

disiplinle  
le, belki  
e» kuru-  
a gidile-

bu ya-  
leki yeri  
ğım.

## MİKROORGANİZMALARIN GENETİĞİ\*

Prof. Dr. Melekper Öktay  
(I. Ü. F. F. Genel Zooloji Kürsüsü)

Bundan takriben bir asır kadar evvel L. PASTEUR mikroorganizmaların kendi kendine teşekkül etmeyip daima bir başka mikroorganizmadan meydana geldiğini ispat etmekle, canlılığın spontan meydana gelmediği ve daima canlıdan canlıya naklolduğu hakkındaki dünya görüşünün yerleşmesine büyük âmil olmuştur. Bu küçük canlılar yani bakteriler ve viruslar bugün de canlıdan canlıya naklolun kalıtsal hususiyetlerin ilmi olan genetiğe pek büyük fayda sağlamaktadırlar. Eskiden genetik daha ziyade kalıtsal vakıalar üzerinde durur, irsiyetin hangi esaslar dahilinde cereyan ettiğini tespit etmeğe çalışırdı. İrsiyetin de bir maddesel esası olduğunu kabul etmekle beraber bunun mahiyeti hakkında bir şeyler öğrenmek imkânlarına sahip değildi. Bugün ise genetik, çalışmalarını özellikle irsiyetin biokimyasal ve moleküler esaslarına yöneltmiştir. Klâsik genetiğe karşılık modern genetiği çok defa biokimyasal Genetik, Moleküler Genetik, Fizyolojik Genetik tabirleri ile ifade etmek bu sebepten ileri gelmektedir. Bir canlıda kendine has özelliklerin meydana gelmesinde primer rol oynayan ve bu hususiyetlerin aynen yeni nesle geçmesini sağlayan maddesel yapının ne olduğunu, irsiyet âmillerinden vasfa kadar giden yolda hangi fizyolojik hadiselerin cereyan ettiğini öğrenmemizde mikroorganizmalar o kadar ehemmiyetli bir rol oynamışlar ve oynamaktadırlar ki, modern genetiğin doğması hemen hemen bunların sayesinde olmuştur dersek büyük bir hata işlememiş oluruz.

Mikroorganizmaların diğer canlı türlerden (Makroorganizmalar) farklı birçok hususiyetleri mevcuttur. Buna bağlı olarak Mikroorganizmalar genetiğinin özelliği, mikroorganizmalar genetikçisinin özel çalışma tarzları, özel metodları vardır.

Bir canlının kendine has hususiyetleri o canlının vasıflarıdır. Vasıfların meydana gelmesinde primer rol oynayan kalıtsal âmillerin toplamı canlının Kalıtım Materyelidir ve canlının genotipini teşkil eder. Vasıf kalıtsal âmiller (genler) ile canlının iç ve dış ortamının müştereken çalışması ile meydana gelir. Sonunda canlının fenotipi yani vasıflarının

\* Mart 1966 tarihinde teslim edilen bu makale, teknik sebeplerden dolayı bugühe kadar basılamamıştır.

toplamı ortaya çıkar. Genetik ilmi kalıtımı ve bunun esaslarını incelemek için evvelâ canlının kalıtsal vasıflarını bilmek mecburiyetindedir. Her ferdin gözle veya optik vasıtalarla incelenebilen morfolojik vasıfları yanında fizyolojik ve kimyasal vasıfları vardır. Mikroorganizmaların morfolojik vasıfları makroorganizmalarınkine nazaran çok mahduttur. Meselâ bakterilerin morfolojik vasıfları arasında hücre şekli, büyüklük, koloni şekli, nadiren renk farkı, hücre etrafında bir örgütünün bulunmaması gibi mahdut vasıflar sayılabilir. Diğer taraftan bu vasıfların görülebilmesi için ekseriya mikroskoba ihtiyaç vardır bu da çalışmayı güçleştirir. Bu sebepten bu organizmaların genetiğini yapan araştırmacı daha çok bunların fizyolojik ve biokimyasal vasıflarını kullanır. Bir bakteri hücresinin metabolizması esnasında gösterdiği hususiyetler, meselâ amino asitleri, organik bazlar veya vitaminleri sentetize edip edememe kabiliyeti, muayyen organik maddeleri parçalayıp parçalıyamadığı veya dış etkenlere karşı hassasiyet veya mukavemet kabiliyeti ekseriya genetik analiz için kullanılan vasıflardır. Bu bakımdan mikroorganizmalar genetiği, daha ziyade morfolojik vasıflar ile çalışan klâsik genetikten farklıdır.

