

DEZOKSİRİBONUKLEİK ASİD (DNA) 'İN MOLEKÜLER YAPISI VE ONUN TRANSFORMASYONDAKİ ROLÜ

(MOLECULAR STRUCTURE OF DEOXYRIBONUCLEIC ACID (DNA)
AND ITS ROLE IN TRANSFORMATION)

Doç. Dr. Emine BİLGE

(İstanbul Üniversitesi, Farmakobotanik
ve Genetik Kürsüsü)

Eşemli üreme gösteren organizmalarda meiosis bölünmesinin profazında vukubulan krossingover olayı onlarda yeni gen kombinasyonlarının meydana gelmesini sağlar. Transformasyon ise bakterilerde yeni gen kombinasyonları husule getiren bir olaydır.

1928 de İngiliz bakteriyoloğu GRIFFITH, pnömokoklar (*Diplococcus pneumonia*) ile tecrübeler yaptı. Pnömokokların iki tipi vardır. Kapsüllü ve kapsülsüz olmak üzere. Kapsüllüler virulent, yani hastalık yapıcı, kapsülsüzler ise avirulent, yani hastalık yapmayan pnömokoklardır.

GRIFFITH, canlı farelerin deri altına hararetle öldürülmüş kapsüllü, yani virulent pnömokokları ve onlarla beraber canlı avirulent pnömokokları zerketti. Neticede fareler zatürrieye tutuldular ve öldüler. Farelerin kanlarından aldığı nünuneleri incelediği zaman canlı avirulent pnömokoklarla beraber canlı virulent olanları da gördü. Halbuki farelere, virulent yani kapsüllü pnömokoklar tamamen öldürülmüş olarak zerkedilmişti. Önce, kapsülsüz pnömokokların mutasyonla kapsüllülere çevrildiği düşünöldü. Fakat sonra olayın, mutasyonda beklenenden çok daha sık vaki olduğu göröldü ve şöyle izah edildi:

Hararet tesiri ile öldürölmüş olan pnömokoklardan çıkan bazı maddeler canlı, avirulent pnömokokları virulent olanlara çevirmektedir. Bu olaya transformasyon adı verilir. Daha sonra DAWSON ve SIA (1931) bu tip tecrübeleri tüpte yaptılar ve GRIFFITH'in neticelerini elde ettiler. Bununla beraber transformasyona sebep olan maddenin kimyasal teşhisi henüz yapılmış değildi.

Rokfeller enstitüsünde AVERY ve arkadaşları tarafından bu mevzu da yapılan ve 10 sene devam eden çalışmalar, bakterilerde transformasyonlara sebep olan maddenin dezoksiribonukleik asid (DNA) olduğunu

nihayet 1944 de meydana çıkardı. Bu maddenin canlı hücredeki umumî dağılışı ve mühim bir role sahip olacağı zaten biliniyordu.

Transformasyon ile bir bakteri ırkında genetik bakımdan bir değışme husule getirmek için ya farklı bir ırkın ölü hücreleri, veya o farklı ırktan ekstraksiyonla elde edilmiş ve saflaştırılmış DNA'nın solüsyonları kullanılır. Bu DNA'ya değıştirici DNA denir. DNA ekstresinin elde edildiği bakteriye verici, kendisinde değışmenin meydana getirildiği bakteriyeye de alıcı ismi verilir.

