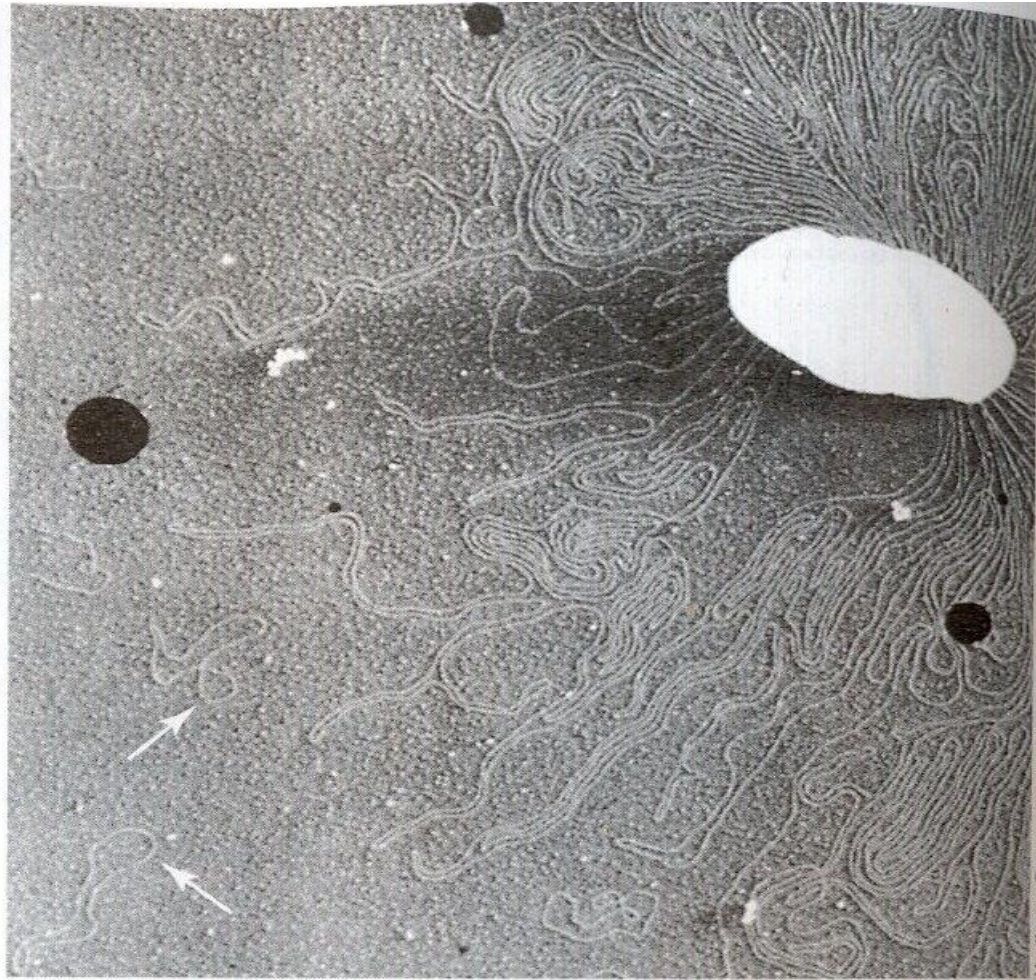


PLAZMİD ve TRANSPOZON

Plazmidler

- Kromozomlara ek olarak,
- Çoğunlukla çift iplikli çembersel DNA yapısında
 - Linear yapıya rastlanabilir
- içinde buldukları bakterilere bazı özellikler kazandıran
 - bu özellikleri genetik kontrol altında tutan elementler (**replikon**lar)

- Bakteri kromozomundan küçük yapılardır.
 - Boyutları 1.5 kilobaz ile 120 kilobaz
 - Pseudomonas plazmidleri arasında değişir
- Büyük plazmidler küçük plazmidlerden daha kolay transfer edilirler
- **Plazmidler, kromozomal replikasyon ve hücre bölünmesi ile ilişkisiz olarak replike olabilirler**



Huntington Potter and David Dressler

● **Figure 10.17** The bacterial chromosome and bacterial plasmids, as shown in the electron microscope. The plasmids (arrows) are the circular structures, and are much smaller than the main chromosomal DNA. The cell (large, white structure) was broken gently so the DNA would remain intact.

- Plazmid içinde bulunduğu bakteri kromozomu ile birleşirse **epizomik** durumdan bahsedilir.
- Plazmidlerde bakteriden bakteriye kendi transferlerini sağlayan **tra(transfer)** genleri vardır. Bunlara konjugatif plazmid adı verilir.
- Kendiliklerinden başka bakterilere aktarılamayanlara non-konjugatif plazmid adı verilir.
 - Bunlar F faktörü ya da diğer plazmidlerin aracılığı ile harekete geçerek başka bakterilere aktarılabilir.
- **Gizli** plazmid (Cryptic plazmid): Varlıkları ortaya konulmuş ancak fenotipik özellikleri belli değil
- Gram pozitif ve Gram negatif bakterilerde bulunurlar ve Gr negatif bakteriler arasında plazmidler çoğunlukla konjugasyon yolu ile aktarılırlar.
- Aynı bakteri içindeki plazmidler aralarında birleşerek **rekombinant** plazmidler oluşabilir.

- Kendi replikasyonlarını sağlayacak genleri
- Antibiyotiklere dirençlilik sağlayan genleri
- Çeşitli toksin genlerini (ekzotoksin)
- Enzimleri kodlayan metabolik genleri taşıyabilmektedirler.
- Ağır metallere karşı direnç
- Ultraviyole ışığa karşı direnç
- Pili üretimi

Table 10.3 Some phenotypes conferred by plasmids in prokaryotes

Phenotype class^a	Organisms^b
Antibiotic production	<i>Streptomyces</i>
Conjugation	<i>Escherichia, Pseudomonas, Rhizobium, Staphylococcus, Streptococcus, Sulfolobus, Vibrio</i>
Physiological functions	
Degradation of octane, camphor, naphthalene	<i>Pseudomonas</i>
Degradation of herbicides	<i>Alcaligenes</i>
Formation of acetone and butanol (👁️ Section 12.20)	<i>Clostridium</i>
Lactose, sucrose or urea utilization and nitrogen fixation	Enteric bacteria
Nodulation and symbiotic nitrogen fixation (👁️ Section 19.22)	<i>Rhizobium</i>
Pigment production	<i>Erwinia, Staphylococcus</i>
Resistance	
Antibiotic resistance (👁️ Section 20.12)	<i>Campylobacter, Enteric bacteria, Neisseria, Staphylococcus</i>
Resistance to cadmium, cobalt, mercury, nickel, and/or zinc (👁️ Section 19.16)	<i>Acidocella, Alcaligenes, Listeria, Pseudomonas, Staphylococcus</i>
Bacteriocin resistance (and production)	<i>Bacillus, Enteric bacteria, Lactococcus, Propionibacterium</i>
Virulence	
Host cell invasion	<i>Salmonella, Shigella, Yersinia</i>
Coagulase, hemolysin, enterotoxin (👁️ Sections 21.9 and 21.11)	<i>Staphylococcus</i>
Enterotoxin, K antigen (👁️ Sections 12.11 and 21.11)	<i>Escherichia</i>
Tumorigenicity in plants (👁️ Section 19.21)	<i>Agrobacterium</i>

^a Only a few of the many phenotypes known to be associated with plasmids are given.