Genetik çalışmalarda fazla fert sayısı ve fazla nesil elde etmek çok mühimdir. Bakteriler ve viruslar bu bakımdan çok müsait objelerdir. Bakteriler bölünerek ürer. Hücre bölünmeleri çok kısa zamanda olur, meselâ *Escherichia coli* her 20 dakikada bir bölünme yapar. Bunun neticesinde kısa zamanda milyonlarca fert elde etmek mümkündür. Bakteriler ya sulu vasatlarda üretilir (sulu vasat ekseriya et suyudur) veya büyüme ve bölünmeleri için elzem olan maddeleri ihtiva eden agar agarlı petri kutuları içinde çoğaltılırlar. Bir agar agar plakı üzerinde her biri bir tek bakteri hücrelerinden meydana gelmiş ayrı ayrı bakteri kolonileri elde etmek mümkündür Bunun için sulu vasatta üretilen kesif bakteri kültüründen bir damla 1 cc da birkaç yüz bakteri kalacak kadar sulandırılır ve bu sulu mahlûlden bir veya birkaç damla agar agar plakı üzerine aşılır, lüzumlu suhunet derecesini temin eden bir etüvde takriben 24 saat bırakılırsa plak üzerinde münferit koloniler elde edilir. Her bir koloni bir tek bakteriden meydana gelmiş bakterilerden müteşekkildir. Böylece bir tek hücreden menşe almış, bunun için de birbirlerine benzeyen fertlerden ibaret bir nesil elde edilmiş olur. Bu populasyona klon denir. Klonlar daha sonraki genetik çalışmalar için bir esas teşkil eder.

Viruslar sadece canlı hücre içinde üreyebildikleri için bunların çoğaltılması ancak canlı hücre kullanarak mümkün olur. Viruslar laboratuvarlarda, doku kültürlerinde üretilmiş muayyen doku hücreleri veya

çalışılan virus bir bakteri virusu ise, bakteri hücreleri içinde üretilirler. Her virus ancak kendine has hücre tipi içinde gelişebildiği için, tecrübe esnasında o virus için spesifik hücreleri kullanmak lâzımdır.

Bir vafın genetik analizini yapmak için mümkün olduğu kadar çok mutant ırkı birbiri ile karşılaştırmak lâzımdır. Geliştirilmiş olan metodlar sayesinde bakteriler bu bakımdan da çok müsait bir obje olmuştur. Suni olarak ve kolayca bir bakteri ırkından pek çok sayıda, bazen yüzlerce mutant ırk elde edilebilmektedir. Bu konuya mutasyon bahsinde tekrar dönülecektir.

Biolojinin bütün modern metodları, meselâ radioaktif isotoplarla çalışmak, ultra santrifuj ile hücre elemanlarını faksyonlara ayırmak, kromatografi veya elektforez gibi metodlar bakteri genetikçisinin sık sık müracaat ettiği vasıtalarıdır. Bakterilerde eşem hadiseleri mevcut olmadığı için, tecrübî olarak gen kombinasyonları ve rekombinasyonlar özel başka yollarla elde edilir.

#### BAKTERİ VE VİRUSLARDA İRSİYETİN MADDESEL YAPISI

Genetik bize ispat etmiştir ki irsiyet amilleri yani genler hücre nükleusu içinde kromozom denilen organellerde bulunur ve lineer olarak sıralanmış olması lâzımdır. Acaba bakterilerin kromozomları veya hattâ nükleusu var mıdır? Viruslarda durum nasıldır?

Bakteri hücreleri hususî bir muameleye tâbi tutulmadan adi hücre boyaları ile boyandıkları zaman homojen boyanırlar, hücre içinde farklılaşmış bir strüktür tefrik etmek mümkün değildir. Bu sebepten bakteri hücreleri uzun seneler nükleusuz hücreler olarak kabul edilmiştir. Yeni metodların geliştirilmesi, bilhassa bakteri hücresi içinde yaygın olarak bulunan ribonukleik asidin (RNA) ribonukleaz (RNA-az) enzimi ile parçalanarak uzaklaştırılması ve onu takip eden hususî boyama yolu ile bakteri hücresi içinde diğer canlıların nükleusları ile mukayese edilebilecek strüktürlerin mevcudiyeti ortaya çıkmıştır. Elektron mikroskobu araştırmaları da nükleusa benzer bir organel mevcudiyetini ispat etmiştir. Deoksiribonukleik asit (DNA) ihtiva eden bu strüktür, diğer canlıların nükleuslarından bazı bakımlardan farklı olduğu için literatürde bazan başka isimler ile anılır. Nüklear vakuol, nükleoid, chromatin body bu tabirlerden bazılarıdır. Mamafih bakteri nükleusu tabiri de çok kullanılmaktadır. Bu yapının diğer canlıların nükleusundan en büyük farkı, hücre sitoplazmasından hususî bir çeper ile ayrılmamış olmasıdır. Bakteri nükleuslarının yapısı hakkında çeşitli fikirler mevcuttur ve henüz tam bir karara varılmamıştır. Nükleus yapısı hakkında muhtelif görüş-

leri iki grup altında toplamak mümkündür. 1 — Nükleus bir nükleus matriksi ile farklılaşmış ve DNA ihtiva eden bir veya birkaç kromozomdan ibarettir. Matriks ile kromozomların birbirinden ayrılması, diğer canlıların nükleuslarında olduğu gibi, kromozom fonksiyonunu bozmaz. 2 — Nükleus hep birden bir biyolojik ünedir, ihtiva ettiği komponentlerin birbirinden ayrılması fonksiyonu bozar. Böyle düşünenler arasında bütün bakteri nükleusunun DNA dan ibaret bir tek kromozom olarak kabul edenler de vardır.