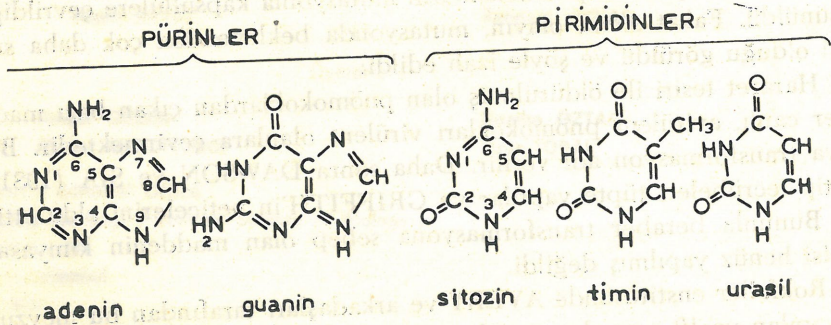
Bakterilerde genetik materyel transformasyondan gayri iki yolla daha bir bakteriden diğeri bir bakteriye nakledilir, yani yeni gen kombinasyonları kurulabilir. Bunlardan biri konjügasyon diğeri transdüksiyondur. Konjügasyonda genetik materyelin nakli, alıcı birey ile verici bireyin doğrudan doğruya temasına ihtiyaç gösterir. Bu olay ancak eşey-sel fark gösteren bakterilerde görülür. Transdüksiyonda genetik materyelin nakli bir bakteriyofag vasıtasıyla yapılır. Bakteriyofag, verici bakterinin genetik materyelinin bir kısmını alıcı bakteriye taşır.

Şimdi transformasyonda rol oynayan maddenin, yeni DNA'nın yapısını görelim:

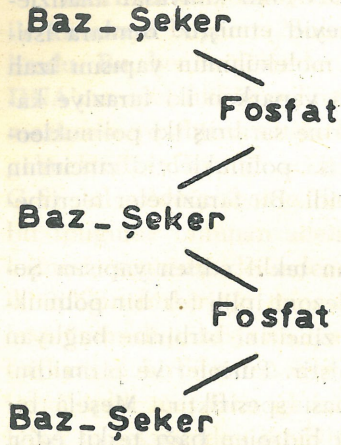
DNA molekülü bütün organizmalarda irsî materyelin ta kendisidir ve nukleotidlerin bir polimeridir. Her nukleotid üç temel kısımdan ibarettir.

1. Beş karbonlu bir şeker olan dezoksiriboz, 2. Pürin veya pirimidin bazı, 3. Fosfat kökü.

Bütün DNA nukleotidlerinde şeker ve fosfat aynıdır. Nukleotidlerdeki farklar bazların farklı olmasından ileri gelir. DNA'da sadece iki pürin bulunur. Adenin ve guanin. Pirimidinlerin çeşidi biraz daha fazla olmakla beraber daha ziyade timin ve sitozin bulunur (Şekil 1).



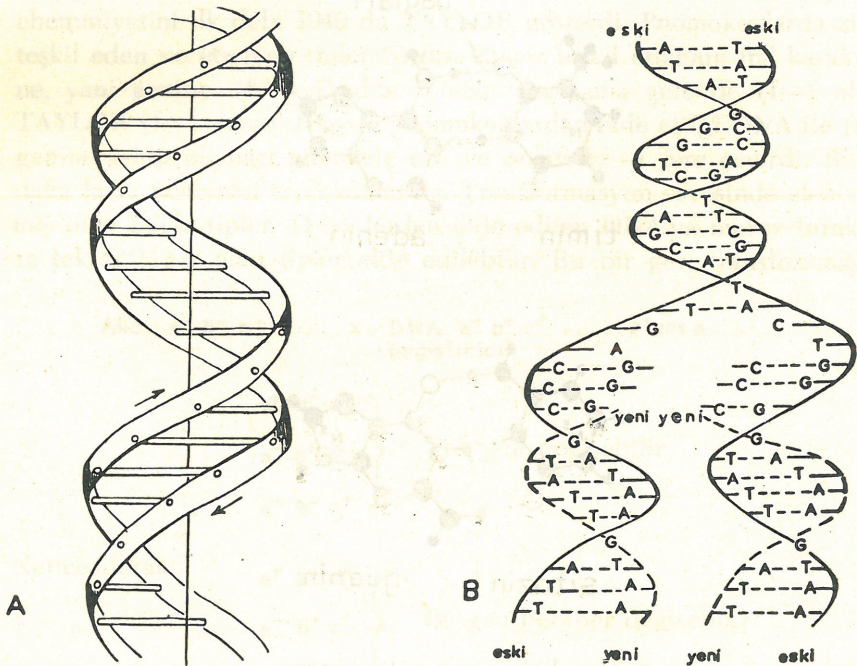
Şekil 1. — DNA'nın bazıları (LEVİNE'den).



