kaybı**
  - Protein fonksiyonunun kısmen veya tamamen eksikliğı
  - Genellikle recessive'dir
- **Fonksiyon kazancı**
  - Yeni özelliklerin oluşumuna veya özelliklerin uygunsuz dokularda veya uygunsuz zamanda ortaya çıkmasına sebep olur
  - Genellikle dominant'dır

### MUTASYON

- Her bir genin kendine has karakteristik bir mutasyon hızı vardır
- Doğal ve sentetik kimyasallar ve radyasyon mutasyon hızını artırır
- Sadece germ hücrelerinde meydana gelen mutasyonlar bir sonraki jenerasyona aktarılır
- Önemli evrimsel sonuçlar doğur. . .

## MUTASYON TİPLERİ

Mutasyon, genetik varyasyonun en iyi kaynağıdır

- Mutasyonlar her zaman zararlı olmak durumunda değildir !!
- Mutasyonun tipine ve çevreye bağlı olarak etki göstermektedir

### GERMLINE

- germline mutasyonlar gametlerde veya gamet üreten hücrelerde meydana gelir
- bir sonraki jenerasyona aktarılır (mayoz öncesinde replikasyon esnasında meydana gelen mutasyon) ve yeni alel kaynağıdır
- Dolayısıyla evrimsel bakış açısından oldukça öneme sahiptir

### SOMATİK

- somatik mutasyonlar bir sonraki jenerasyonu etkilemez çünkü somatik hücrelerde (vücut hücrelerinde) meydana gelmektedir
- ancak bireyde hastalığa sebep olabilmektedir (mitoz öncesinde replikasyon esnasında meydana gelen mutasyon)
- Evrimsel bakış açısından öneme sahip değildir

## Bakteryal mutantların ifadesi

MUTANT TİPİ	İFADE	ÖRNEK
-------------	-------	-------

### BESİNSEL MUTANTLAR

1. Karbon kaynağı kullanma kapasitesine sahip olmayan	Sub <sup>-</sup>	Lac <sup>-</sup>
2. Karbon kaynağı kullanma kapasitesine sahip olan	Sub <sup>+</sup>	Lac <sup>+</sup>

### YAPISAL MUTANTLAR

1. Fimbriae'si olmayanlar	Fim <sup>-</sup>	Fim <sup>+</sup>
2. Hareket yeteneğini kaybedenler	Mot <sup>-</sup>	Mot <sup>+</sup>
3. Flagella'sını kaybedenler	Fla <sup>-</sup>	Fla <sup>+</sup>

ANTİBİYOTİĞE DİRENÇ	AB <sup>r</sup>	Amp <sup>r</sup>
---------------------	-----------------	------------------

ANTİBİYOTİĞE HASSASİYET	AB <sup>s</sup>	Amp <sup>s</sup>
-------------------------	-----------------	------------------

## Geri mutasyonlar (reversion)

- Nokta mutasyonlar **REVERSION** adı verilen bir işlem aracılığı ile geri dönüşüme uğrayabilir
- Wild-tip fenotipini kaybetmiş olan mutant suş bu özelliğini tekrar kazandığında **REVERTANT** olarak isimlendirilmektedir

## Bakteryal mutantların ifadesi

MUTANT TİPİ ÖRNEK	İFADE
----------------------	-------

### AUXOTROPHIC MUTANT

1. Amino asit sentezi için gerekli olan metabolik yolda bloke olanlar	AA <sup>-</sup> Trp <sup>-</sup>
Wild tip	AA <sup>+</sup> Trp <sup>+</sup>
2. Amino asit sentezi için gerekli olan metabolik yolda bloke olanlar	Vit <sup>-</sup> Thi <sup>-</sup>
Wild tip	Vit <sup>+</sup> Thi <sup>+</sup>

### MUTASYONLARIN SEBEPLERİ

- Replikasyonda meydana gelen hatalar
  - DNA tamir mekanizmasının zayıflığından kaynaklanan
  - Telomer uzunluğu ile limitlidir

### MUTASYONLARIN SEBEPLERİ

- Replikasyonda meydana gelen hatalar
  - DNA tamir mekanizmasının zayıflığından kaynaklanan
  - Telomer uzunluğu ile limitlidir
- Diğer biyolojik maddeler
  - Mobil Genetik Elementler (Virusler, Transposonlar)