Hücre içindeki nüklear strüktürden başka bazı bakterilerde dağıntık DNA partikülleri de tespit edilmiştir.

Nükleus veya ona benzer organelin strüktürü ne olursa olsun, bakteri genetik materyelinin DNA olduğu bugün itirazsız olarak kabul edilmiştir.

Viruslara gelince; Viruslar hemen hemen sadece nükleik asidi ve proteinden ibaret gayet küçük canlılardır. Diğer bütün canlılardan farkları kendi başlarına metabolik faaliyetlerde bulunamayıp çoğalmak için başka bir canlı hücreye ihtiyaç göstermeleridir. Başka bir canlı hücre içinde kendilerine has nükleik asitleri ve proteinleri yaparlar veya içinde buldukları hücreye yaptırırlar. Bunun neticesinde her virus türüne has vasıflar meydana gelir. Virus partikülleri çoğalınca konak hücre parçalanır, virüsler yeni hücrelere geçerler ve bu yeni hücrelerde aynı vasıfları taşıyan virüsler meydana gelir. Virusların da bu spesifik vasıfların teşekkülünde primer rol oynayan irsiyet amilleri yani genleri vardır. Bu küçük canlıların elektron mikroskobunda görülen özel şekilleri, dokularında veya bakteri kültürlerinde hücrelerin parçalanması sonunda meydana gelen şekiller, serolojik hususiyetleri yahut muayyen bir hücreyi enfekte edip edememe kabiliyetleri genetik çalışmalarda kullanılan vasıflarıdır.

Viruslarda da genetik materyelin saf nükleik asitleri olduğu ispat edilmiştir. Bazı viruslar RNA ihtiva eder DNA sı yoktur. Meselâ Tütün Mozaik Virus (TMV), bazı böcek virusları böyledir. Bunların genetik materyeli RNA dır. Bütün diğer viruslar, bakteri virusları, insan virusları ise kalıtım materyeli olarak DNA ihtiva ederler. Çok az bazı viruslarda hem DNA hem RNA bulunduğu zannedilmektedir.

Çok iyi incelenmiş bir genetik obje olan *Escherichia coli*'nin kendine has virusları vardır, (bakteri viruslarına bakteriofag veya sadece fag denir). *E. coli*'nin fagları arasında T<sub>1</sub>—T<sub>7</sub> ile işaretlenen bir grup mevcuttur ki bunlarla yüzlerce tecrübe yapılmaktadır. Hayat devreleri iyice araştırılmıştır. Şekilleri bir kurbağa tetarına benzer, DNA ile DNA etra-

fındaki bir protein kılıftan yapılmışlardır. Bakteri hücresi içinde virüsler çoğalınca hücre parçalanır. Virus partikülleri yeni bir bakteri hücresi içine gireceği zaman protein kılıf hücrenin dışında kalır. Hücre içine sadece DNA ekseni girer. Bir müddet sonra DNA parçacıkları çoğalır, etraflarında kendilerine has protein kılıf teşekkül eder. Yeni virüsler tam ana partiküllerin karakterindedir. Protein kılıf dışarıda kaldığına göre hususî vasıfların teşekkülüne amil başlı başına DNA olmalıdır. Hem T—fağları hem de Tütün Mozaik Virusu ile tekrarlanmış olan şu tecrübe DNA'nın yalnız başına genetik materyeli olduğunu ispatlar: E. coli bakterilerinden bir kısım radioaktif kükürt ( $S^{35}$ ), diğer bir kısım radioaktif fosfor ( $P^{32}$ ) ihtiva eden büyüme vasatında muayyen bir müddet bırakılır. Bakteriler kâfi miktarda radiaktif madde aldıktan sonra her iki gurupta T—fağları ile aşılır. Bir müddet sonra fağlar hücreleri parçalayıp serbest kalırlar, radioaktif kükürtlü bakteri hücreleri içinde büyüyenler  $S^{35}$ , fosfor almış bakteri hücreleri içinde büyüyenler ise  $P^{32}$  ile işaretlenmişlerdir. Fağlar canlı hücre dışında üreyemedikleri için onları doğrudan doğruya radioaktif madde ihtiva eden bir vasata koyarak işaretlemek mümkün değildir. Anlatıldığı gibi ancak indirekt yolla terkiplerine radioaktif isotopların girmesi sağlanabilir. Bunlardan  $S^{35}$  alanların protein kılıfı,  $P^{32}$  alanların ise DNA sı radioaktif madde ihtiva eder. Çünkü S proteinlerin terkiibinde vardır DNA'nın terkiibinde bulunmaz, P ise proteinde yoktur DNA da vardır. Şimdi bu fağlar yine iki grup halinde artık radyoaktif madde ihtiva etmeyen bakteri kültürlerine aşılır. Muayyen bir müddet sonra bakteri kültürlerinin radyoaktivite gösterip göstermedikleri kontrol edilir.  $P^{32}$  ile işaretlenmiş fağlarla infekte edilmiş bakteri kolonileri radyoaktivite gösterirler,  $S^{35}$  li fağlarınki ise radyasyon vermez. O halde yeni bakteri hücresi içinde kendine benzer yeni fağların teşekkülü esnasında ana fağların proteinleri değil fakat DNA ları rol oynar. Bu tecrübe sarahaten bakteri hücresi içine girip yeni fağın hususiyetlerini meydana getiren maddenin fağın DNA sı olup proteini olmadığını gösterir.