^b Only a few well-characterized examples are given. All of the organisms given in the list are *Bacteria* except for *Sulfolobus*, which is a member of the *Archaea*.

- F faktörleri: Fertilité – Sex faktörleri
- Col plazmidleri (kolisinojenik faktörler): Bazı bakteri kökenlerinde bulunabilen hem kendi cinsleri içindeki diğer türleri hem de yakın cins bakterileri eritebilen maddelere genel olarak bakteriosin adı verilmektedir.
- Virulans faktörleri: Çeşitli enterotoksinleri ve kolonizasyon antijenlerini oluşturan plazmidlerdir.
- R plazmidleri-RTF faktörleri: Bakterilerde antimikrobiklere karşı extra kromozomal dirençliliğin bakteriden bakteriye aktarılmasını yönetir. Bunlara RTF (Resistans transfer faktör) ya da TF (Transfer faktörü) adı verilir.
 - a- Sınıf I direnç plazmidleri: Genellikle R plazmidi denildiğinde RTF (TF) faktörü ile birlikte direnç genlerinin tek plazmid şeklinde bütünleşmiş oldukları plazmidler kastedilir. Konjugasyonda eşletilen plazmitin tümü alıcı hücreye geçer.
 - b- Sınıf II direnç plazmidleri: Bakteri hücresi içinde TF(RTF) faktörü, direnç genlerine bağılı olmaksızın ayrı bir plazmid olarak bulunur ve bulunduğu bakteriden başka bakterilere direnç genlerinin aktarımını yönetir. Konjugasyon anında direnç genleri tek tek ya da tümü birden alıcı bakteriye RTF faktörü ile birlikte ya da onsuz geçebilirler.

Antibiyotik direnci

Bakteriler çeşitli antibiyotiklere karşı dirençlerini ya direnç genleri taşıyan farklı plazmidler ile ya da farklı direnç genlerini taşıyan tek bir plazmid ile kazanırlar

Kolisin ve Bakteriyosinler

- Genellikle yakın ilişkili mikroorganizmalara karşı
- Bazı *E.coli* suşları tarafından salgılanan proteinler diğer *E.coli* suşlarını öldürme kapasitesine sahiptir colisin ismi verilir
- Colisin geni col plazmidi ile taşınır
 - Colisin üretimi yapan suşu koruyan gen ile birlikte taşınır.

Virulans determinantları

- Bazı bakteri cinslerinde toksin genleri plazmidler ile taşınır
- *E.coli*
 - LT(labil toksin)
 - adezyon
- *Yersinia* türleri
 - İmmun hücrelerinin etkinliğini azaltmak için kullandıkları toksin
 - *Y.enterocolitica* dış membran proteinleri
- *Shigella* türleri
 - İnvazyon-adezyon

Metabolik Aktivite

- Buldukları hücrelerin metabolik aktivitelerini arttıırırlar
- Laktozu fermantasyonu için genleri taşıyan plazmid başka bir laktozu fermante etmeyen suşa geçerse, girdiği suşu laktozu fermante eder hale getirecektir
 - Sukroz
 - Üre hidrolizi
 - H₂S oluşumu vb.

Biodegradasyon-Bioremediasyon

- Potansiyel toksik kimyasalları ortadan kaldırır
- Bu özelliğe sahip bakteriler kimyasal olarak kirlenmiş bölgelerin temizlenmesinde kullanılmaktadır
 - Bu suşların bakır ve civa gibi toksik metal iyonlarına direnç taşıyan plazmidlerle güçleri arttırılır

Transpozon

- Bakteri, virus ve ökaryotik hücre kromozomlarında ve plazmidlerde bulunabilir
- Genom içinde ve plazmid ile genom arasında ve plazmidler arasında hareket ederek **yer değiştirebilen DNA segmentleridir.**
- Bir bölgeden herhangi bir bölgeye geçişi sağlayacak bilgi transpozon tarafından taşınmaktadır.
- Transpozonlardan sadece bu bilgiyi taşıyanlara katılım dizileri (**insertion sequences**)
- Antibiyotik dirençliliği gibi özel işlevi olanlarada karmaşık transpozon (**complex transposon**)
- Transpozonlar plazmidlerin aksine kendi replikasyonlarını yapabilecek genetik bilgiye sahip değildirler.

BAKTERİOFAJ

- Bakteriofaj bakteri hücreleri içerisinde replike olan ve çevresi koruyucu bir protein ile çevrili bir nükleik asit parçası içeren virustur.
- DNA veya RNA, çift veya tek iplikçikli ve 3000 baz (3 gen) ile 200.000 baz (200 gen) içerebilir.

- Fajın hücre yüzeyindeki uygun reseptörlere yapışması
- Bakteri hücresi içerisine faj nükleik asitinin enjeksiyonu. (protein tabakanın hepsi veya büyük bir çoğunluğu bakteri hücresi dışında kalacaktır). Bu basamak vertebralı hücrelerdeki viral infeksiyondan farklıdır, vertebralıların hücrelerine viral partikül yapışır, ya reseptör aracılı endositoz ile viral partikül içeri alınır ya da viral partikül hücre membranı ile birleşir ve nükleik asit hücre içerisine girer.
- Hücrenin biosentez mekanizmalarını kullanarak genetik materyalini ve eş zamanlı olarak faj spesifik proteinlerini sentezler
- Yeterli miktarda genetik materyal ve kılıf oluşturulduktan sonra, genetik materyal kılıf içerisine girer.
- Yeni fajın salınması bakteri hücre duvarını eriten bir çeşit faj-spesifik enzimin (lizozim) salınımı ile olur.

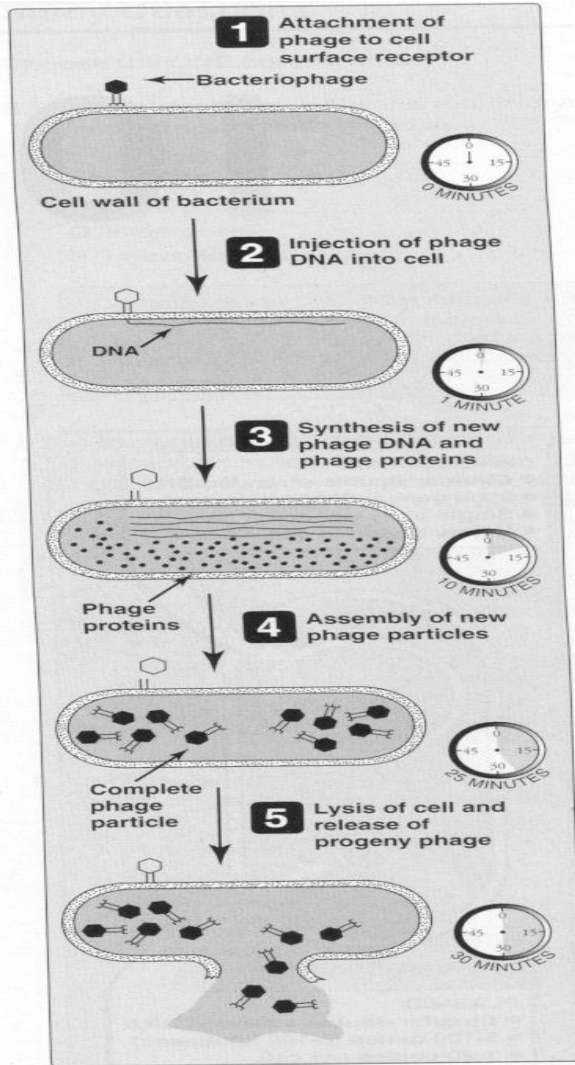


Figure 10.2
 Bacteriophage replication. Clock indicates total elapsed time starting with attachment at $t=0$. [Note: Bacterial chromosome and plasmid are not shown.]

