

ÇEŞİTLİ AMİLLERİN ETKİSİ ALTINDA KROMOSOM KOPMASI VE ONUN BİYOKİMYASAL CEPHESİ

CHROMOSOME BREAKAGE INDUCED BY VARIOUS AGENTS AND ITS BIOCHEMICAL ASPECTS

Doç. Dr. Emine BİLGE

(İstanbul Üniversitesi, Botanik ve
Genetik Kürsüsü)

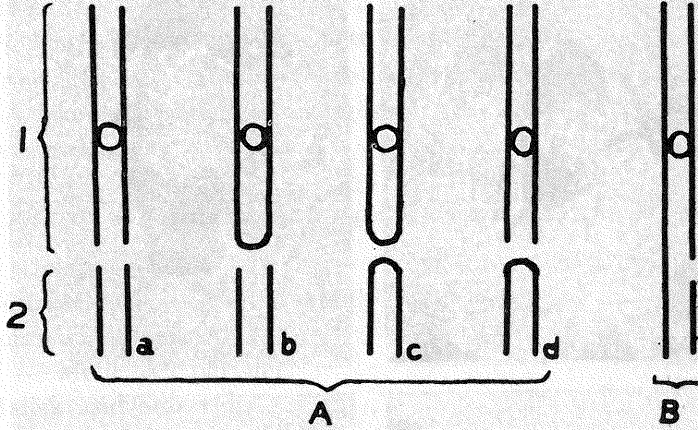
Kromosoların, çeşitli amillerin etkisi altında koptukları uzun zaman-
dan beri bilinen bir vakiadır. Kopan parçalar ya derhal koptukları kro-
mosoma, veya başka bir kopuk kromosoma yapışırılar veyahut yapışma-
dan kalırlar. Yapışmadan kalan parça sentromeri haiz ise hücre içinde
mevcudiyetini devam ettirebilir, aksi halde kaybolur yani sitoplazma için-
de erir ve hazmedilir.

Kromosoların kopmasına sebep olan amillere radiomimetik amiller de-
nir. Bu amillerin tesirleri üzerinde yapılan sitolojik incelemelerin ekseri-
sinde tecrübe materyali olarak ya *Tradescantia paludosa*'nın mikrosporları
yahut da *Vicia faba*'nın kök uçları kullanılmaktadır. Böylece tesirler *Tra-
descantia*'da haploid hücrelerde *Vicia*'da diploid hücrelerde incelenmek-
tedir. *Tradescantia* mikrosporlarında kromosom sayısı $n = 6$ dir ve bun-
ların hepsi oldukça birbirine benzer. *Vicia faba*'nın kök hücrelerinde kro-
mosom sayısı $2n = 12$ dir. Bu kromosomların beş çifti subterminal sentro-
mere sahiptir, yani sentromer kromosomun bir ucuna daha yakındır. Bun-
lara S kromosoları denir. Bir çifti ise medyan sentromere sahiptir, yani
sentromer kromosomun tam ortasındadır. Bunlara da M kromosoları de-
nir. Bir M kromosomu, bir S kromosomunun takriben iki misli uzunluğun-
dadır ve böyle bir kromosomda büyük bir satellit vardır.

REVELL (1953), S ve M kromosomlarının metafazdaki total uzun-
luklarının nisbetinin 1 : 2,2 olduğunu buldu. Eğer kopmalar tesadüfen
vaki olsaydı S ve M kromosomlarındaki kopmaların total frekansının nisbe-
tinin de 1 : 2,2 olması beklenenecekti. Halbuki radiomimetik kimyasal mad-
delerle muameleden sonra S ve M kromosomlarında meydana gelen kop-
maların nisbeti 1 : 2,2 den çok farklıdır. Bu gösteriyorki kopmalar tesadü-
fî değildir. Yani muayyen yerlerde vukua gelmektedir.

