

BAKTERİLERDE GENETİK MATERYELİN NAKLI

The Transmission of the Genetic Material in Bacteria

Doç. Dr. Emine BİLGE

(İstanbul Üniversitesi, Farmakobotanik ve Genetik Kürsüsü)

Bakteriler nukleusa sahip olmamakla beraber nukleuslu organizmalardaki genetik olaylara ait deliller göstermektedirler. Onlar üzerinde şimdiye kadar yapılan tecrübe ve müşahedeler gösteriyor ki onlar da kromosomlara sahiptirler. Fakat bu kromosomlar moleküler seviyededir, yani dezoksiribonukleik asid (DNA)'ın kendisidir. Bakterilerin sahip olduğu genler, DNA molekülü üzerinde lineer tarzda bir diziliş intizamı gösterirler. Bir çok araştırmacının uzun ve yorucu çalışmaları neticesinde elde edilen veriler gösteriyor ki bakterilerde genetik materyel bir ırktan diğer bir ırka üç ayrı olay sayesinde nakledilebilir, ve böylece yeni gen kombinasyonları kurulabilir. Bunlar, 1. Konjügasyon, 2. Transdüksiyon, 3. Transformasyon ismi verilen olaylardır.

Konjügasyon :

Escherichia coli insan ve hayvanların kalın barsaklarında bulunan ve normal halde vücuda fayda sağlayan bir bakteridir. İnorganik tuzlar ve glikoz ihtiva eden ortamda (minimal ortam), yaşaması için gerekli olan amino asitleri ve vitaminleri yapabilir.

TATUM, *E. coli* bakterilerini X ışınlarına ve ultraviyole ışığa maruz bırakmak suretiyle iki farklı tipte mutasyona uğramış ırklar elde etti. Bunlardan birine Y-10, diğerine Y-24 adını verdi. Y-10 ırkı minimal ortamda treonin (threonine) ve lösin (leucine) amino asitlerini ve B₁ vitamini (thiamine) ni yapma kabiliyetini kaybetmişti. Bu sebeple bu bakterilerin yaşayabilmeleri için sentezini yapamadıkları maddeleri ortamda hazır bulmaları gerekmekte idi. Y-24 ırkı ise fenilalanin ve sistin amino asitlerini ve vitamin B₆ (biotin) yı yapma vasfını kaybetmişti. Yaşamak için bunları ortamda hazır bulması lâzımdı.

LEDERBERG ve TATUM (1946), Y-10 ve Y-24 ırklarına ait kültür-

leri karıştırıp bir arada yetiştirdikleri zaman minimal ortamda yaşamağa muktedir olan koloniler buldular. Halbuki ne Y-10 ırkı ne de Y-24 ırkı buna muktedir değildi. Bu bir geri mutasyon olabilirdi. Fakat mutasyonla değişmeye uğramış üç gende birden geri mutasyon çok zayıf bir ihtimal idi. Bundan başka, minimal ortamda yaşayabilme vasfını kazanan kolonilerin sayısı geri mutasyonda beklenenden çok daha yüksek idi. Böylece bu araştırmacılar, karışık kültürlerde meydana gelen yeni tiplerin, genetik materyelin rekombinasyonuna müsaade eden bir olayın neticesi olduğu kanaatine vardılar ve *E. coli*'de eşeyssel üremenin mevcut olduğunu kabul ettiler.

E. coli'nin eşeyssel bakımdan fark gösteren iki tipi vardır. Bunlardan biri (F+) denen verici tip, diğeri (F-) denen alıcı tiptir. Bir tipe ait fertler kendi aralarında eşleşemezler, yani hiç bir genetik rekombinasyon vermezler. Fakat bu iki tipe ait bakteriler karıştırıldığı zaman 10-1000000 da bir hücrede rekombinasyon meydana gelebilir.

Tesir bakımından verici bakteriler iki sınıftır. F+ ve Hfr olmak üzere. F+ ile F- arasındaki çaprazlama 100000 - 1000000 hücrede bir rekombinant verir. Hfr ile F- arasındaki çaprazlamalarda ise 10 - 1000 hücrede bir rekombinant meydana gelir. Yani Hfr, F+'in yüksek frekansa rekombinasyonlar husule getiren bir ırkıdır.

Konjügasyonda önce verici bakteri ile alıcı yanyana gelirler ve bir protoplasmik köprü ile birbirlerine bağlanırlar. Bundan sonraki kademe, verici (Hfr)'nin genetik materyelinin alıcı (F-) ya nakledilmesidir.