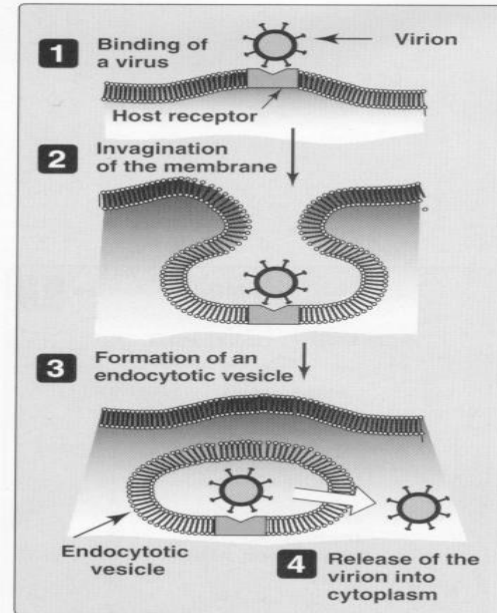


Figure 26.9
 Receptor-mediated endocytosis of virus particle.

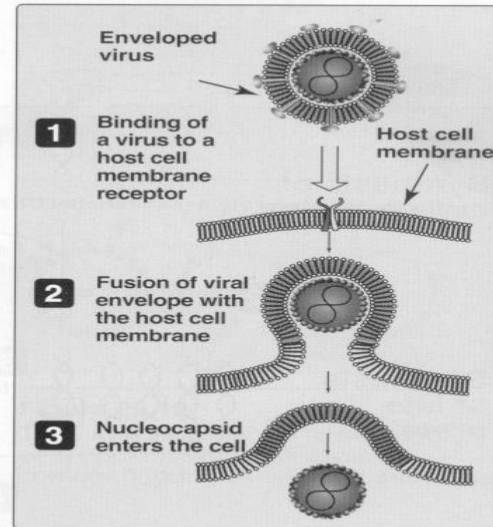


Figure 26.10
 Fusion of viral envelope with membrane of host cell.

Fajlar bakteri hücresi ile olan ilişkileri açısından virulan veya temperate faj olarak sınıflandırılırlar

- Virulan faj
 - Bir bakterinin virulan faj ile infeksiyonu sonucunda bakteri hücresi lizis ile ortadan kalkar
 - Optimal koşulların varlığında bir faj ile infekte olan bakteri hücresi yaklaşık 20 dakika içerisinde yüzlerce faj üretebilmektedir.

Temperate Faj

- Faj ile infekte olan bakteri hücresi aynı virulan fajda olduğu gibi infeksiyondan hemen sonra **lize** olabilir.
- Faj hücreye girdikten sonra otonom olarak replike olmak yerine bakteri hücresinin genomuna integre olabilir. Bu aşamada (**profaj** durumu) faj genlerinin ekspresyonu faj genomu tarafından salınan ve **represor** adı verilen bir protein tarafından azaltılır.
- Yeni faj partikülleri oluşmaz, konak hücre **yaşamaya devam eder** ve faj DNA sı bakteri kromozomu ile birlikte replike olur.

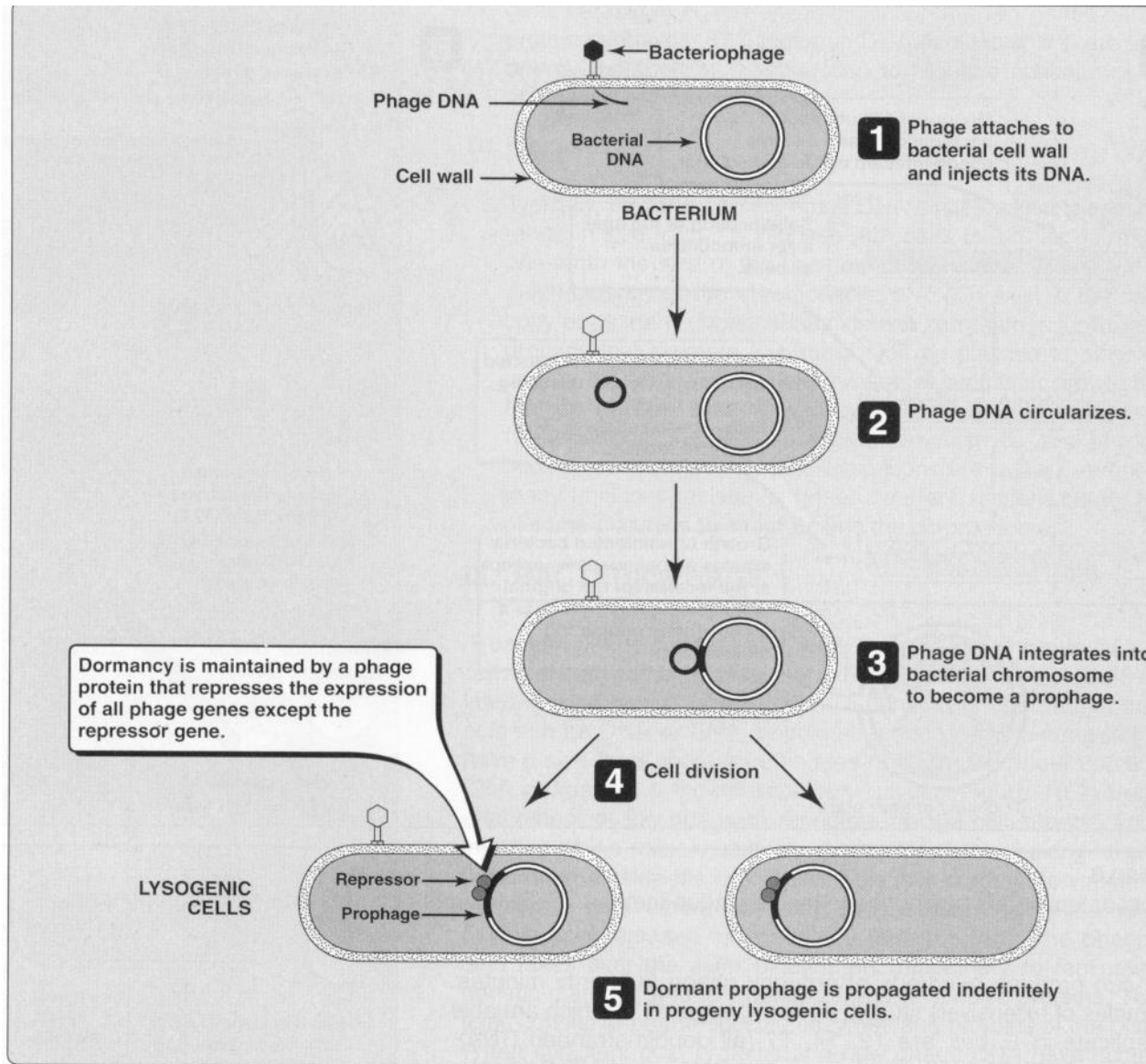


Figure 10.4

The integration of temperate phage DNA into the bacterial chromosome generates a lysogenic bacterium.