### MUTASYONLARIN SEBEPLERİ

- Replikasyonda meydana gelen hatalar
  - DNA tamir mekanizmasının zayıflığından kaynaklanan
  - Telomer uzunluğu ile limitlidir
- Diğer biyolojik maddeler
  - Mobil Genetik Elementler (Virusler, Transposonlar)
- Çevresel mutajenik faktörler
  - Ultraviyole ışığı, radyasyon
  - Reaktif hücresel metabolitler
  - Mutajenik Kimyasallar
    - sigara, endüstriyel atıklar, doğal toksinler

### MUTASYON TİPLERİ

**GEN MUTASYONU**  
(bir veya birkaç bazda değişiklik)

**KROMOZOM MUTASYONU**  
(kromozom yapısında ve sayısında değişiklik)

## GEN MUTASYONU

Gen mutasyonu  
gündeki baz sekansında meydana gelen değişikliklerdir

- **FRAMESHİFT MUTASYON**
  - Delesyon (mRNA oluşumu esnasında gen bölgesinden baz çıkarılması)
  - İnsersiyon (mRNA oluşumu esnasında gen bölgesine ekstra baz ilavesi)
    - Her ikisi de okuma çerçevesinde (reading frame) kaymaya sebep olduğundan genetik mesajda değişikliğe sebep olur
    - Sonuç: amino asit sekansında değişiklik
- **NOKTA MUTASYON (POINT MUTATION)**
  - Tek bir bazda meydana gelen değişiklik
    - silent mutation (amino asitte değişiklik yok)
    - nonsense mutation (transkripsiyon son bulur)
    - missense mutation (farklı bir protein oluşumu)

## GEN MUTASYONU

- Nokta mutasyonun orijini:
  - Çevresel etkiler olabilir
    - Örn. nükleotit sekansında değişikliğe sebep olan mutajen etkisi ile
    - Mutajen ile mutasyon oluşumuna **mutagenesis** denmektedir
  - Spontan olabilir
    - Herhangi bir mutajen olmadan meydana gelebilir
    - Örn. DNA replikasyonunda meydana gelen bir hata tarafından olabilir

## GEN MUTASYONU

### NOKTA MUTASYON

5' AACGCTAGATC 3' → 5' AACGCGAGATC 3'  
3' TTGGATCTAG 5' → 3' TTGGCTCTAG 5'

- Kodon değişikliğine sebep olan sadece tek bir nükleotiddeki değişiklik polipeptit zincirine yanlış amino asitin dahil edilmesine sebep olabilir, bu **nokta mutasyon** veya **base substitution mutasyon** olarak bilinmektedir
- Evrim açısından önemli bir mutasyon tipidir
- Fonksiyon kazancından çok fonksiyon kaybına sebep olmaktadır

## GEN MUTASYONU

### NOKTA MUTASYON TİPLERİ

#### MISSENSE MUTASYON

- **Kodlama bölgesi içerisinde meydana gelen** ve amino asit değişimine sebep olan nokta mutasyon tipi **missense mutasyondur**
- Farklı amino asitin polipeptit zincirine dahil olması neticesinde protein son şekli (üç boyutlu yapısını) alamayabilir
  - Fenotip üzerinde bir etkiye sahip olmayan missense mutasyonları **neutral mutasyonlardır**
    - Netral mutasyonlarda genelde benzer amino asitler arasındaki değişimler söz konusudur (e.g. Asidik amino asit yerine asidik bir başka amino asitin gelmesi, polar yüksüz bir amino asit yerine yine polar ve yüksüz başka bir amino asitin gelmesi gibi).

**GEN MUTASYONU (NOKTA MUTASYON)****SILENT (SESSİZ) MUTASYON**

- Kodlama bölgesinde meydana gelen nokta mutasyon kodon anlamını değiştiremez (amino asit sekansı aynen kalır, *değişikliğe uğramaz*), bu tip mutasyonlara *silent veya sessiz mutasyon* denmektedir
- Kodon değişikliği neticesinde aynı amino asit kodlanabilir (codon degeneracy)

```
AUG CCU CAA UUG UAG
met pro gln leu stop
```



```
AUG CCG CAA UUG UAG
met pro gln leu stop
```

**GEN MUTASYONU (NOKTA MUTASYON)****NONSENSE MUTASYON**

- Stop kodon oluşumuna sebep olan nokta mutasyon tipi *Nonsense mutasyondur*
- Amino asit kodlaması gereken kodon mutasyon neticesinde stop kodona dönüştüğünde, meydana gelen protein fonksiyon gösteremeyecek kadar kısa olabilir
- Nonsense mutasyonlar hemen her zaman proteinin fonksiyonunu bozmaktadır çünkü translasyon işleminin erken terminasyonuna sebep olmaktadır