Kopmalar iki tipte vaki olur (Şekil I)

- a) Kromosom tipi
- b) Kromatid tipi

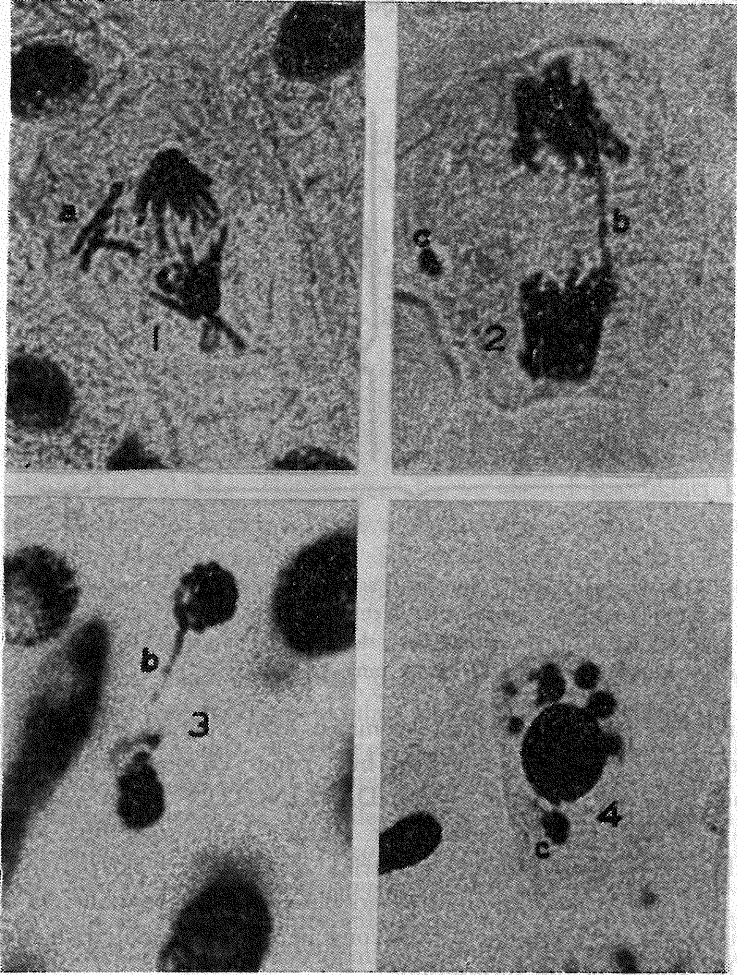


Şekil I.— A Kromosom tipi kopmalar. 1 sentrik, 2 asentrik kromosom parçaları. a Parçaların hiçbirinde kardeş kromatidler birbiri ile birleşmemiş yani SU yok. b yalnız sentrik parçada SU, c hem sentrik hem de asentrik parçada SU, d sadece asentrik parçada SU husulü. B kromatid tipi kopma (şematik).

Kromosom tipinde her iki kromatid aynı noktada kopar. Kromatid tipinde ise iki kromatidden yalnız biri kopar. Kromosom tipi kopmaya terminal delesyon da denir. Ayrıca DARLINGTON ve LA COUR bu tip kopmayı B” ile işaret etmektedirler. Burada kromosom, biri sentromerli (sentrik) diğeri sentromersiz (asentrik) olmak üzere iki parçaya ayrılır (Şekil I-A). Asentrik olanı, sentromeri olmadığı için kaybolmağa meyyaldir. Bir kopuk uç çok kere restitüsyona uğrar ve orijinal şekli alır yahut diğerk bir kopuk uç ile birleşebilir.

Kromosom umumiyetle yarılmamış olduğu safhada kopar. Sonra kromosomun sentrik ve asentrik parçaları uzunlamasına yarılarak iki kromatid husule getirir. Bunu müteakip her parçadaki iki kromatidin kopuk uçları birbiri ile birleşebilir. Bu olaya kardeş kromatidlerin birleşmesi anlamına Sister Union (SU) denir. (SU)’a uğrıyan parça sentromerli ise nitede iki sentromerli (disentrik) bir kromatid, sentromersiz ise U şeklinde asentrik bir kromatid meydana gelir. Bundan dolayı bir kromosom kopmasından meydana gelen mahsullerin görünüşü değişir.