Nukleotidler polimerize olurken şu şekilde bağlanırlar:

Bir nukleotidin şekeri diğer bir nukleotidin fosfat grubuna bağlanır ve böylece devam eder. Şekerler ve fosfatlar molekülün bel kemiğini teşkil ederken bazlar da bu esas kısımdan dışarı uzatılmış olarak bulunurlar.

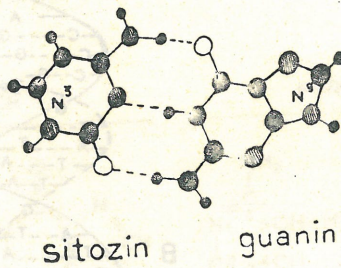
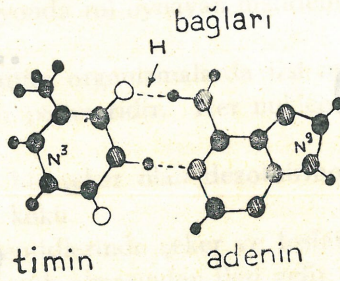
Hususi şekilde hazırlanmış preparatlarda DNA moleküllerinin röntgeni elde edilebilir. Bu türlü çalışmalar DNA'nın yapısının helezonî olduğunu ve



Şekil 2. — A. WATSON-CRİCK'e göre DNA'nın modeli. İki helezonî iplik arasındaki enine çizgiler hidrojen bağlarını gösteriyor. B. DNA'nın replikasyonu. (SUTON ve LEVİNE'den).

en az iki iplik ihtiva ettiğini meydana çıkardı. Böylece DNA molekülünde iki veya daha fazla polinukleotid zincirinin birbirinin etrafında helezon şeklinde sarıldığı anlaşıldı. DNA'nın kimyasal analizlerinden elde edilen veriler de bu neticeleri teyid etmiştir. Bunlara istinaden WATSON ve CRICK, 1953 de DNA molekülünün yapısını izah için bir model teklif ettiler. Onlar bu modeli yaparken iki faraziye kabul ettiler. Birincisi, DNA molekülünün birbirine sarılmış iki polinukleotid zincirinden ibaret olması; ikincisi de bu iki polinukleotid zincirinin çok spesifik bir tarzda birbirine bağlı olması idi. Bu faraziyeler tecrübelerden elde edilen delillere istinad ediyordu.

DNA'nın WATSON ve CRICK tarafından teklif edilen yapısını Şekil 2-A da şematik olarak görüyoruz. Her helezonî iplik tek bir polinukleotid zincirinden ibarettir. İki polinukleotid zincirini birbirine bağlayan hidrojen bağları da enine çizgilerle gösterilmiştir. Pürinler ve pirimidinler'n hidrojen vastasiyle birbirine bağlanması spesifikdir. Meselâ bir adenin nukleotidi bir timin nukleotidi ile iki hidrojen bağı teşkil eder.



- karbon
- oksijen
- azot
- hidrojen

Şekil 3. — Nukleotidlerin hidrojen bağları ile birbirine bağlanması (LEVİNE'den).

Bir guanin nukleotidi bir sitozin nukleotidi ile üç hidrojen bağı teşkil eder. Şekil 3 de görüldüğü gibi.

DNA ultraviyole ışıktaki 2600 Å de emme gösterir. Feulgen boyası ile kırmızıya boyanır. Molekül ağırlığının 10^7 olduğu fizikî ölçülerle bulundu. Bu, her molekülde 10000 nukleotidin mevcut olduğunu gösterir. DNA'nın spesifikliğı polimerdeki nukleotidlerin hususî bir sıra ile dizilmesinden ve ihtiva ettiği bazların hususî bir nisbette olmasından ileri gelmektedir. Daima, adeninin timine, guaninin sitozine oranı (A:T, G:S) 1:1 olduğu halde farklı organlarda AT:GS farklıdır. DNA'nın bir ipliğinde bulunan adeninin sadece diğer iplikteki bir timin ile birleşmesi, guaninin de sadece diğer iplikteki bir sitozin ile birleşmesi bu iki ipliğin birbirinin tamamlayıcısı olduğunu göstermektedir. DNA molekülünün duplikasyonu, yani çoğalması esnasında bu iki iplik bir uçtan başlayarak birbirinden ayrılır ve her biri kendisi için yeni bir tamamlayıcı iplik meydana getirir. Şekil 2-B de görüldüğü gibi. Böylece bir DNA molekülünden iki DNA molekülü hasil olur.