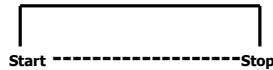
```
AUG CCU CAA UUG UAG
met pro gln leu stop
```



```
AUG CCG CAA UUG UAG
met pro gln leu stop
```

**GEN MUTASYONU (FRAME SHIFT MUTASYON)**

- Kodlama sekansını etkileyen bir mutasyon şekli (kodlama sekansında meydana gelir)
- Bir veya daha fazla sayıda nükleotidin (*ama 3 veya katları şeklinde değil !!!!*) eklenmesi (insersiyon) veya çıkarılması (delesyon) DNA sekansındaki okuma çerçevesinde (*reading frame*) değişikliğe sebep olmaktadır ve *frameshift mutasyon* olarak bilinmektedir



- Bilinen tüm mutasyonların % 5-10'u baz eklenmesi veya çıkarılması şeklinde kendini gösteren frameshift mutasyonlardır

**GEN MUTASYONU (FRAME SHIFT MUTASYON)**

- Ekleme ve çıkarmalar (Frameshift mutasyon), nokta mutasyona kıyasla, neredeyse her zaman genin dolayısıyla da proteinin fonksiyonunu bozmaktadır

**Baz ilavesi**

```
AUG CCU CAA UUG UAG ----- AUG CCC UCA AUU GUA G
met pro gln leu stop          met pro ser ile val
```



## GEN MUTASYONU (FRAME SHIFT MUTASYON)

- Bazların DNA sekansına eklenmesi veya çıkarılması 3 veya katları şeklinde ise, [o\\_zaman\\_frameshift\\_mutasyon\\_dan\\_bahsetmiyoruz](#)
- 3 nükleotitin eklenmesi/çıkarılması 1 kodonun dolayısıyla da 1 amino asitin eklenmesine/çıkarılmasına sebep olmaktadır
- 3, 6, 9, 12 vs şeklinde nükleotitlerin eklenmesi/çıkarılması [Open Reading Frame \(ORF\)](#)'yi muhafaza etmektedir
- 3 nükleotitin eklenmesi ile ortaya çıkan aksaklıklar
  - Fragile X-Sendromu
    - CGG tekrarı
  - Huntington's hastalığı
    - CAG tekrarı

## GEN MUTASYONU

### Gen seviyesindeki mutasyonların sonuçları

- **Mutasyon kodlama sekansı içerisinde meydana gelmişse:**
  - değişikliğe uğrayan protein aynı enzimatik veya yapısal aktivitesini muhafaza edebildiği için farklı bir sonuç gözlemlenmez
  - enzimatik aktivitede değişikliğe sebep olabilir- bu da organizmaya faydalı olabileceği gibi zararlı da olabilir
  - translasyon işleminin erken terminasyonuna sebep olabilir- netice tamamlanmamış ve fonksiyon gösteremeyecek kadar kısa olan protein ürünüdür
- **Mutasyon kodlama sekansı içerisinde meydana gelmemişse (örneğin regülasyondan sorumlu olan bölgede olabilir) gözlemlenebilir bir etkiye sahip olabilir veya olmaz**

## GEN MUTASYONU

### MUTASYON

ister [Nokta \(point\)](#) ister [Frameshift](#) mutasyon olsun,  
elde edilen sonuç  
değişikliğe uğramış olan gen tarafından kodlanan  
proteinin amino asit sekansındaki değişikliklerdir

## GEN MUTASYONU

### Gen seviyesindeki görülen mutasyonların protein üzerindeki etkileri

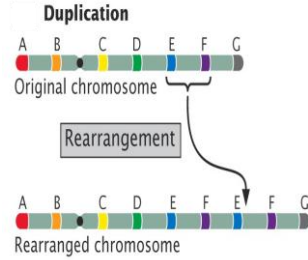
Mutasyonun gendeki yerleşimi	Gen fonksiyonu üzerindeki etkisi
Çok geni kapsayan delesyon	Bileşik ve komplek gen sendromları
Toplam gen delesyonu	İşlevsiz gen, protein sentezi olmaz
Toplam ekson kaybı	Unstabil ve işlevsiz protein sentezi
Ekson içi delesyonu	Polipeptid zincirinde çarçeve kayması yada a.a kaybı
Intron mutasyonları	Genellikle polimerifik üsütlük taşır
Splice bölge mutasyonu	Splicing mekanizmasını etkiler, translasyon olmaz
Promoter bölge mutasyonu	Gen ifade düzeyini değiştirir yada engeller
Stop kodon mutasyonu	Kısa ve işlevsiz protein sentezi
PoIIA sinyal bölge mutasyonu	Olgunlaşmamış mRNA nedeniyle protein sentezi olmaz yada kısa imarlı oligo mRNA nedeniyle protein sentezinde azalma