Eğer (SU) ile iki sentromerli bir kromatid meydana gelmiş ise sentromerlerden her biri bir kutba çekilir ve mevzuubahis kromatid iki kutup



Şekil II.— Bir radiomimetik amil olan Streptomycin'in *Vicia faba* kök ucu hücrelerinde meydana getirdiği kromosom hasarları. 1 anafaz, a sentromersiz oldukları için kutba gidemiyen kromosom parçaları. 2 telofaz. b kromosom köprüsü, c asentrik parçaların toplanıp birleşmesi ile meydana gelmiş kromatin damlacıkları, 3 telofazın nihayetinde fazla gerilme neticesinde kromosom köprüsünün kopması, 4 kromosom kopmalarına maruz kalmış bir hücre. Sentromerli kromosomlar mitoz bölünmenin nihayetinde yeni nukleusu teşkil ederken sentromersiz olanlar da kromatin damlacıklarını meydana getirirler. Fakat bunlar sonradan sitoplazma içinde eriyip kaybolurlar.

arasında bir köprü gibi gerilir. Böyle köprüler hücre bölünmesinin daha ileri safhalarında fazla gerilme neticesinde koparlar veya bölme çeperin teşekkülü ile kesilirler (Şekil II, b).

Kromatid tipi kopmaları DARLINGTON ve LA COUR B' ile gösterirler. Bu tipte, bir metafaz kromosomunun yalnız bir kromatidinde muayyen bir yerde bir kopma meydana gelir. Kopan parça sağlam olan kardeş kromatidin yanında ve ona çok yakın olarak kalır (Şekil I, B). Bu tip kopukların ekserisi koptuğu yere tekrar yapışır.

Kromosom hasarları husule getiren âmillerden bazıları ancak oksijen mevcut olduğu zaman tesirini gösterir. Bazıları ise oksijensiz yerde de faaliyet gösterebilir.

Tesiri oksijene bağlı olan başlıca amiller:

- X ışınları,
- Görülebilir ışık - Akridin oranj,
- Potasyum siyanür,
- N — Metiloksi pürinler,
- Maleik asid hidrazidi,
- Fenilnitrosaminler,
- Etil alkol.

Tesiri oksijene bağlı olmayan başlıca amiller:

- Alfa ışınları,
- Ultraviyole ışık,
- Alkileştirici amiller.

X ışınları:

THODAY ve READ (1947) Vicia faba'nın kök uçlarını azot gazı için bulundurarak muayyen dozda X ışınlarına maruz bıraktılar. Aynı dozda X ışınları kullanarak bu tecrübeyi bir defa da oksijen gazı içinde yaptılar. Neticede, oksijen gazı kullanıldığı zaman X ışınları tarafından hücreye getirilen kromosom kopmalarının sayısının azot gazı kullanıldığı zamanda bundan gelen üç misli daha fazla olduğunu gösterdiler.

Ebeniz halde oksijen ihtiva eden su, X ışınlarına maruz bırakıldığı zaman hidrojen peroksit (H_2O_2) husule gelir. X ışınlarının tesiri ile H_2O_2 besulu ve kromosom kopmaları arasında bir münasebet olduğu meydana çıkmaktadır. THODAY ve READ (1949) buna dayanarak, kromosomların yapısal ve yapısal yapılarında H_2O_2 nin bazı tesirlere sahip olduğunu gösterdiler.

Yukarıda bahsedildiği gibi, kromosom kopmaları zaman zaman kopmuş olan ve yer itibarile birbirine kâfi derecede

yakın olan kopuk kromosomlar arasında parça mübadelesi yapılabilir. Fakat kopuk uçlar ancak kısa bir zaman için açık kalırlar. Yüksek dozda X ışını kullanıldığı zaman bütün kırıklar aynı anda açık bulunur ve bu sayede sayısız parça mübadelesi vaki olur. Aşağı dozda X ışınları kullanıldığı zaman, şualandırma periyodunun başlangıcında husule gelen kopmalar şualandırma bitmeden evvel tekrar yapışmağa vakit bulurlar. Bundan dolayı şualandırma periyodunun sonunda husule gelen kopuklar ile parça mübadelesi yapamazlar. Gene bu sebepten dolayı muayyen bir X ışını dozu taksitler halinde verildiği zaman daha az hasar husule gelir.