Hfr, treonin (thr+), lösün (leu+) aminoasitlerini yapmak kabiliyetindedir. Metabolizmaya ket vuran sodyum azid'e (azi-s) ve T₁ denen bakteriyofaga (T₁-s) hassastır. O, glikozdan başka laktoz (lac+) ve galaktozu da (gal+) fermentasyona uğratabilir, antibiyotik streptomisin'e hassastır (str-s). O halde Hfr'nin genotipi,

thr+ leu+ azi-s T₁-s lac+ gal+ str-s dir.

F- ırkı bu karakterlerin tam zıddına sahiptir. Yani o, treonin, lösün yapamaz, laktoz ve galaktozu fermentasyona uğratabilmez. Streptomisin'e, sodyum azid'e ve T₁ bakteriyofagına mukavimdir. Yani onun genotipi,

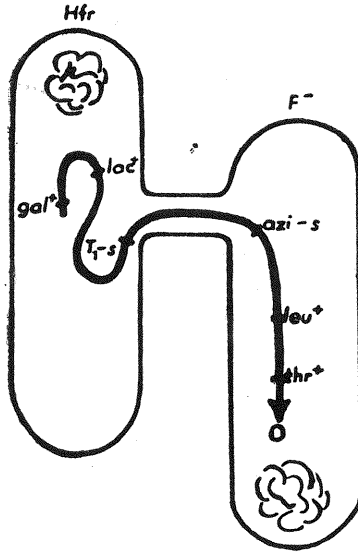
thr- leu- azi-r T₁-r lac- gal- str-r dir.

Hfr ırkı ile F- arasında çaprazlama yapmak için bunlar birbirine karıştırılarak 25 dakika beraber bırakıldılar. Sonra hücreler streptomisin ihtiva eden minimal ortama alındılar. Bu ortamda Hfr ebeveyni ölecektir. Çünkü ortam streptomisin ihtiva etmektedir. F- ebeveyni gelişemi-

yecektir. Çünkü kendisi lösin ve treonin yapamaz. Ortamda da bu maddeler mevcut değildir. Aşıkârdır ki bu ortamda koloni teşkil etmeye kabiliyetli olacak yegâne hücreler thr+ leu+ str-r rekombinant genotipe sahip olacaklardır. Biz burada yalnız thr leu ve str genlerini nazari itibara aldık. Gerekli ortamlar kullanılarak diğer genler için rekombinant olan tipler de ayırt edilebilir.

LEDERBERG ve TATUM bakteri kromosomunun sadece bir istikamette, yani Hfr'den F⁻'a nakledildiğini ve özel bir metodla, konjugasyon halinde olan bakterilerin çeşitli zamanlarda birbirlerinden ayrılmasına sebep olmak suretiyle F⁻'a nakledilen kromosom parçasının uzunluğunun konjugasyon halinde kalma müddeti ile doğru orantılı olduğunu gösterdiler. Bu türlü çalışmalar yukarıda bahsi geçen genlerin, kromosom üzerinde Şekil I'de gösterilen sıra ile dizilmiş olduğunu ve ilk nakledilen genin thr olduğunu, str-s geninin ise hiç nakledilmediğini göstermiştir. Kromosomun başlangıç noktasına yakın olan genler daha kısa zamanda nakledilirler. Meselâ azi geninin 9 dakika gibi kısa bir zamanda F⁻'a nakledildiği müşahede edilmiştir. İlk nakledilen gen thr olduğuna göre kromosom'un başlangıç noktasına en yakın olan gen odur.

Eşleşmenin nihayete ermesinden sonra Hfr, genetik materyelinin bü-



Şekil: I — E. coli'de kromosomun Hfr'den F⁻'a naklinin şeması.
(Levine'e göre Anderson'dan)

yük bir kısmını kaybettiği takdirde ölüme mahkûmdur. F—'da ise mü-
him genetik olaylar cereyan eder ve neticede Hfr tarafından verilmiş olan
genler onun genotipine dahil olur. Yani rekombinasyon dediğimiz olay
vukubulur. Bu olay yüksek organizmalarda krossingover ile meydana
gelen rekombinasyon olaylarına benzemektedir. F—'da husule gelen re-
kombinant genotipin fenotipik tezahürü ise doğrudan doğruya F—'ın
kendisinde değil, onun bölünmesi ile husule gelen nesillerde kendini
gösterecektir.