**KROMOZOM MUTASYONU**

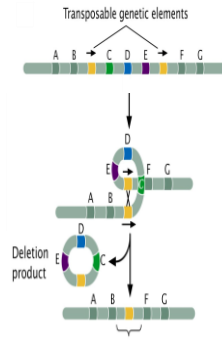
Kromozomun yapısında meydana gelen değişiklikler

- 1) Kromozoma bir segmentin eklenmesi:

[Kromozom duplikasyonu](#)

**KROMOZOM MUTASYONU**

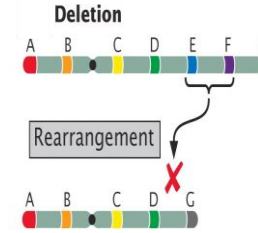
Kromozomun yapısında meydana gelen değişiklikler

**KROMOZOM MUTASYONU**

Kromozomun yapısında meydana gelen değişiklikler

- 2) Kromozoma ait bir segmentin kaybolması:

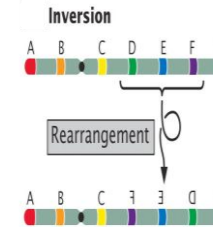
[Kromozom delesyonu](#)

**KROMOZOM MUTASYONU**

Kromozomun yapısında meydana gelen değişiklikler

- 3) Kromozoma ait bir segmentin ters dönmesi:

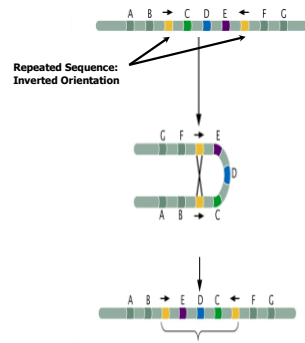
[kromozom inversion](#)



## KROMOZOM MUTASYONU

Kromozomun yapısında meydana gelen değişiklikler

### Inversion mekanizması



## KROMOZOM MUTASYONU

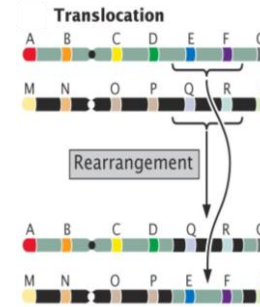
Kromozomun sayısında meydana gelen değişiklikler

Aneuploidi	Change in number of individual chromosomes
Nulisomy	Loss of both members of a homologous pair
Monosomy	Loss of one member of a homologous pair
Trisomy	Gain of one chromosome, resulting in three homologous chromosomes
Tetrasomy	Gain of two homologous chromosomes, resulting in four homologous chromosomes
Polyplödi	Addition of entire chromosome sets
Autopoliploidi	Polyplödi in which extra chromosome sets are derived from the same species
Allopoliploidi	Polyplödi in which extra chromosome sets are derived from two or more species

## KROMOZOM MUTASYONU

Kromozomun yapısında meydana gelen değişiklikler

- 4) Kromozoma ait bir segment başka bir kromozoma dahil olmuşsa: translokasyon



## MUTASYON OLUŞUMUNUN TEMEL SEBEPLERİ

- SPONTANEOUS MUTASYON
  - Doğal koşullarda meydana gelen mutasyon şekli
- INDUCED MUTASYON (CHEMICAL)
  - Kimyasal veya fiziksel mutajenlere maruz kalma neticesinde meydana gelen mutasyon şekli
  - radyasyon

## MUTAJENLER

- > **Mutajenler** mutasyon hızını arttıran fiziksel, kimyasal veya biyolojik ajanlardır
- > Bazı mutajenler nokta mutasyonun bazıları ise frameshift mutasyonun sebep olurken bazıları her ikisine birden sebep olmaktadır

## MUTAJENLER

### Mutajenler

DNA molekülünün yapısını değiştiren kimyasal madde, biyolojik madde veya elektromanyetik radyasyon formlarıdır

Mutagen	Effect(s) on DNA Structure
<i>Chemical</i>	
Nitrous acid	Deaminates bases
Hydroxylamine	Hydroxylates cytosine
Nitrogen mustard	Alkylating agent
Ethyl methanesulfonate	Alkylating agent
Proflavin	Interchelates within DNA helix
5-bromouracil	Base analogue
2-aminopurine	Base analogue
<i>Physical</i>	
UV light	Promotes pyrimidine dimer formation
X rays	Causes base deletions, single nicks in DNA strands, cross-linking, and chromosomal breaks

## MUTAJENLER

### Kimyasal mutajenler

HNO<sub>2</sub>, Nitrogen mustard, EMS, NH<sub>2</sub>OH

Intercalating agents (acridine boyaları, EtBr vs.)