Kopukların tekrar yapışması solunum enerjisine ihtiyaç gösteren metabolik bir olaydır, yani enerjisi fazla olan fosfatlara ihtiyaç vardır. Nitekim WOLFF ve LUIPPOLD, adenosin trifosfat tatbik etmek suretiyle kopan kromosomların tekrar yapışması için geçen zamanın kıaldığını müşahede etmişlerdir.

Görülebilien ışık-Akridin oranj sistemi:

Uzun zamandan beri bilinmektedir ki oksijen ve bazı hassasiyet verici maddeler mevcut olduğu zaman görülebilien ışık canlı organizmalarda engelleyici ve letal tesirler husule getirmektedir. Bu olaya foto-dinamik aksiyon denir. Hassasiyet verici madde ekseriya bir boyadır ve bunun ödevi ışık enerjisini obserbe etmektir.

KIHLMAN (1959), görülebilien ışık-akridin oranj sisteminin oksijen mevcut olduğu zaman *Vicia faba*'nın kök uçlarında kromosom yapısı değışmeleri husule getirdiğini gösterdi. Oksijen yerine azot monoksit (NO) mevcut olduğu zaman da bu sistemin kromosom kopmalarına sebep olduğu müşahede edildi. Görülüyor ki oksijen ve azot monoksit gazları hem X ışınlarına hem de görülebilien ışık-akridin oranj sistemine karşı kromosomların hassasiyetini arttırmaktadır. Bu, O₂ ve NO gazlarının, ışınların hücrede husule getirdiği radikallerle reaksiyon yapmaları sayesinde mümkün olur. Yalnız, X ışınları ile görülebilien ışığın tesiri arasında bir fark vardır. X ışınları kullanılması halinde, şualandırmadan iki saat sonra bir tesir görülür ve erken tesir dolayısıyla kopmalar kromosom kopması tipindedir. Görülebilien ışık-akridin oranj kullanılması halinde ise şualandırmadan sekiz saat sonra bir tesir görülmektedir. Bu gecikmeden dolayı da kopmalar kromatid tipindedir. Yani kromosom iki kromatide ayrıldıktan sonra vaki olmaktadır.

Potasyum siyanür (KCN):

Bu maddenin kromosom koparıcı tesiri 1956 da LILLY ve THODAY

tarafından keşfedildi. Oksijen mevcut olmadığı zaman yapılan tecrübelerden hiç bir netice alınmadı. KCN'in kromosom üzerindeki tesiri muameleden 24 saat sonra kendini gösterir. Kopmalar kromosomların heterokromatik bölgelerinde vaki olur.

N - Metil oksipürinler :

Bunlardan bir kısmının tesiri muamele esnasındaki mitotik faaliyete bağlıdır. Yani muamele esnasında bölünmekte olan hücrelerin sayısı ne kadar fazla ise tatbik edilen maddenin kromosom koparıcı tesiri de o kadar fazla hücrede görülür. 1, 3, 7, 9 Tetrametilürik asid (TMU) bu gruptandır.

Diğer kısımdaki oksi pürinlerin tesiri muamele esnasındaki mitotik faaliyete bağlı değildir. 8-Etoksikafein (EOC) bu gruptandır.

ECC tipi pürinler ile TMU tipi pürinlerin tesirleri arasındaki fark nasıl izah edilebilir?

Kimyasal bileşiklerin biyolojik zarlardan geçmesi onların lipoidlerde erime kabiliyetine bağlıdır. EOC tipi pürinlerin lipoidlerde erime kabiliyeti yüksektir, halbuki TMU tipinde olanlarınkı alçaktır. Hücredeki diğer zarlar gibi nukleus zarı da lipoidler ihtiva eder. Bundan dolayı, EOC ve TMU tipi purinlerin tesirleri arasındaki farkın, onların interfaz nukleusunun zarına nüfuz etme kabiliyetlerindeki farktan ileri geldiği düşünülmektedir. Böylece TMU tipi pürinler nukleusa sadece nukleus zarı eridiği zaman girebilirler. Bundan dolayı onların tesiri mitotik faaliyete bağlıdır.