Lizojenik Bakteri

- **Lizojenik bakteri profaj taşıyan bakteriye verilen isimdir**
- Olay lizojeni olarak isimlendirilir
- Profaj ile bakteri hücresi arasındaki ilişki genelde stabil
- Bazı durumlarda örneğin **UV** ışık ile karşılaşma sonrasında faj üzerindeki represor genin etkisi ortadan kalkar ve profaj bakteri kromozomundan ayrılarak otonom şekilde replike olmaya başlar, bunun sonucunda virulan fajda olduğu gibi bakteri hücresi lize olur.
- Virusun latent profaj durumundan aktif hale geçmesine **indüksiyon** adı verilir.

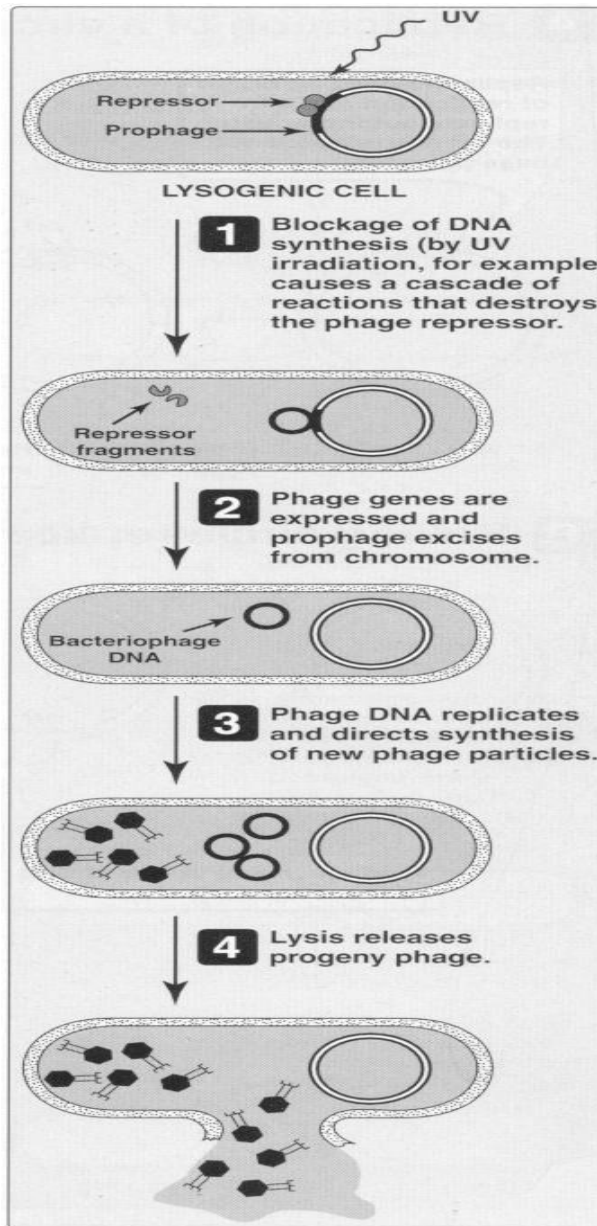


Figure 10.5
 Induction of a lysogenic bacterium generates new phage particles.

- Lizojenik bakteriler lizojenik olmayan diğer türlerinden farklı özellikler taşırlar.
- *Corynebacterium diphtheriae* patojeniktir çünkü **tox geni adı** verilen ve difteri toksinini kodlayan geni taşıyan **bir profaj** ile infektidir bu profajı taşımayan *C.diphtheriae* suşları ise toksijenik değildir.
- A grubu streptokokların lizojenik suşları pirojenik eksotoksin (eritrojenik toksin) kodlayan profaj taşırlar.
- *V.cholerae* toksin, *C.botulinum* toksin
- Bir bakterinin profaj varlığına bağlı olarak çeşitli özellikler kazanmasına **lizojenik konversiyon** adı verilir.

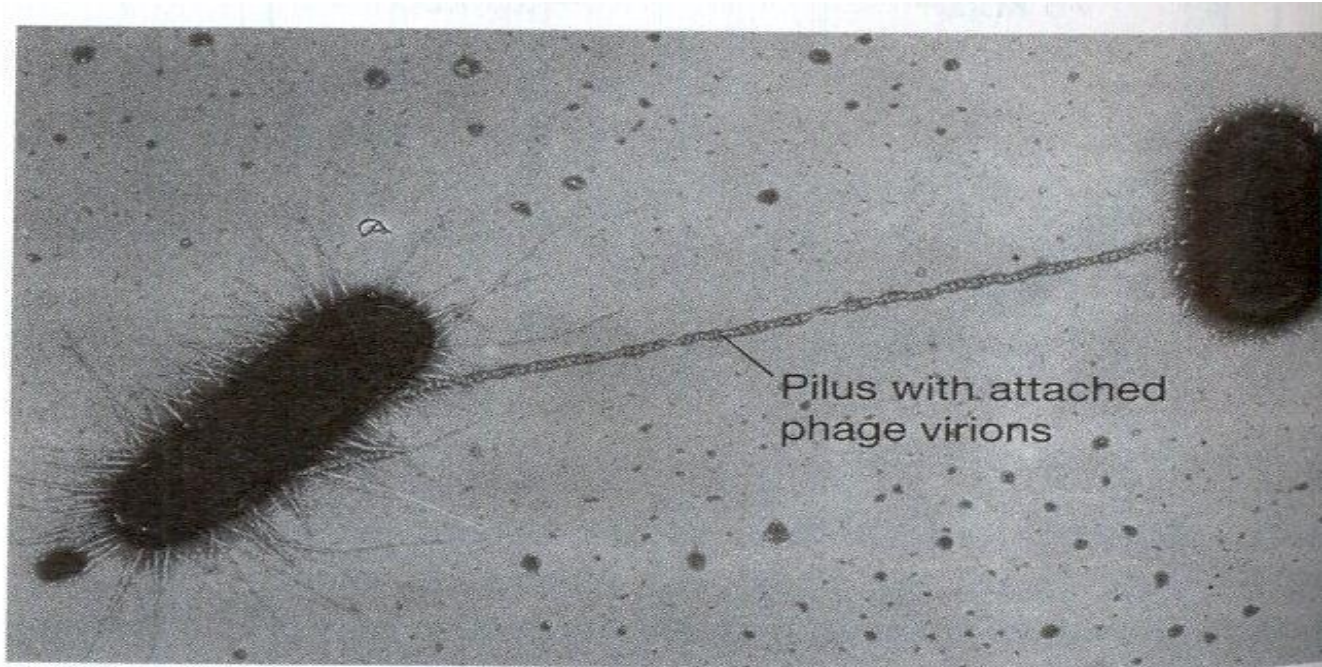
GEN TRANSFERİ

- Bir bakteriden diğer bakteriye gen transferi 3 mekanizma ile olabilir. Bunlar: Konjugasyon, transdüksiyon ve transformasyon. Bu yollardan herhangi biri ile transfer edilen DNA replikasyon başlangıcı noktasından yoksun olacağı için, transfer edilen DNA ancak bakteri kromozomu ile birleşirse diğer jenerasyonlara geçebilecektir