Baz analogları (5-bromouracil ve 2-amino purine)

### Fiziksel mutajenler

UV radyasyon

İyonize radyasyon (X-ışınları, cosmic ışınlar ve gamma ışınları)

### Biyolojik mutajenler

Insertion sequences (IS)

Transposonlar

Virüsler

## MUTAJENLER

### Moleküler mekanizması

#### > BAZ ÇİFTİNDE DEĞİŞİMLER ve SEBEPLERİ:

- Tautomerizasyon
- Deaminasyon
- Replikasyon hataları
- Alkilasyon
- Hidroksilasyon
- Baz analoglarının inkorporasyonu
- Oksijen radikalleri

#### > BAZ DELESYONLARI ve SEBEPLERİ:

- Depürinasyon
- Thymine dimer oluşumu

#### > BAZ İLAVELERİ: (intercalating agents)

## MUTASYON OLUŞUM MEKANİZMALARI

- \* Tautomerik Değişimler
- \* Baz analogları
- \* Alkileyici ajanlar
- \* Apürinik bölgeler ve diğer lezyonlar
- \* Ultraviyole radyasyonu ve Timin dimerleri
- \* Yüksek enerjili radyasyon hücrelere girer ve mutasyon oluşumunu uyarır

## BAZ ÇİFTİNDE DEĞİŞİMLER

### 1) TAUTOMERIC KAYMALAR

Örneğin, guanine bazı *keto* (normalde cytosine ile baz eşleşmesi yapar) veya *enol* formda bulunabilir



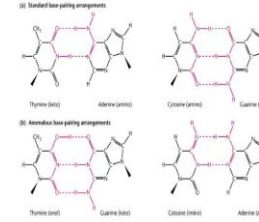
Tercih edilen form *keto* formudur, *ancak proton ve bazı elektronlardaki kaymalardan dolayı geçici bir süreliğine enol form oluşabilir.*

*Bazların değişik tautomer formları farklı eşleşme özelliklerine sahiptir.*

**Guanine** bazı 3 yerine 2 H bağına sahip olabilir ve dolayısıyla da thymine ile baz eşleşmesi yapabilir

## BAZ ÇİFTİNDE DEĞİŞİMLER

### 1) TAUTOMERIC KAYMALAR



DNA molekülünde bulunan bazıları *tautomerizasyon* olarak isimlendirilen spontan yapısal değişikliklere maruz kalabilir ve DNA molekülünde bulunan *pürin ve pirimidinler kendi aralarında dönüşüm yapabilen iki farklı formda bulunurlar* (yani her biri molekülde tek bir protonun kayması ve bazı elektronlardaki kaymalardan dolayı farklılık gösteren farklı kimyasal formlarda bulunabilir

## BAZ ÇİFTİNDE DEĞİŞİMLER

### 1) TAUTOMERIC KAYMALAR

#### DNA molekülündeki 4 ortak bazın tautomer formları

- **Thymine** bazıda *enol* forma sahiptir, ancak proton ve bazı elektronlardaki kaymalardan dolayı geçici bir süreliğine *keto* form oluşabilir ve 2 yerine 3 H bağını oluşturabilir ve dolayısıyla da guanine ile baz eşleşmesi yapabilir

## BAZ ÇİFTİNDE DEĞİŞİMLER

### 1) TAUTOMERIC KAYMALAR

- Nadir gözlemlenen tautomer olayında normalde birbirlerine tamamlayıcı olmayan bazlar arasında H bağ oluşumu söz konusudur
- Bununla beraber baz eşleşmeleri her zaman pürin ve pirimidin arasında meydana gelir
- Tautomerizasyon sadece *transition mutasyonlarına* sebep olmaktadır (A=T baz eşleşmesinin G=C baz eşleşmesi ile yer değiştirdiği (yada tam tersi))
- *Sonuç: nokta mutasyon*
- *Seyrek de olsa gözlemlenen tautomerik kaymalar genelde DNA replikasyonu esnasında meydana gelmektedir*
- Bu tip tautomerik kaymalar baz eşleşmelerinde değişikliklere veya DNA replikasyonu esnasında mutasyonlara sebep olabilmektedir