Maleik asid hidrazidi (MH) :

Bu maddenin husule getirdiği kopmalar kromosomların heterokromatik bölgelerinde lokalizedir. İlk tesir muameleden 6-8 sat sonra meydana gelir. MH in tesiri hararete, H iyonu kesafetine ve O₂ kesafetine bağlıdır. Bir hipoteze göre MH in biyolojik tesiri, onun hücrede sülfidril grupları ile reaksiyon yapmasından ileri gelmektedir.

Fenilnitrosaminler :

Bu grupta kupferron'u ve N-metilfenilnitrosamin'i zikredebiliriz. Yüksek hararet ve aşağı pH dereceleri, kupferron'un radiomimetik tesirini çoğaltır. Kupferron ağır metallerle bileşikler teşkil etme kabiliyetindedir. KIHLMAN, bu maddenin kromosomlardan ağır metalleri çıkarmak suretiyle kopmalara sebep olduğunu ileri sürmektedir.

Metilfenilnitrosamin (MFNA) kuvvetli bir radiomimetik tesire sahip-

tir ve bu tesir muamele esnasındaki pH ya ve hararete bağılı değildir. Fakat oksijen kesafetine paralel olarak çoğalır. Bu maddenin radiomimetik tesirinden mes'ul olan mekanizma henüz anlaşılmış değildir.

Etil alkol:

LEVAN ve LOTFY (1950) *Vicia faba* tohumlarını 24 saat suda ısıtıldıktan sonra filtre kâğıdı üzerinde intaş ettirdiler ve ilk kök ucu mitozunda strüktürel kromosom değişimleri müşahede ettiler. Onlar bu olayın izahını şu şekilde yaptılar. Islatma esnasında hüküm süren kısmî anaerob şartlar metabolizmayı o şekilde değiştiriyor ki neticede bazı metabolizma artıkları yüksek kesafetlerde hasıl oluyor. Radiomimetik tesirin sebebi bu yüksek kesafetteki metabolizma artıklarıdır.

Daha sonra MICHAELIS ve arkadaşları, tohumları ısılatma olayında radiomimetik tesire sahip olan maddenin etil alkol olduğunu göstermeye muvffak oldular. Etil alkolün tesiri geçirir ve kromosomların heterokromatin bölgesinde lokalizedir.

Tesiri oksijene bağılı olmayan radiomimetik amiller:

Alfa ışınları:

KOTVAL ve GRAY (1947) tarafından *Tradescantia paludosa*'nın mikrosporları kullanılarak yapılan tecrübeler gösterdi ki alfa ışınlarının muayen bir dozu tarafından husule getirilen kromosom kopmalarının sayısı aynı dozda X ışınları tarafından husule getirilenlerinkinden çok daha fazladır.

Ültraviyole ışık (ÜV):

ÜV ışık yüzeydeki dokular tarafından kuvvetle absorbe edilir ve bu sebeple derindeki dokulara nüfuz edemez. Bundan dolayı ÜV sadece şualandırılan doku tek tabakalı olduğu zaman kromosom kopmaları husule getirebilir. Bunun için bu tip tecrübelerde *Tradescantia paludosa*'nın pollenleri ve pollen tüpleri tercih edilmektedir.

Alkilleştirici amiller:

Sülfürler, epoksidler, hardal gazları ve β -laktonlar bu gruba dahildir. Radiomimetik amillerden bazılarının tesiri geçirir, bazılarınınki değildir. Tesiri geç olanlar sadece kromatid tipi kopmalar, tesiri geç olmayanlar ise hem kromosom hem de kromatid tipi kopmalar husule getirirler. Meselâ *Vicia faba*'da, muameleden iki saat sonra metafazda kromosom

yapısı değişmeleri müşahede edilirse tesir gecikmemiştir. Bu olay muameleden 8-10 saat sonra kendini gösterirse tesir gecikmiş sayılır.