KONJUGASYON

- Konjugasyon bir bakteriden diğer bakteriye hücre-hücre ilişkisi yolu ile genetik madde transferine verilen addır. Bu ilişkinin oluşabilmesi için Donör(verici-erkek) hücre ile resipiyent (alıcı-dişi) hücre benzer genetik yapıya sahip olmalı ve aralarında DNA'nın geçebileceği bir sitoplazma köprüsü oluşturabilmelidirler. Transfer özellikle donör hücre üzerindeki seks pili adı verilen saç-benzeri uzantılar ile olmaktadır. Kontakt sonucunda nispeten stabil bir hücre çifti oluşur ve DNA transferi başlayabilir. Seks pilusu boru şelinde bir tüp olmasına rağmen yapışma sonrasında bu pilus verici donör hücrenin içine doğru retrakte olur ve verici ile alıcı hücre birbirlerine yaklaşır. Konjugasyonda mutlaka bakteri DNA'sı ile birleşip rekombinasyon oluşması gerekmektedir

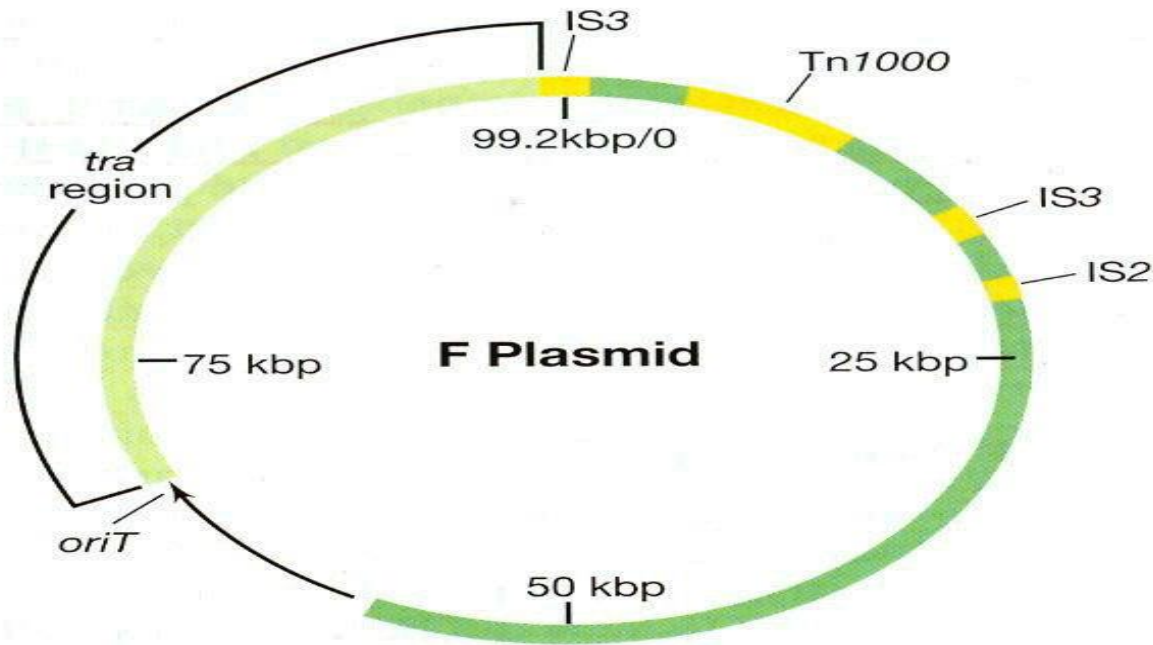
C
d
l
n
-
-
3
-
-
4
e
e
-
7
7



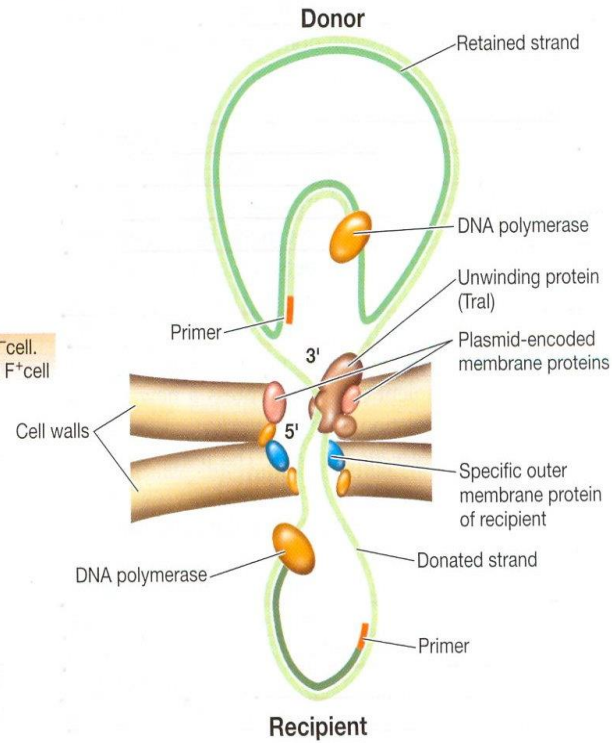
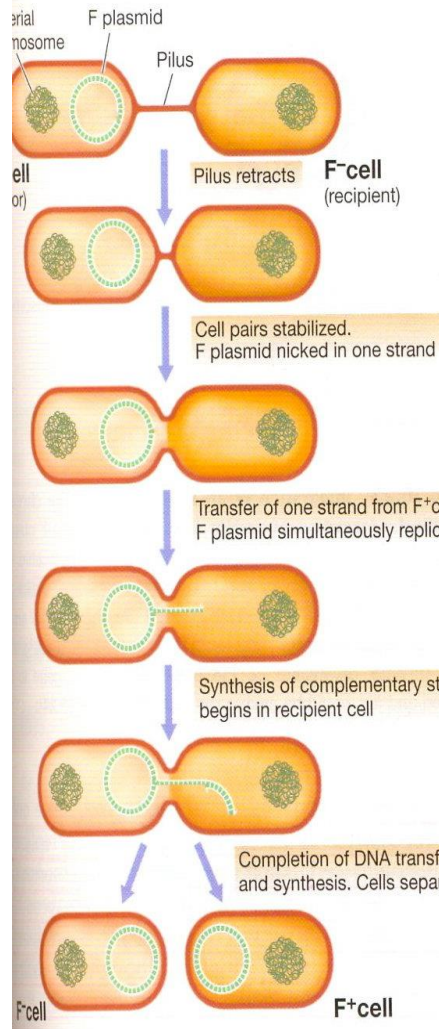
● **Figure 10.21** Direct contact between two conjugating bacteria is first made via a pilus. The cells are then drawn together to form a mating pair for the actual transfer of DNA. This occurs by traction (depolymerization) of the pilus within the donor cell. Note F-specific bacteriophages on the pilus (👁️ Section 16.1).