#### BAKTERILERDE MUTASYON

Mutasyonlar irsiyet amillerinde meydana gelen kalıtsal değişikliklerdir. Bunlar fenotipte değişikliklere sebep olurlar. Dış ortam etkisi ile meydana gelen ve nesilden nesile intikal etmeyen değişiklikleri mutasyonlarla karıştırmamak lâzımdır. Bu ikincilere modifikasyon ismi verilir. Mutasyonlar ya kendi kendine (spontan) meydana gelir veya muayyen bazı etkenler ile suni olarak meydana getirilirler. Mutasyon çeşidi

ile mutasyon yapan etken arasında direkt bir münasebet yoktur. Nasıl bir mutasyon meydana geleceği daima tesadüfe bağlıdır. İstikametli bir mutasyon yaptırmak şimdiye kadar tecrübi olarak mümkün olmamıştır. Son senelerde bu alanda girilen bazı denemeler henüz kati bir sonuç almamıştır.

İnsanlarda hastalık yapan bakterilere karşı sülfamidler veya penisilin, streptomisin gibi antibiyotiklerle mücadele edilmeğe başlandıktan beri bazı bakterilerin muayyen antibiyotiklere bir müddet sonra alıştıkları, artık ilâcın tesirsiz kaldığı müşahede edilmiştir. Deney kültürlerinde de aynı şeyi tecrübe etmek mümkün olmuştur. Penisilin veya streptomisine hassas olan kültürlerde bazen muayyen koloniler penisilin ilâvesi ile ölmez, gelişmeye devam eder. Böyle kültürlerden alınan aşılar tekrar mukavim koloniler meydana getirirler. Demek ki bu yeni hususiyet (rezistans) kalıtsaldır. Çok uzun seneler bunun mutasyon olduğuna inanılmamış, bu ilâçların bakterilerde direkt olarak kalıtsal bir alışkanlık yaptığı zannedilmişti. İlk defa olarak LURIA ve E. ELBRÜCK (1943) bu değişikliğin bir mutasyon neticesinde meydana geldiğini ispatlamışlardır. Bu ilâçlara karşı hassasiyet vasfı bakteri hücresinde muayyen bir gen tarafından kontrol edilir. Kültür içindeki hücrelerden bir tanesinde tesadüfen bir gen mutasyona uğrar, artık hassasiyeti değil rezistansı kontrol eden bir kabiliyet kazanır. Aynı kültürde diğer bütün hücreler vasata antibiyotik ilâve edildiği zaman ölürler, daha doğrusu artık bölünemezler rezistans hücre ise bölünmeye devam eder ve bir müddet sonra kültürde binlerce hücrelik yeni bir klon meydana gelir. Bu klon artık bir rezistant ırktır. Görünüşte bir alışkanlık imiş gibi duran bu hadise esasında bir tesadüfi mutasyonun sonucudur. İlâcın burada sadece bir seleksiyon etkisi vardır yani etkisi indirektir. Bugün bakteri kültürlerinde spontan veya suni mutasyonlar selekte etmek ve bu yolla yüzlerce mutant ırklar elde etmek mümkündür. İlk olarak BEADLE ve TATUM'un *Neurospora* (bir mantar) da geliştirmiş olduğu ve sonradan LEDERBERG'in bakterilere tatbik ettiği bir metod ile suni olarak pek çok bakteri mutant ırkları elde edilir. Fazla miktarda mutant ırklar elde edilebilmesi, bakterilerin genetik çalışmalara bu kadar meşhur olmasına çok büyük amil olmuştur. Meselâ 20 çeşit amino asidinden herhangi birini yapamayan bakteri ırkları tecrübe için elde edilmek istenirse şu yolda çalışılır:

Evvelâ sulu vasat içindeki bakteri kültürleri radyasyona tabi tutulur veya mutasyon yapan kimyasal maddeler ile muamele edilir (öldürücü dozda olmamak şartıyla). Kültürde çeşitli mutasyonlar meydana