Transdüksiyon :

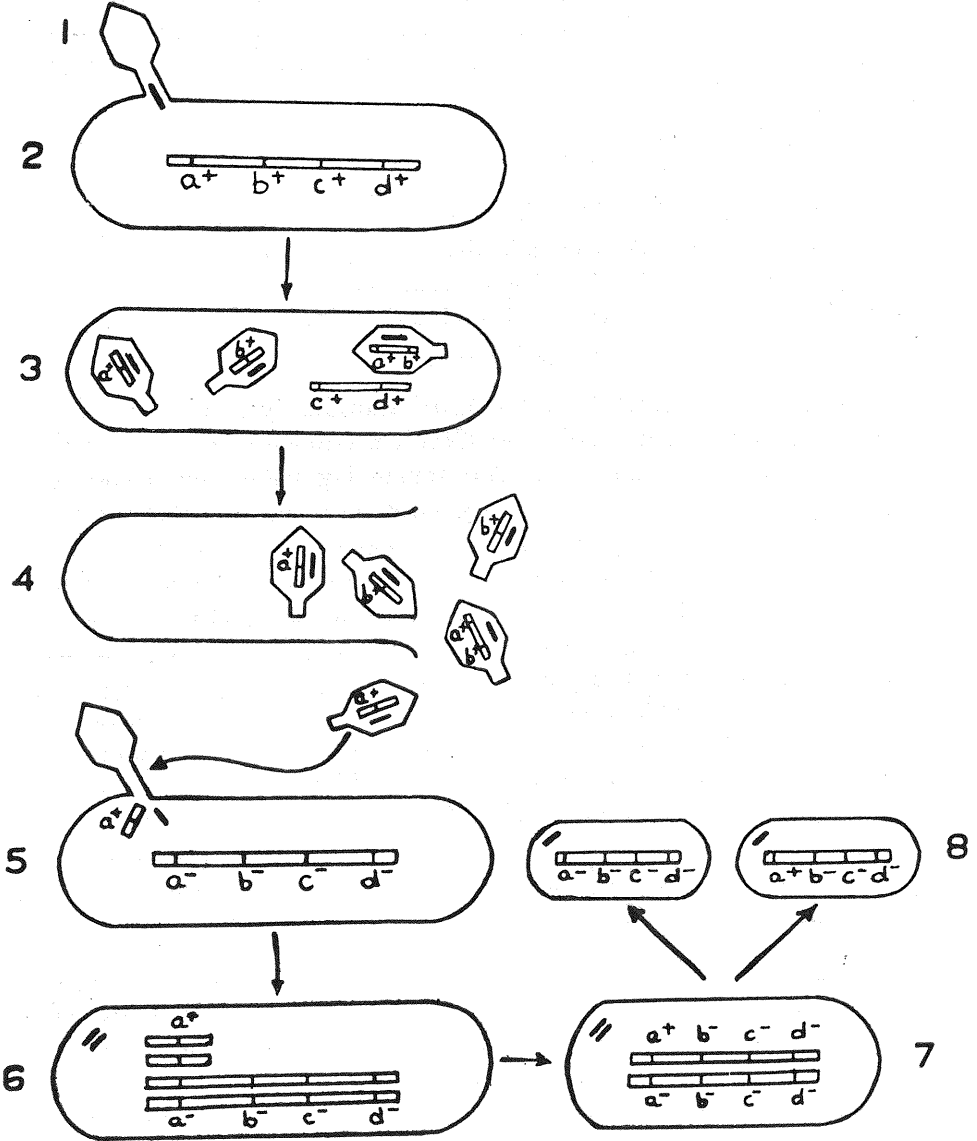
Transdüksiyon bir bakterinin genetik materyelinin, bir bakteriyofag
vasıtasıyla diğer bir bakteriye nakledilmesi olayıdır. Birinci bakteriye ve-
rici, ikinci bakteriye de alıcı denir. Transdüksiyon olayının vâki olabil-
mesi için gene verici ile alıcının genotiplerinin birbirinden farklı ve bir-
birinin tamamlayıcısı olması lâzımdır.