Konjugatif Plazmidler

- Bazı büyük plazmidler kendilerinin başka hücrelere transferini sağlayabilecek fonksiyona sahip genler içerirler ki bunların içinde seks pilusu sentezleyecek genlerde vardır.
- Bu plazmidlerin prototipi E.coli hücrelerinin F (Fertilite) plazmididir. Eğer F+ olan hücreler F- olan hücrelerle karşılaşırlarsa F plazmidi çok hızlı bir şekilde yayılacak ve F- hücreler F+ hale geçeceklerdir. F plazmidi pilus proteini için yapısal gen taşımaktadır. Ayrıca bu plazmid antibiyotik direnç genleri de dahil 14 gen taşımaktadır. Bu tür antibiyotik direnç gelişiminde bakteri DNA'sı ile rekombinasyon oluşmaz.



• **Figure 10.18** Genetic map of the F (fertility) plasmid of *Escherichia coli*. The numbers on the interior show the size of the plasmid in kilobase pairs (the exact size is 99,159 bp). The region shown in dark green at the bottom of the map contains genes primarily responsible for the replication and segregation of the F plasmid in normally growing cells. The light green region, the *tra* region, contains the genes involved in conjugative transfer. The *oriT* sequence is the origin of transfer during conjugation. The arrow indicates the direction of transfer (the *tra* region would be transferred last). The regions shown in yellow on F are transposable elements where integration into identical elements on the bacterial chromosome can occur and lead to the formation of different Hfr strains (see Section 10.12).

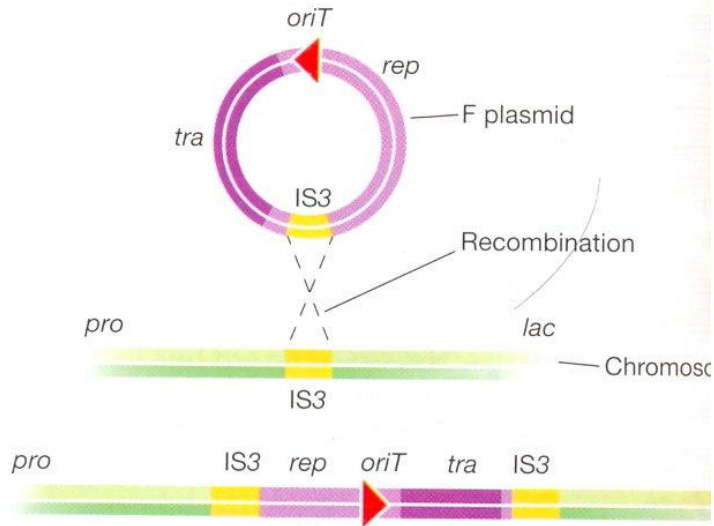


♦ **Figure 10.22 Transfer of plasmid DNA by conjugation.** (a) In this example, the F plasmid of an F⁺ cell is being transferred to an F⁻ recipient cell. Note the mechanism of rolling circle replication (see Figure 9.20 and Figure 16.4). (b) Details of the replication and transfer process.

Kromozomal Hareket

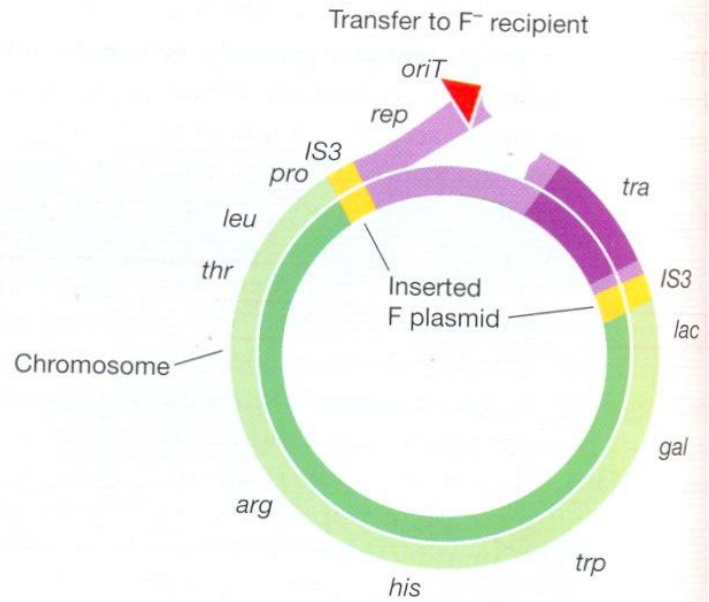
- F plazmidi aynen profajın DNA'ya integre olması gibi kromozoma integre olabilir. Bu durumun olduğu bakteriler **Hfr (High frequency recombination)** bakteriler olarak isimlendirilirler. F plazmidi bakteri kromozomu üzerinde birçok bölgeye integre olabilir. Kromozomun alıcı hücreye transferi F plazmidinin kromozoma bağlandığı yerden başlar ve yaklaşık dakikada 40 gen hızı ile sürer. Konjugasyon olayı visköz etkilerle ve bakterinin Brownian hareketleri ile sonlanabilir ama bu gerçekleşinceye kadar kromozomun % 10-20 kadarı transfer edilebilir. Bazı özel durumlarda kromozomun tümünde transfer olabilmektedir. Konjugatif transfer DNA replikasyonu ile eşzamanlı olarak oluşmaktadır bu sayede verici hücre genetik bilgisini kaybetmemekte ve yeni oluşan kopyadaki genetik bilgi alıcı hücreye geçmektedir.

transfer, a (see the and; general ive. lled are n F⁺ sec- las- F⁻, s to the abi- no- bili- fre- ge- no- s in



• **Figure 10.23 Integration of an F plasmid into the chromosome with the formation of an Hfr.** The insertion of the F plasmid occurs at a variety of specific sites where IS elements are located, one here being an IS3 located between the chromosomal genes *pro* and *lac*. Some of the genes on the F plasmid are shown. The arrow indicates the origin of transfer, *oriT*, with the arrow as the leader. Thus, in this Hfr *pro* would be the first chromosomal gene transferred and *lac* would be among the last (see Figure 10.24).

es). an its al- en- ell, er) ro- ed, •). elf es ns is- s- ns in y- on in in ne of



• **Figure 10.24 Breakage of the Hfr chromosome at the origin of transfer and the beginning of DNA transfer to the recipient.** Replication occurs during transfer (see Figure 10.22). The figure is drawn to scale; the inserted F plasmid is actually less than 3% of the size of the *Escherichia coli* chromosome.