na gelmiş olabilir, bunların arasında amino asitleri sentezi ile ilgili olanlarında bulunması mümkündür. Kültür bundan sonra penisilin ile muamele edilir. Minimal vasat içindeki bakteri hücrelerinden mutasyona uğramayanlar bölünme safhasına gelecek fakat penisilin yüzünden bölünme safhasında öleceklerdir. Çünkü penisilin ancak bölünme halindeki hücrelere tesir eder. Mutasyona uğrayan hücreler ise eksik metabolizmalar yüzünden büyüme imkânını bulamadıkları için bölünme safhasına giremeyecek dolayısıyla penisilinden müteessir olmayacaktır. Böylece ilk partide mutant hücreler selekte edilmiş olur. Bundan sonra sulu vasatta bulunan bakteriler, penisilin bertaraf edildikten sonra agar agarlı sert vasata alınır. Bu vasata minimal vasatın ihtiva etmesi icap eden maddelerden başka mutantları elde edilmek istenen amino asitleri de ilâve edilir. Bu yolla amino asitlerinden herhangi birini yapma kabiliyetini tesadüfen kaybetmiş olan hücrelerin de çoğalabilmesi sağlanır. Bu vasata komple vasat ismi verilir. Bu kültür içinde çeşitli mutant koloniler ayrı ayrı geliştirecektir. Maksada uygun olan mutantları seçmek için tecrübeye şöylece devam edilir; Evvelâ bir seri petri kutusuna her birinde birer tane amino asidi eksik olmak şartıyla agar agarlı komple vasat konur. Sonra petri kutusundan biraz daha küçük bir tahta veya madeni taşıyıcı üzerine havları olan bir kumaştan, meselâ kadifeden sterilize olmuş bir parça lâstik bir bandla yerleştirilir ve mutant kolonileri ihtiva eden ana kültüre bu kumaş parçası yavaşça tatbik edilir, sonra kaldırılarak evvelce hazırlanmış diğer petri kutularına temas ettirilir. İnce havlar âdeta bir enjeksiyon iğnesi vazifesini görerek ana kültürdeki kolonilerden bir miktar hücrenin diğer petri kutularına hiç yer değiştirmeden geçmesini sağlayacaktır. Şimdi diğer kültürler de inkubasyona terkedilir. Ana kültürde hangi koloniler hangi amino asidini yapamama vasfını kazanmışsa o amino asidinin eksik olduğu petri kutusunda o koloni eksik olacaktır.

Her bir petri kutusu ana kültür ile mukayese edilir ve neresinde kolonilerin eksik olduğu tayin edilir, neticede ana kültürde muayyen mutant kolonilerin nerede yerleşmiş olduğu meydana çıkar. Bu yerlerden ince bir pipetle hücreler alınıp bu sefer mevzuubahis amino asidini ihtiva eden medyumlara konursa istenilen mutant ırk üretilmiş olur. Bu yolla yalnız amino asitleri mutantları değil her çeşit mutasyon ırklarını isole etmek mümkündür. Bu çeşit mutant ırklar oxotrof ırklar ismini alır. Kendine lâzım olan her çeşit maddeyi yapabilen ırklara ise prototrof ırklar denir.

Bakteri genetiğinde umumiyetle *Drosophila* genetikçilerinin yaptığı

ğı gibi muayyen bir vasfın mutasyonu o vasfın isminin kısaltılmış rumuzu üzerine (—) işareti koyarak ifade edilir, normal gen için ise (+) işareti kullanılır. Meselâ Arg—, His—, Lac—, Gal—, arginin veya histidin yapamama yahut laktoz veya galaktoz parçalayamama genlerini, Arg+ His+ Lac+ Gal+ ise bunların normal genlerini ifade eder. Bazen mutant genler için hiç işaret konmaz. Bazı hususî vasıflar için de hususî işaretler vardır. Meselâ S<sup>s</sup>, streptomisine hassasiyet S<sup>r</sup>, streptomisine rezistans genini gösterir.

Spontan mutasyonlar oldukça nadir olarak meydana gelirler. Muayyen bir fert adedi içinde bir genin mutasyona uğrama sayısı o genin mutasyon çokluğudur. Her gen aynı nispette mutasyona uğramaz, bu bakımdan stabil ve labil genler, dolayısıyla stabil ve labil ırklar tefrik edilir. Bu çokluk en aşağı 10<sup>-3</sup> ortalama 10<sup>-4</sup> bazen de 10<sup>-6</sup> veya daha fazladır.

Suni olarak mutasyon yapan etkenlerin başında radyasyon ve bazı kimyasal maddeler gelir. Bu ajanlardan başka düşük pH, ekstrem temperatur da mutasyon tevlit eder. X-ışınları ile iyonize olmuş diğer ışınlar ve UV-ışınları çok iyi mutajenik ajanlardır. Kimyasal maddeler içinde en mühimleri nükleik asit bazlarının analogu olan bazı maddeler, meselâ 5—bromourasil (Timin analogu), 2—aminopurin (adenin analogu) gibi, veya nükleik asit bazlarının terkiibini değiştiren meselâ nitrik asit gibi maddelerdir. Hidroksilamin, akridinler meselâ proflavin de çok kullanılan mutajenlerdir.