ZINDER ve LEDERBERG 1952'de transdüksiyon olayını *Salmo-
nella**'da gösterdiler. Bakteriler kendileri için virüent olan, yani hastalık
yapan bir fag ile enfekte edildikleri zaman fag bakterinin içinde çok
fazla çoğalır ve neticede onu eritmek suretiyle parçalar. Fakat bir bak-
teri ırkı için virüent olan bir fag tipi, bir başka bakteri ırkı için zararsız
olabilir. Bu durumda fag'a mutedil fag denir. Mutedil fag, bakteri içinde
patogen olmayarak hayatını devam ettirir ve onunla sağlam bir birlik te-
sis eder. Bu birlikte fag'ın çoğalması bakterinin çoğalmasına paraleldir.
Konak bakterinin, fag ile böyle bir birlik kurmaya müsaade etmesi ayrı
bir irsi kabiliyettir. Bakterilerin bu ırklarına lysogenic denir. Eğer lysoge-
nic bakteriler ultraviyole ışığa maruz bırakılırsa onların parçalanmasıyla
serbest faglar elde etmek mümkün olur. Bu fagların genetik materyeli,
konak bakterinin genetik materyelinden bir kısım ihtiva eder. Eğer böy-
le bir fag, farklı genotipte olan bakterileri enfekte etmek için kullanılırsa
bu bakterilerin az bir kısmı fag'ın evvelki konağı olan bakterinin geno-
tipine sahip olan bir döl husule getirir.

Şekil II - 1, verici bakteri (2)'yi enfekte eden bir fag'ı gösteriyor.
Fag, baş ve kuyruk olmak üzere iki kısımdan ibarettir. Başın mahfazası
ile kuyruk, proteinden yapılmıştır. Başın iç kısmında ise fag'ın genetik
materyeli, yani DNA'sı bulunur. Fag kendini, kuyruğun uzantısı olan
ipliklerle bakterinin sathına iyice tutundurur. Sonra bir kanal vazifesi

* *Salmonella typhosa* : Tifo bakterisi. *Salmonella paratyphi* : Paratifo bakterisi.

gören kuyruk vasıtasıyla DNA'sını bakteriye zerkeder. 1 Fag'ı, 2 bakterisi için virülettir. Onun kromosomunu (DNA) parçalar ve çoğalırken bu parçaları tesadüfî olarak kendi genetik materyeline dahil eder (3). Verici bakterinin kromosomu $a^+ b^+ c^+ d^+$ genlerini taşımakta-



Şekil : II — *Salmonella*'da transdüksiyon'un, şematik gösterilişi (Levine'den)

dır. Fag'ın hasıl ettiği parçalardan her biri tek gen veya iki gen taşıyacak uzunluktadır. Şekil II'de fag'ın kendi genetik materyeli, bakterininkinden kolay tefrik edilmesi için siyah bir çubuk şeklinde gösterilmiştir. Bakteri içinde çoğalan faglar, onun plasmasını başın protein örtüsünü ve kuyruğu yapmak üzere harcarlar. Neticede çeperi de eriterek bakteriyi parçalayıp serbest kalırlar (4). Bunlardan, vericinin a+ genini bünyesine almış olan bir fag a—b—c—d— genotipindeki bir bakteriyi enfekte ederse (5) ve onun için zararsız (mutedil) «ise fag'ın getirdiği a+ geni bu bakteri (alıcı) nin çoğalması esnasında onun genetik materyeline dahil edilir. Yani a—b—c—d— kromosomu çoğalırken a+ genini bünyesine alan yeni bir kromosom husule getirir. a+ b —c— d— genlerini taşıyan bu kromosom rekombinant bir kromosomdur. Çünkü alıcının b— c— d— genleri ile beraber fag'ın verici bakteriden getirdiği a+ genini de taşımaktadır. Genetik materyelin iki misline çıkmasını hücre bölünmesi takip eder (6, 7). Meydana gelen iki bakteriden biri tamamen alıcının genomuna, diğeri ise rekombinant genoma sahiptir. Bu rekombinant genom, konjugasyonda da gördüğümüz gibi doğrudan doğruya alıcıda değil, alıcının verdiği dölün fenotipinde kendini belli eder.

Umumiyetle transdüksiyonda sadece bir genin nakledilmesi gösteriyor ki fag, vericinin DNA'sının ancak ufak bir kısmını taşıyabiliyor. Maamafih iki genin birden taşındığı bazı haller de mevcuttur. Böyle hallerde o iki genin, DNA'nın bir segmentinde yerleşmiş oldukları, yahut bir başka ifade ile, birbirlerine bağlı oldukları ileri sürülebilir.