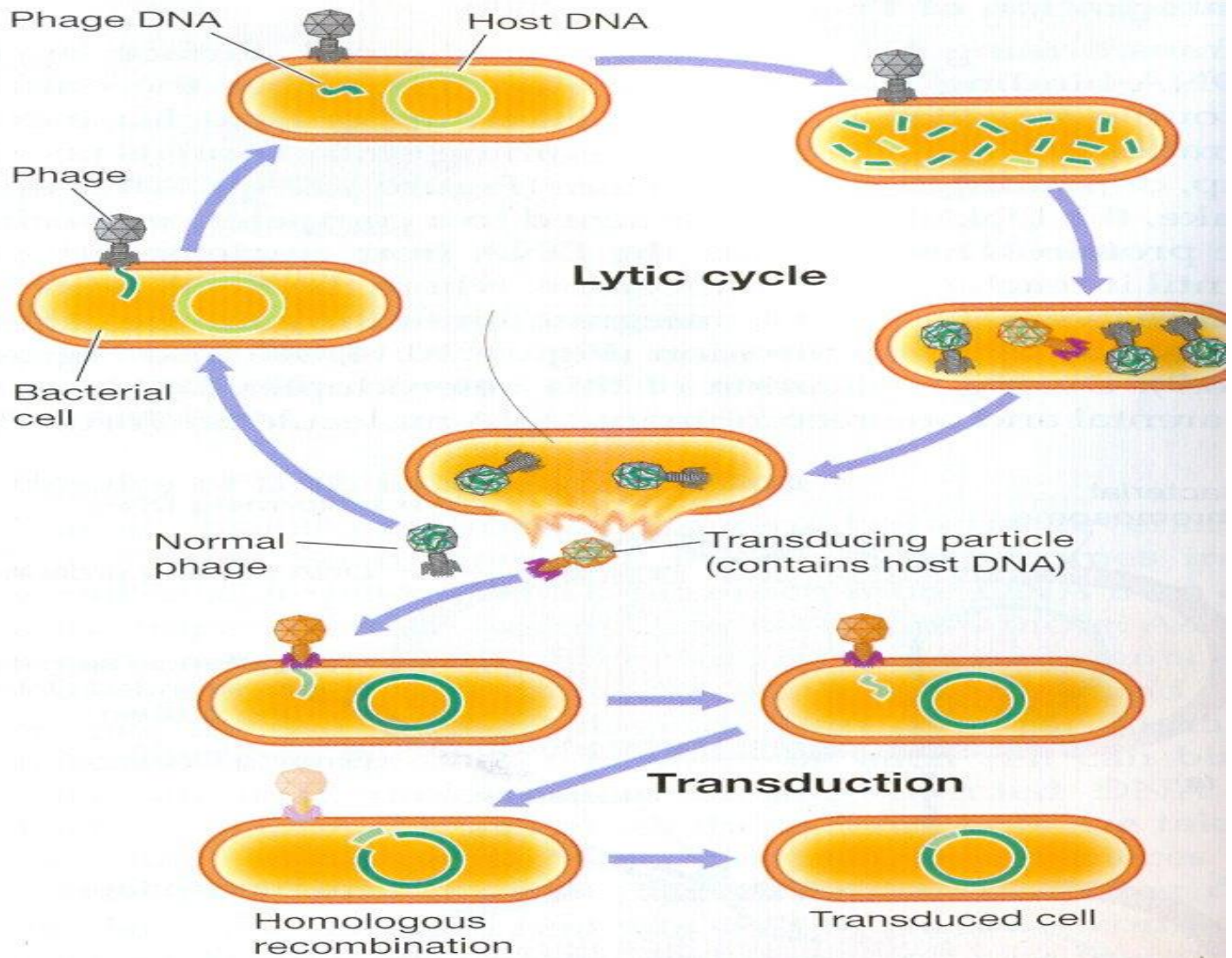
- Bazı durumlarda F plazmidi bağılandığı bakteri DNA'sından ayrılabilir ve ayrılırken bakteri kromozomuna ait bazı bölgeleri de ayırır ve tekrardan çembersel şekle dönebilir. Bu şekilde oluşan plazmide **F' plazmid** ve bu faktörü içeren hücreye de **F' hücre** adı verilir.

TRANSDÜKSİYON

- Transdüksiyonda genetik transfer hücre-hücre ilişkisi olmadan faj vektörler yardımı ile olmaktadır. Transdüksiyon; **jeneralize** ve **özelleşmiş** transdüksiyon olmak üzere iki şekilde olabilmektedir.

Jeneralize transdüksiyon

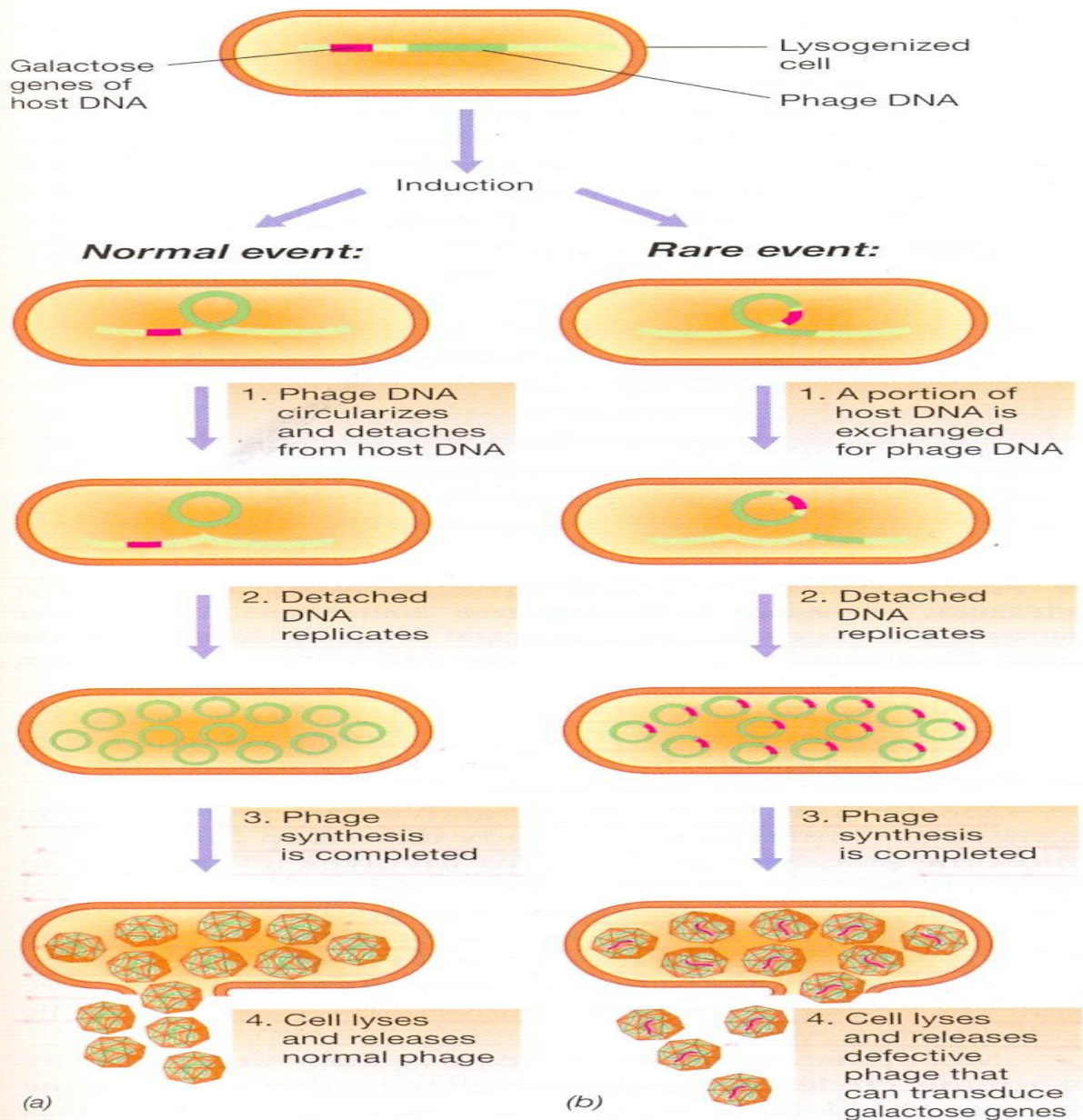
- Bu tip transdüksiyonda herhangi bir bakteriyel DNA bölgesi(faj ile indüklenmiş bakteri DNA'sı yıkımından sonra) yanlışlıkla faj DNA'sı yerine faj kılıfı içine girer. Bu faj partikülü yeni bir hücreyi infekte ettiğinde bu DNA bölgesi yeni hücreye girmiş olur. Eğer bu bölge bakteri kromozomuna integre olursa eski bakterinin özelliğini kazanmış olacaktır.
- Bakteri DNA'sında herhangi bir gen bölgesi kılıf içine girebileceği için bu yolla herhangi bir bakteri geni transfer edilebilir.
- Bu yol ile her bir faj paketinde 50 kadar gen aktarılabilir



● **Figure 10.15 Generalized transduction.** Note that “normal” virions contain phage genes while a transducing particle contains host genes.