## BAZ ÇİFTİNDE DEĞİŞİMLER

### 2) DNA MOLEKÜLÜNÜN DEAMİNASYONU

- Deaminasyon (amino grubunun kaybı), *sitozin* bazını *urasil* bazına dönüştürür (*U bazı normalde DNA da bulunmaz*)
- Eğer düzeltilmezse CG olması beklenen baz eşleşmesi TA baz eşleşmesine döner

## BAZ ÇİFTİNDE DEĞİŞİMLER

### 1) TAUTOMERIC KAYMALAR

Replikasyon esnasında A bazındaki tautomerik kayma neticesinde A-T baz eşleşmesi yerini G-C baz eşleşmesine bırakmaktadır (transition)

## BAZ ÇİFTİNDE DEĞİŞİMLER

### 2) DNA MOLEKÜLÜNÜN DEAMİNASYONU

- Cytosine bazının deaminasyonu *sponten* olabileceği gibi *nitrous acid (HNO<sub>2</sub>)* gibi kimyasal bir mutajen varlığında da indüklenebilir (*induced*)

## BAZ ÇİFTİNDE DEĞİŞİMLER

### 2) DNA MOLEKÜLÜNÜN DEAMİNASYONU

- Her bir insan hücresinde, her gün yaklaşık 10.000 cytosine bazı uracil bazına dönüşmektedir
- Hücreler, DNA molekülündeki bu uracil bazını ortadan kaldırmak için oldukça etkili bir mekanizma geliştirmiştir



## BAZ ÇİFTİNDE DEĞİŞİMLER

### 4) ALKİLASYON

- [Alkilasyon](#) işlemi kimyasal mutajenlerin varlığında indüklenmektedir (induced mutasyon)
- DNA molekülünün omurgasına veya bazlarına [alkyl \(methyl, ethyl, ve bazen propyl\) grupların dahil olması](#)
- Alkilasyon S-adenosyl methionine gibi maddelerin DNA ile reaksiyonu süresinde meydana gelmektedir
- Eğer düzeltilmezse, alkilasyona uğramış bazlar spontan kırılmalara veya yanlış baz eşleşmelerine (nükleotit değişimleri) maruz kalabilir

## BAZ ÇİFTİNDE DEĞİŞİMLER

### 3) REPLİKASYON HATALARI

- Proofreading enzim aktivitesindeki hatadan dolayı yanlış nükleotitin zincire dahil edilmesi (sponten gerçekleşmektedir)
- Çift sarmal heliksin yapısını bozmaktadır
- Eğer onarılmazsa, [nokta mutasyona](#) sebep olmaktadır

## BAZ ÇİFTİNDE DEĞİŞİMLER

### 4) ALKİLASYON

- Alkilasyona sebep olan maddeler
  - EMS (ethyl methane sulfonate)
  - EES (ethyl ethane sulfonate)
  - mustard gas (sulfür mustard)
  - nitrogen mustard
    - Yanlış baz eşleşmelerine ve/veya [depurinasyona](#) sebep olmaktadır
    - Netice frameshift mutasyon

**BAZ ÇİFTİNDE DEĞİŞİMLER****5) HİDROKSİLASYON****BAZ ÇİFTİNDE DEĞİŞİMLER****6) BAZ ANALOGLARININ İNKORPORASYONU****5-bromouracil (5-BU) etkisi**

5-BU molekülü yapısal olarak thymine bazına benzerlik göstermektedir

**BAZ ÇİFTİNDE DEĞİŞİMLER****6) BAZ ANALOGLARININ İNKORPORASYONU**

➤ 5-bromouracil (5-BU) ve 2 aminopurine (2-AP) gibi baz analogları (*replikasyon DNA molekülüne dahil edilecek nükleotit yapısal olarak benzerlik gösteren kimyasal*) geçici tautomerler meydana getirerek baz değişimlerine sebep olmaktadır

- Örneğin, bir thymine analogu olan 5-bromouracil (5-BU) guanine bazı ile bağ oluşturarak TA→CG transition dönüşümüne sebep olmaktadır
- Veya bir adenine analogu olan 2 aminopurine (2-AP) cytosine bazı ile bağ oluşturarak AT baz eşleşmesini GC baz eşleşmesine çevirir (transition)