Konjugasyon ile transdüksiyonun bazı görünüşleri birbirine benzerdir. Meselâ her iki olayda da genetik materyel tek istikamette (vericiden alıcıya) nakledilir. Sonra krossingovere benzeyen bir olay vasıtasıyla verici segment alıcı kromosoma dahil olur. Nihayet değişiklik, alıcı bakterinin bölünmesini müteakip yeni neslin fenotipinde tezahür eder.

Transformasyon :

Bu olay yukarıda gördüğümüz iki olayın aksine sadece moleküler seviyede cereyan eder. Transformasyon bir genotipteki bakterilerin, farklı genotipte olan bakterilerden ekstraksiyonla elde edilmiş saf DNA'nın bir solüsyonuna maruz bırakılması ile meydana getirilir. DNA ekstresinin çıkarıldığı bakterilere verici, ona maruz bırakılan bakterilere de alıcı denir. Vericiden çıkarılan DNA'ya da değiştirici DNA ismi verilir. Değiştirici DNA alıcı bakteri tarafından alınır ve kendi genetik materyeline katılır. Böylece alıcı bakteriler, verici bakterilerin bazı genetik vasıflarına sahip olurlar.

Bu olayın bir misâlini pnömokoklar (*Diplococcus pneumoniae*) da görmekteyiz. Bu bakteriler iki tiptir. Bir tipin üzerinde bir kapsül vardır ve sathı düzgündür. Bunlara (S) tipi bakteriler denir. Diğer tip kapsülsüzdür ve sathı pürüzlüdür. Bunlara da (R) tipi bakteriler denir. S tipi virülenttir. Zatiürrie hastahgını yapar. S tipi pnömokoklar, üzerlerini örten kapsülün kimyasal yapısındaki farklılara dayanılarak tip II S, tip III S gibi tiplere ayrılır. Spesifik bir kapsül husule getirme kabiliyeti pnömokokların genotipinde mevcuttur ve nesiller boyunca devam ettirilir. S tipi bakteriler, nadiren mutasyonla R tipi bakterileri husule getirebilir veya aksi olabilir.

GRIFFITH (1928) farelerin deri altına az sayıda canlı R pnömokokları ile beraber çok sayıda, hararetle öldürülmüş III S tipi pnömokokları zerketti. Farelerin çoğu pnömöni (zatiürrie) ye tutulup öldüler. Bunlardan alınan kan nümunelerinde sadece canlı R bakterileri değil, aynı zamanda ve çok sayıda canlı S bakterileri de görüldü. Bu bakterilerin III S tipinde oldukları anlaşıldı. Bunlar mutasyonla meydana gelmiş olamazdı. Çünkü R bakterilerinin mutasyonu değişmez şekilde sadece tip II S bakterilerini meydana getirir. Burada, farelere zerkedilen canlı R bakterilerinden bir kısmının virulent, III S tipi bakterilere çevrildiği müşahede edilmiş, dolayısıyla bu olaya, ölü olarak verilen S bakterilerinden çıkan bir maddenin sebep olduğu anlaşılmıştır. GRIFFITH'in bu neticeleri daha sonra tüpte de tekrarlanmış ve aynı neticeler alınmıştır.

AVERI ve arkadaşları (1944), transformasyona sebep olan maddenin DNA olduğunu gösterdiler. Onların tecrübelerinde, III S tipi bakterilerden ekstraksiyonla elde edilmiş olan saf DNA'ya maruz bırakılan R bakterilerinden bazıları III S tipi bakterilere çevrildi. Halbuki R bakterileri, DNaz (dezoksiribonukleaz) enzimi ile muamele edilmek suretiyle terkibi bozulmuş olan DNA'ya maruz bırakıldıkları zaman onlarda hiç bir transformasyon meydana gelmedi. Bu gösteriyor ki transformasyonda rolü olan madde DNA dır.

Bakterilerde genetik materyelin naklini temin eden bu üç olay, yani konjügasyon, transdüksiyon ve transformasyon neticesinde rekombinant bakteriler meydana gelmektedir. Eşeyli üreyen nukleuslu organizmalarda gen rekombinasyonu krossingoverin bir neticesidir. Fakat görüyoruz ki rekombinasyon olayı sadece kromosom seviyesinin değil, aynı zamanda DNA molekülleri seviyesinin bir olayıdır.