REVELL (1960) e göre *Vicia faba*'nın kök uçlarında interfazın ilk 1/3 i esnasında X ışınları kromosom tipi kopmalar husule getirir. İnterfazın son 1/3 i esnasında husule getirilen kopmalar sadece kromatid tipidir.

HOWARD ve FELC işaretli fosfor (F^{32}) kullanarak *Vicia faba*'nın kök ucu hücrelerinde interfazı üç safhaya ayırdılar ve interfazın ikinci 1/3 i esnasında F^{32} nin kromosomun dezoksiribonukleik asid (DNA) ine dahil olduğunu buldular. Bu gösterdi ki o safhada dezoksiribonukleik asid sentezi vaki olmaktadır.

İnterfazın safhaları :

1. DNA sentezinden evvelki safha, yani telofaz ile DNA sentezinin başlaması arasında geçen zaman.
2. DNA sentezinin yapıldığı safha.
3. DNA sentezinden sonraki safha, yani DNA sentezinin bitişi ile sonraki bölünmenin başlaması arasında geçen zaman.

Vicia faba'da birinci ve ikinci safhaların altışar saat, üçüncü safhanın da takriben sekiz saat sürdüğü kabul edilmektedir.

Kromosom kopmaları ve onun neticesi olan strüktürel kromosom değişmeleri hakkında iki nazariye vardır. Bunlardan birine göre radiomimetik bir amilin tesiri altında meydana gelen ilk olay kromosom kopmasıdır. Kopma noktasındaki uçlar ya açık kalır veya tekrar birleşirler. İkinci hipoteze göre radiomimetik amilin tesiri altında meydana gelen ilk olay kopma değildir. Kromosomda başka bir çeşit karışıklıktır. Bu karışıklık kromatid mübadelesi ile neticelenir. Kromatid mübadelesi normal olarak meiosis'un pakiten safhasında hücrenin kontrolü altında vaki olmaktadır. Radiomimetik amillerin, mitotik hücrede meiosis'daki tipte kromatid mübadelesine yol açacak bir durum yaratması mümkündür. Tabiatıyla böyle mübadeleler anormal ve asimetrik olacaktır. Bunlar ekseriya homolog olmyan iki kromosom arasında meydana gelir. Bu hipotez birçok hallerin izahı için uygun görünmektedir. Fakat kromosomların birçok ufak parçalara ayrılacak şekilde kopması bununla izah edilemez.

Radiomimetik âmillerin sebep olduğu genetik neticeler :

Herhangi bir amilin tesiri altında kromosomun ucundan veya için-

den bir parçanın kopması ve kaybolması yani defisiyens ve delesyon, kromosomdan bir veya birkaç genin eksilmesi demektir. Eğer kopan parça büyük değilse ve bu kopma sadece homolog kromosomlardan birinde meydana gelmişse yani heterozigot ise fenotipte tesirini göstermiyebilir. Fakat homozigot ise kaybolan parçanın büyüklüğüne göre fertilitede, vegetatif gelişmede eksikliğe, bazı anormalliklere, hattâ ferdin ölümüne sebep olur.

Kromosomda iki yerden kopma vaki olduğu takdirde iki kopma noktası arasında kalan parçanın 180° dönerek koptuğu yere yapışması, yani inversiyon genlerin dizilişindeki sırayı değiştirmiş olur. Genlerin etkisi komşu genlere de bağlı olduğundan inversiyonun neticesi fenotipte kendini belli eder. İversiyon da homozigot veya heterozigot olabilir.

Bir kromosomdan kopan parçanın, homolog olmayan başka bir kromosoma yapışması translokasyon adını alır. Translokasyon ekseriya heterozigottur. Bu sebepten eş kromosomlar arasındaki homolojiyi bozar. Böyle kromosomlar meiosis'de normal eşleşme ve krossingover yapamazlar. Bunun neticesinde anormal gametler teşekkül eder. Bunların birçoğu yaşayamaz ve neticede kısmî veya tam steriliteye sebep olur.