#### BAKTERİLERDE REKOMBİNASYON

Makroorganizmalarda cinsiyet hadisesinin neticesi olarak ana ve babanın genlerinin bir kısmı yavrularda bir araya gelir. Bu suretle yeni kombinasyonlar teşekkül eder. Diploid organizmalarda kromozomlar soma hücrelerinde homolog çiftler halindedir. Bu sebepten her gen her hücrede iki defa (ya aynen ya da iki alel şekli ile) bulunur. Meyoz bölünmesi neticesinde homolog kromozomların her biri tesadüfi olarak haploid gametlere geçer. Yavruda ana ve babadan gelmiş birer kromozom tekrar homolog çiftleri yapar. Bir kromozom üzerinde bulunan bütün genler genel olarak birbirleri ile bağlantı gösterirler, yani yeni nesle hep beraber geçerler. Bu da fenotipte birçok vasıfların daima bir arada görünmesi ile kendini gösterir. Meselâ bir homolog çiftte şu genler bu-

lunsun :  $\frac{a \ b \ c \ d \ e \ f}{a+b+c+d+e+f+}$  yavrunun birisine a b c d e f genleri,



diğerine  $a+b+c+d+e+f+$  genleri bir arada geçecektir. Fakat bazen crosing-over denilen ve meiosisde cereyan eden bir hadise neticesinde homolog kromozomların küçük parçaları yer değiştirir, bunun sonunda bağlantının bir kısmı çözülür ve yeni guruplaşmalar olur.  $a+b+c+d+e+f+$  ve  $a+b+c+d+e+f+$  gibi. Bu hadiseye rekombinasyon ismi verilir. Burada  $b$  ile  $b+$  geni yer değiştirmiştir.

Bakterilerde cinsiyet hadiseleri yoktur. Bazı türlerde konjugasyon olayı müşahede edilmiştir, bu bir parasexüel olaydır. Çok hücreli canlıların eşemsel hadiselerine benzemez. Buna rağmen bakterilerde de konjugasyonlar ve rekombinasyonlar müşahede edilir. Eğer muayyen eksiklikleri olan iki mutant bakteri ırkı meselâ histidin yapamıyan ırk ile arginin yapamıyan ırkın ( $His^- Arg^+$  ve  $His^+ Arg^-$ ) hücreleri bir arada minimal vasatta gelişmeye terk edilirse bazen kültürde kolonilerin geliştiği görülür. Halbuki minimal vasatta ne arginin ne de histidin bulunmadığına göre her iki ırka ait hücrelerin çoğalamaması ve kolonilerin teşekkül edememesi lâzımdı. Kolonilerin görünmesi hem histidin hem de argininin sentetize edebilme kabiliyetini bir arada taşıyan yeni hücrelerin meydana geldiğini ifade eder.  $Arg^+$  ve  $His^+$  genleri rekombine olmuş,  $Arg^+ His^+$  bağlantısını taşıyan yeni hücreler meydana gelmiş demektir. Bakterilerde rekombinasyon tevhit eden şu olaylar bilinmektedir: Transformasyon, Transdüksyon, Konjugasyon,

#### Transformasyon

İlk defa olarak GRIFFITH 1928 senesinde sıcak su ile muamele edilerek öldürülmüş, hastalık yapan S-Pneumococları (bunların hücreleri etrafında bir kapsül bulunur) ile bu türün hastalık yapmıyan R-ırkını (kapsülsüz) beraberce farelere aşılama, farelerde hastalık görülmemesi icap ederken hayvanların hastalandıklarını görmüştür. Bu beklenmiyen hadiseyi, canlı olan R-bakteri hücrelerinin bir kısmının S-tipi karakterini kazanmaları ve bunların çoğalarak farelerde hastalık yapmış olmaları şeklinde izah etmiştir. Hakikaten mikroskopik müşahedeler de R-tipi bakterilerinin bazılarının kapsüllü forma dönüştüğünü göstermiştir. Bu hadiseye *Transformasyon* ismi verilmiştir. Birkaç sene sonra tecrübe tüpünde hadise tekrarlanmış ve muayyen tipteki Pneumococların ekstraktlarının da başka tip hücrelerde o tipe ait değişiklikler yaptığı müşahede edilmiştir. Bu hadisede bir hücreden elde edilen bir madde o hücrenin kalıtsal vasıflarını başka tip hücreye nakleder. Bu maddenin yani bazı bakteri ırklarında transformasyon yapabilen maddenin DNA olduğu 1944 senesinde AVERY ve arkadaşları tarafından ispat edilmiş-

tir. Bugün muayyen bakteri hücrelerinden elde edilen saf DNA lar ile transformasyon yaptırmak mümkün olmaktadır. Bu yol ile bakterilerde yeni gen kombinasyonları meydana getirmek mümkündür. Böylece transformasyon bakterilerde rekombinasyon tevlit eden yollardan biri sayılmaktadır.

Transformasyon hadisesi Pnevumococclardan başka *Neisseria meningitidis* ve *Bacillus substilis* tede görülmüştür.