**BAZ ÇİFTİNDE DEĞİŞİMLER****6) BAZ ANALOGLARININ İNKORPORASYONU****5-bromouracil (5-BU) etkisi**

5-BU sıklıkla enol veya iyonize forma dönüşebilir ve GC baz eşleşmesini AT baz eşleşmesine veya AT baz eşleşmesini GC baz eşleşmesine çevirir (transition)



**BAZ ÇİFTİNDE DEĞİŞİMLER****6) BAZ ANALOGLARININ İNKORPORASYONU**

DNA bazlarının keto ve enol formları  
**tautomer** olarak bilinmektedir

Hem **thymine** bazı hem de **5-bromouracil (5-BU)**  
bu 2 alternatif durumun her hangi birine sahip olabilir

**BAZ ÇİFTİNDE DEĞİŞİMLER****6) BAZ ANALOGLARININ İNKORPORASYONU**

**2-aminopurine (2-AP) etkisi**

GC baz eşleşmesini AT baz eşleşmesine veya AT baz eşleşmesini  
GC baz eşleşmesine çevirir (transition)

**BAZ ÇİFTİNDE DEĞİŞİMLER****6) BAZ ANALOGLARININ İNKORPORASYONU**

**2-aminopurine (2-AP) etkisi**

2-AP molekülü yapısal olarak adenine bazına benzerlik göstermektedir

Analog

Substitutes for

**BAZ ÇİFTİNDE DEĞİŞİMLER****7) OKSİDATİF HASAR GÖRMÜŞ BAZLAR**

Superoxide radikalleri ( $O_2^-$ ), hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) ve hydroxyl radikalleri (OH) gibi aktif oksijen türleri oksijenli solumun ile üretilirler ve DNA molekülüne hasar verebilirler

**BAZ DELESYONLARI****1) DEPURİNASYON**

- Depürinasyon spontan bir şekilde meydana gelmektedir
- DNA omurgasında yer alan [deoksiriboz şekerinin 1. karbonundaki glicosidic bağın hidrolizi](#) neticesinde baz kaybı söz konusudur
- Eğer tamir edilmezse, *apurinic kalp zincir üzerinde bir açıklık meydana gelecektir ki bu da replikasyonun düzgün bir şekilde devamına engel olacaktır*
- *Aflatoxin B1 buna sebep olabilir*

**BAZ DELESYONLARI****1) DEPURİNASYON**

- Depurinasyon işlemi tahmin edebileceğimizden daha sık bir şekilde meydana gelmektedir
- Memeli hücreleri yaklaşık 20 saatlik bir hücre jenerasyon periyodunda DNA'larından yaklaşık 10.000 pürin kaybederler

**BAZ DELESYONLARI****1) DEPURİNASYON**

Guanine bazı ve şeker arasındaki bağın kırılması **apurinic** bölge yaratmaktadır

depürinasyon  
apurinic (abasic) bölge oluşumu

**BAZ DELESYONLARI****2) TİMİN DİMER OLUŞUMU**

- UV irradiasyon ile muamele neticesinde ortaya çıkan thymine dimer oluşumu
- Çift sarmal DNA molekülünde önemli yapısal bozukluklara sebep olmaktadır
- Eğer tamir edilmezse, dimer normal bir baz olarak tanımlanmayacağı için replikasyon esansında karşısına rastgele nükleotitler eklenebilir
- Tek baz delesyonuna ve dolayısıyla da [frameshift mutasyona](#) sebep olmaktadır

## BAZ DELESYONLARI

### 2) TİMİN DİMER OLUŞUMU

#### İYONİZE RADYASYON

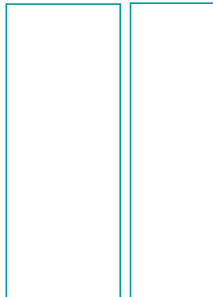
- X ışını, cosmic ışın ve gamma ışını
- İsminden de anlaşılacağı gibi, iyonize radyasyon iyon ve serbest radikal oluşumuna sebep olmaktadır
- Kimyasal olarak reaktif olan bu türler DNA molekülüne atak yaparak baz modifikasyonlarına ve özellikle de tek ve çift zincirde kırılmalara sebep olmaktadır. Sonuç: Nokta mutasyon
- Kırılmalar neticesinde kromozomda oldukça büyük yapısal değişikliklere sebep olmaktadır
- DNA üzerinde üç tip hasara sebep olur
- *Tek-zincir kırılımı*: DNA ligaz tarafından tamir edilebilir, ölümlü sonuçlanmaz
- *Çift-zincir kırılımı*: ligaz tarafından tamir edilemeyip nuclease tarafından degrede edildiği için ölümlü sonuçlanır
- *Bazların değişimi*: meydana geldiği bölgede replikasyon bariyerine sebep olduğundan bu tip oksidatif hasarlar ölümcüldür