Özelleşmiş transdüksiyon

- Özelleşmiş transdüksiyonda sadece belli bakteriyel genler transfer edilir. Bu genler bakteri kromozomuna yerleşmiş profajın giriş bölgelerine yakın olan genlerdir. Faj bakteri DNA'sında ayrılırken bu bölgeleri de alır. Genel olarak özelleşmiş transdüksiyon yapan faj hem faj hem de bakteri DNA'sını birleşik olarak tek bir molekül şeklinde alır. Bir diğer hücreyi infekte ettiğinde alıcı hücre bu molekülü tümünden alacaktır.



• **Figure 10.16 Specialized transduction.** (a) Normal lytic events, and (b) the production of particles transducing the galactose genes in an *Escherichia coli* cell containing a lambda prophage.

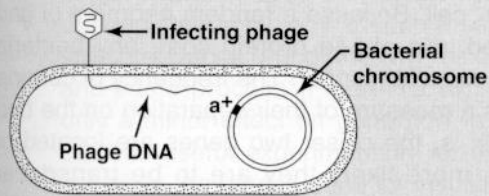
pr
W
th
w
ga
hi
ta
la
du
or
fo

th
D
fo
pl
H
fe
pl
fo
si
or
pl
he
Fi
ci
gi
di
by
fr

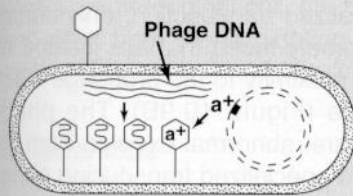
P
W
p
p
th
b
P
er
cl
b

w
P
o
v
C
d
it

A Generalized Transduction



Phage replication and fragmentation of bacterial DNA
(a^+ = any bacterial gene).

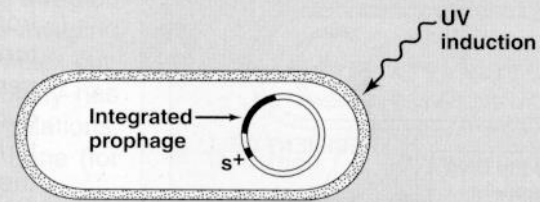


Lysis

These are normal, nontransducing phage.

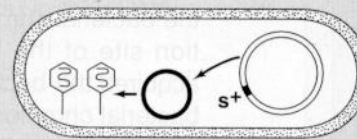
This rare phage, which has accidentally packaged the a^+ gene, can transduce an a^- cell to a^+ .

B Specialized Transduction



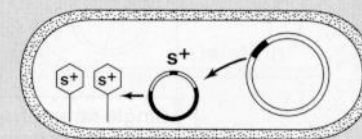
Normal excision of prophage.

Rare abnormal excision of prophage that picks up the adjacent s^+ gene
(s^+ = special bacterial gene).



Lysis

These are normal, nontransducing phage.



Lysis

These phage, which carry the s^+ gene, can transduce an s^- cell to s^+ .

Figure 10.9

Certain phage can package bacterial genes and transfer them to other bacteria (transduction). By one mechanism (A) any bacterial gene can be transferred; by a second mechanism (B) only certain genes can be transferred, namely those in close proximity to a prophage.

TRANSFORMASYON

- Transformasyon çıplak DNA parçalarının transferidir. DNA'nın hücreye alınması ile ilgili bilgiler sınırlı. Alıcı hücre üzerinde DNA tanıma bölgeleri var. (*B.subtilis* de 20-50, *H.influenza*'da 8 adet) Bu özellik bazı bakterilerin gelişme döngüsünün özel bir noktasında imal edilen kompetans faktör varlığında olur.
- Transformasyonda daha çok çift iplikçikli DNA tercih edilmektedir.
- Transformasyon transformasyonun olacağı yani DNA'nın hücre membranından geçeceği hücrenin fizyolojik durumu ile bağlantılıdır. Serbest çift iplikli DNA alıcı hücreye geçtiği zaman iki iplikçikten bir tanesi nükleazlar ile yıkılır, diğer iplikçik alıcı hücre içinde DNA üzerinde kendine homolog olan bölgeye yapışır, eğer böyle bir bölge bulunursa gelen parça DNA üzerindeki bölgeyi keser ve kendisi yerleşir. Transformasyon doğal bakteri topluluklarında gen alışverişinde minör rol oynamaktadır. Transformasyonun önemi deneysel çalışmalarda ön plana çıkmaktadır. Örneğin klonlanmış insülin üreten insülin geninin bakteri hücrelerine transforme edilmesi

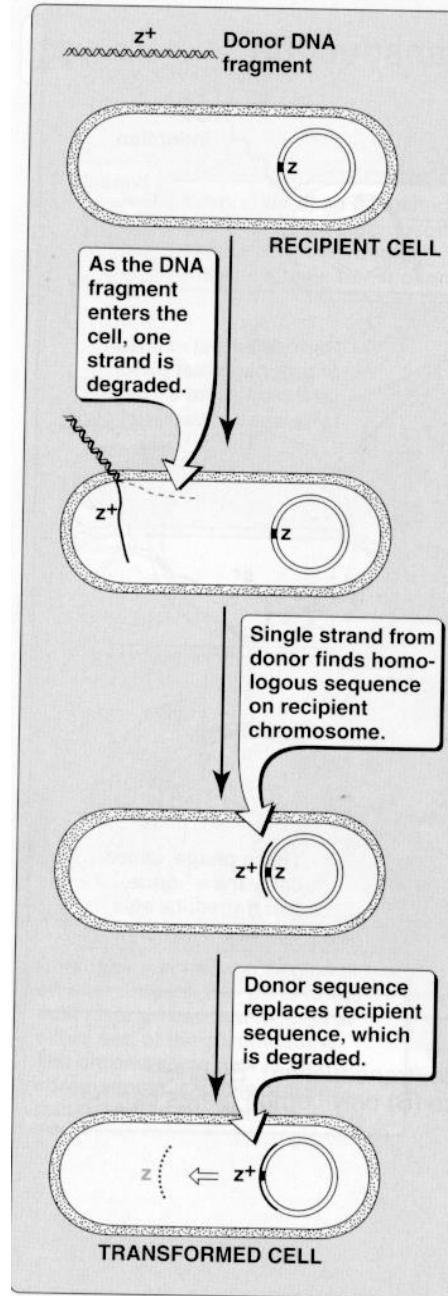


Figure 10.10
Genetic transformation of a bacterial cell by uptake of a DNA fragment.