#### Transdüksyon

Bakterilerde verici bir hücrenin genetik materyelinin bir kısmının alıcı bir hücreye bir fag (bakteri virusu) vasıtasıyla nakledilmesi hadisesine Transdüksyon denir. 1952 senesinde ZINDER ve LEDERBERG *Salmonella thyphimurium* da triptofan sentetize edemiyen bir ırkın hücreleri ile histidin sentetize edemiyen bir ırkın hücrelerini bir araya karıştırdıkları zaman prototrof bir ırk elde etmişlerdir. Burada karakterlerin rekombine olmasının ne transformasyon ne de bazı bakterilerde rastlanan hususî konjugasyon hadiseleri ile vukua gelmediğini tahkik etmişlerdir. Araştırmaları sonunda bir hücrenin genini diğerine nakleden amillerin bakteri hücreleri içinde yaşıyan viruslar olduğunu bulmuşlar ve bu hadiseye *transdüksyon* ismi vermişlerdir. Yukarıda da bahsettiğimiz gibi, bir bakteri içine giren bakteriofag hücre içinde çoğalarak sonunda hücrenin parçalanmasına sebep olur. Buna *lisis* denir. Lisis sonunda bakteri kültürlerinde karakteristik plaklar görülür. Fakat bazı bakteri ırkları bulunmuştur ki bunlara hiç fag aşılınmadan da, bazı mumelelere tâbi tutulurlarsa (UV-veya X-ışınlarına gösterme gibi) bir müddet sonra hücrelerde lisis olur. Bu bakterilere kendi kendine lisis yapan (bu hadise nadiren spontan olarak da meydana gelebilir) mânasına gelen *lisogenik* bakteriler ismi verilmiştir. Araştırmalar hakikatte bu tip bakterilerin mutedil faglar ihtiva ettikleri, yani vegetatif safhaya geçemiyen, bu sebepten de bakteriyi öldüremiyen viruslar taşıdıklarını meydana çıkarmıştır. Bu virus parçacıkları olgunlaşmamış viruslardır, bakteri sitoplazması içinde kendi kendilerine çoğalırlar ve hücre bölününce yeni hücreye geçerler. Bu çeşit bakteriler diğer çeşit faglara karşı da immundurlar. Bazı tecrübeler bu immunitenin bakteri sitoplazmasının bir özelliğinden ileri geldiğini meydana çıkarmıştır. UV-ışınlarının tesiri ile lisogenik bakteri bu immuniteyi kaybeder, hücre içindeki mutedil fag vegetatif safhaya geçer bakteriyi parçalar ve serbest kalır. Böyle faglar başka mutant lisogenik bakterilere aşılınırsa alıcı bakteride birinci tipin karakterlerinin bazıları görülür, çünkü fag bakteri genomunun

bir kısmını da beraber götürmüştür. Transdüksyon hadisesinin iç yüzü budur.

Transdüksyon bugün bakterilerde yeni kombinasyonların elde edilmesinde kullanılan bir metod haline getirilmiştir. Bu metodu *Salmonella* ve *coli* bakterileri ile genetik tecrübeler yapanlar sık sık kullanmaktadır.

Umumiyetle transdüksyonda bakterinin bir veya birbirine yakın olan iki karakteri nakledilir. *Salmonella* fagları vasıtasıyla bakterinin genomunun herhangi bir parçası nakledilebildiği halde *coli* bakterilerinin fagları daima bakterinin muayyen bir genom parçasını naklederler, bu da her fag ırkı için karakteristiktir. Birincisine umumî transdüksyon, diğerine tahdit edilmiş transdüksyon ismi verilir.

### Konjugasyon

Bakterilerde rekombinasyonun üçüncü bir yolu da *konjugasyon*dur. *E. coli*'nin K<sub>12</sub> ırkında ilk defa olarak LEDERBERG ve TAUM tarafından konjugasyon hadiseleri müşahede edilmiştir. Elektron mikroskobu müşahedeleri konjugasyon yapan iki hücre arasında protoplazma köprülerinin meydana geldiğini gösterir. Fakat öyle ırklarda vardır ki kendi aralarında konjugasyon yapamazlar. Bu ırklara F<sup>-</sup> (fertilitesi olmıyan), yapabilenlere ise F<sup>+</sup> denmiştir. Eğer F<sup>-</sup> ile F<sup>+</sup> bakterileri karıştırılacak olursa sonraki nesilde bazı rekombinant ırklar meydana gelir, fakat bunlar daima F<sup>-</sup> olanlardır. Yani ancak fertilite kabiliyeti olan hücrelerin karakterlerinin bazıları bu kabiliyette olmıyanların genomu ile karışmıştır, aksi vaki olmaz. F<sup>+</sup> olanlar arasında bazılarının çok yüksek miktarda rekombinasyona sebebiyet verdikleri görülmüştür. Böyle olanlar ayrı bir ırk olarak tecrit edilmişlerdir. Bu ırklara «high frequency of recombination» mânasına gelen Hfr-ırkları denir. Konjugasyon neticesinde Hfr-hücreleri daima F<sup>-</sup>-hücrelerine genomlarının bir kısmını naklederler.

Birçok vasıfları bilinen bir Hfr-ırkı ile onun alel genlerini taşıyan bir F<sup>-</sup>-ırkı karıştırılarak minimal vasata konur, sonra vasata streptomisin ilâve edilir.

Meselâ :

Hfr) Try<sup>+</sup> His<sup>+</sup> S<sup>s</sup> Lac<sup>+</sup> Gal<sup>+</sup> T<sup>s</sup><sub>1</sub> .....

F<sup>-</sup>) Try<sup>-</sup> His<sup>-</sup> S<sup>r</sup> Lac<sup>-</sup> Gal<sup>-</sup> T<sup>r</sup><sub>1</sub> .....