## BAZ DELESYONLARI

### 2) TİMİN DİMER OLUŞUMU

UV ışığı *cyclobutane dimer* (pyrimidine dimer) ve *6-4 photoproduct* oluşumuna sebep olmaktadır

Bu oluşumlar DNA üzerinde yapısal bozukluklara sebep olmakta ve DNA replikasyonuna ve transkripsiyona engel olmaktadır



## BAZ DELESYONLARI

### 2) TİMİN DİMER OLUŞUMU

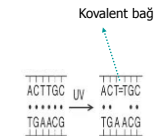
#### UV RADYASYON

- Aynı DNA zincirinde bulunan birbirine komşu iki pirimidinin (genellikle timin) birbirlerine kovalent bağlarla bağlanmasına sebep olur
- Helix yapısı bozulur
- Replikasyon ve transkripsiyon etkilenir
- Tamir edilmezse ölümcüldür

## BAZ DELESYONLARI

### 2) TİMİN DİMER OLUŞUMU

UV ışığı (örn güneş ışınları) maruz kalınması DNA replikasyonunda hata oluşumuna sebep olabilecek thymine dimerlerinin oluşumuna sebep olmaktadır



## BAZ İLAVELERİ

### INTERCALATING MADDELER ve FRAMESHIFT MUTASYON

- Baz ilavelerine normalde **acridine boyaları** gibi kimyasallar (DNA intercalating chemicals) sebep olmaktadır
- Bu boyalar DNA zincirinde birbirine komşu olan bazlara yapışarak çift sarmal heliks yapısını bozar ve yeni bir bazın eklenmesine veya çıkarılmasına sebep olur

## MUTAJENLER

Bir mutasyonun spontan olarak mı yoksa bir mutajen tarafından mı meydana geldiğini bilmek neredeyse imkansızdır ...



## BAZ İLAVELERİ

### INTERCALATING MADDELER ve FRAMESHIFT MUTASYON

- Frameshift mutasyona sebep olmaktadır
- Örneğin
  - Ethidium bromide
  - Acridine orange

## MUTAJENLER

- DNA da hasar değişik şekillerde meydana gelebilir
- DNA üzerindeki hasarın hücreler tarafından tamir edilmesi gerekmektedir
- Dolayısıyla farklı tamir mekanizmaları bulunmaktadır



**AMES TARAMA TESTİ**

- 1) Çalışmanın 3 temel prensibi vardır
  - Biyosentetik yolda, mutant gendeki reversion ölçülebilir
  - Reversion frekansı mutajenlerin varlığında artmaktadır
  - Kanserojenlerin çoğu mutajendir
- 2) Test edilen kimyasal maddenin mutajen olduğu ortamda bulunan ve histidine amino asidine ihtiyaç duyan *Salmonella* suşunun artık histidine amino asidine ihtiyaç duymayan suşa dönüşümü neticesinde tespit edilmektedir
- 3) Eğer test edilen kimyasal madde mutajen bir madde ise, histidine mutantının reversion hızı test kimyasalına maruz bırakılmayan ortamdaki normal reversion hızına göre artmaktadır

**AMES TARAMA TESTİ**

- Kimyasal maddenin mutajen olup olmadığının belirlenmesi
- Çalışmada kullanılan *Salmonella typhimurium* suşu gelişebilmek için histidine amino asitinin varlığına ihtiyaç duyan His<sup>-</sup> auxotrop'dur. Suş aynı zamanda SOS<sup>+</sup> dir
- Eğer test edilen kimyasal madde mutajen ise, "geri mutasyon" yani His<sup>-</sup>→ His<sup>+</sup> beklenmektedir

Mutasyonlar akümüle olur

Genler bir bakteriden diğerine transfer edilir (genetik rekombinasyon)

Viral genomlar hücreye dahil olup daha sonra hücreyi terk edebilir

Transposable elementler genom içerisinde bir bölgeden başka bir bölgeye hareket edebilir

Neticede çevreye daha iyi adapte olabilen bireyler ortaya çıkar