Ebeveyn hücrelere benzeyen hücreler yaşayamaz ancak Try<sup>+</sup> His<sup>+</sup> S<sup>r</sup> Lac<sup>+</sup> Gal<sup>+</sup> ..... gibi recombinantlar yaşayabilir. Bunlar tekrar başka agar agar plaklarına ekilerek diğer vasıflar bakımından da meydana

gelmiş rekombinantlar selekte edilir. Bu şekilde devam ederek sonunda bütün rekombinasyon tiplerini meydana çıkarmak mümkündür ve ebeveyn tiplerde mevcut olan rekombinasyon nispetleri ölçülebilir. Bu yolla genlerin sırası ortaya çıkar. Ayrıca iki çeşit hücreyi bir araya karıştırdıktan sonra muayyen zaman aralıklarını ile hücre nümuneleri almak ve yeni kültürlere ekmek suretiyle hangi zamanda ne tip rekombinantların meydana geldiğini tespit etmek de mümkündür. Bu çeşit tecrübeler neticesi göstermiştir ki: 1 — Muayyen genler birbirleri ile komşuluk halindedir. 2 — Hfr-verici hücresi F<sup>-</sup>-alıcı hücrelerine kendi genetik materyelini bir sıraya göre nakleder. JACOB ve WOLLMAN (1958, 1960) uzun çalışmalar neticesinde öyle çeşitli Hfr-ırklarını izole etmeğe muvaffak olmuşlardır ki her birinde F<sup>-</sup>-hücrelerine naklolan genlerin sırası değişiktir. Meselâ :

Hfr<sub>1</sub> a b c d e f .....  
Hfr<sub>2</sub> a b z y x u v .....  
Hfr<sub>3</sub> e d c b a z y .....  
Hfr<sub>4</sub> g f e d c b a z ..... v.s.

Bu buluşlar bakteri hücrelerinde genlerin bir halka teşkil edecek şekilde sıralanmış olması icap ettiğini ve Hfr-ırkında diğer tarafa doğru naklolan genetik materyelin her ırka has olarak muayyen bir yerde başladığı fikrinin doğmasına sebep olmuştur.

F<sup>-</sup>-hücreleri ile F<sup>+</sup>-hücreleri kontakt halinde iken F<sup>-</sup>-hücrelerinden bir kısmı bir müddet sonra F<sup>+</sup> haline geçerler. Fakat bu olay neticesinde rekombinasyon olmaz.

Bakterilerdeki bu olayları JACOB ve WOLLMAN şu şekilde izah ederler: *E. colinin* bazı ırklarında sitoplazma içinde kendi kendine çoğalabilen ve icabında başka hücrelere geçebilen partiküller vardır. Bunlara fertilitate faktörü (F) denmiştir. Diğer bazı ırklar bunlar taşımaz (F<sup>-</sup>). Muhtemelen bu partiküller DNA tabiatındadırlar. Bazı ırklarda F-faktörü bakteri genomuna bağlanır (Hfr-ırklarında) ve bu genomun bir kısmını konjugasyon esnasında alıcı hücreye nakleder. F-ırklarında halka şeklinde olan genomun bir ucu Hfr-ırklarında açılmış ve ucuna F-faktörü bağlanmıştır. Onun için F-ırkları yalnız F-faktörünü nakleder, bakteri genomunu nakletmez. Hfr-ırkları ise bakteri genomunu nakleder fakat F-faktörünü nakletmez.

Bu hadise transdüksiyon ile mukayese edilebilir. Transdüksiyonda bakteri genomunun bir kısmı bir virus partikülü ile, burada ise fertilitate faktörü ile diğer bir hücreye nakledilir. Bu yüzden Hfr-ırklarındaki bu olay Sexdüksiyon ismini de alır.

## LİTERATÜR

- AVERY, O., T., McLEOD, C. M., and McCARTY, M., 1944: Studies on the chemical nature of the substance inducing transformation of Pnomococcal types. Induction of transformation by a desoxyribonucleic acid fraction isolated from Pneumococcus Type II. J. Expe. Med. 79
- GRIFFITH, F., 1928: The significance of Pneumococcal types. J. Hyg 27
- JACOB, F., and WOLLMAN, E., 1958: Genetic and physical determinations of chromosomal segments in Escherichia coli Symosia Soc. Exper. Biol. 11
- JACOB, F., SCHAEFFER, P., and WOLLMAN, E. L. 1960: Microbial Genetics, Episomic element in bacteria.
- LEDERBERG, J. and TATUM, E. L. 1946: Cold Spr. Harb. Symp. quant. Biol. 11, 113
- LURIA, S. E., and DELBRUCK, M., 1943: Mutations of bacteria from virus sensitivity to virus resistance. Genetics 28
- ZİNDER, N. D., and LEDEBERG, İ. 1952: Genetic exchange in Salmonella J. Bact., 64
- ZİNDER, N. D., 1955: Bacterial transduction. Symp. Genetic Recombination. J. cell. cdmp. Physiol. 45 Suppl. 2