Şimdi tekrar transformasyon olayına dönelim. Bu olayın genetik önemiyetini ilk defa 1949 da TAYLOR gösterdi. Pnömokoklarda zincir teşkil eden ve etmiyen tipler vardır. Zincir teşkil etmenin irsî karakterine, yani genine (f+) diyelim. Zincir yapmama geni de (f-) olsun. TAYLOR (f-) genini taşıyan pnömokoklardan elde ettiği DNA ile (f+) genine sahip olanları muamele etti ve onları (f-) lere çevirdi. Bunlar daha fazla rastlanan diplokoklardır. Transformasyon sayesinde elde edilmiş olan böyle tipler, (f+) lerden elde edilen DNA'ya maruz bırakılırsa tekrar (f+) olan tipler elde edilebilir. Bu bir geri transformasyon-

Alıcı $a^- b^- c^- \dots \dots x$ DNA $a^+ b^+ c^+ \dots \dots$ olursa
(değiştirici)

$a^+ b^- c^-$ }
 $a^- b^+ c^-$ } Tek gen değişebilir
 $a^- b^- c^+$ }

Netice olarak

$a^+ b^- c^+$ }
 $a^- b^+ c^+$ } İki gen beraber değişebilir
 $a^+ b^+ c^-$ }
 $a^+ b^+ c^+$ } Nadiren üç gen beraber değişebilir

dur ve bize gösterir ki bir transformasyon başka bir transformasyon ile geri çevrilebilir.

Değiştirici DNA taşıdığı genler bakımından komplekstir ve farklı elementlere ayrılabilir. Meselâ a, b, c ... birbirinden müstakil olarak değişmeye kabiliyetli irsî karakterler olsun. + ve — de onların birbirinin yerine geçebilen iki şeklini gösterebilir.

Transformasyon olayı için alıcı bakteri ile tam bir DNA molekülü arasında müessir bir temas ihtiyacı vardır. Bununla beraber genlerin tek olarak transformasyona uğraması gösteriyor ki DNA'nın alıcı bakteriye dahil olması ve onun genetik materyeline katılması olayı onu parçalar. Bu parçalardan bazıları dışarda bırakılarak diğer bazıları alıcının genomuna katılır. O halde alıcının içinde bir parçalama ve bu parçaları seçme mekanizması çalışmaktadır.

Değiştirici DNA alıcı hücreye girdikten sonra onun DNA'sı ile homolog noktalar karşı karşıya gelecek şekilde eşleşir. Yani onlar bir sinapsis yaparlar ve neticede rekombinant bir molekül meydana gelir. Alıcı bakterinin bölünmesi ile meydana gelecek döl bu rekombinant DNA molekülüne, yani alıcının genomu ile beraber vericinin genomundan bir parçaya da sahip olacaktır. Vericinin DNA'sı yeni nesilde fenotipi değiştirmek suretiyle kendi mevcudiyetini belli edecektir. Yani bizzat alıcıda değil alıcının vereceği nesilde kendini belli edecektir.

Transformasyona engel olan faktörler:

Bunlar ya değiştirici DNA'nın faaliyetini azaltmak suretiyle çalışırlar veya DNA'nın alıcıya girmesini önlerler.

1. Bu faktörlerin başında dezoksiribonukleaz (DNaz) enzimi gelir. Bu enzim dezoksiribopolinukleotidlere spesifik bir enzimdir. DNA'yı depolimerize eder, yani onu tri-di-mono nukleotidlere ayırır ve bu suretle DNA'nın değiştirici faaliyetini tamamen ortadan kaldırır.

2. Radyasyonlar.

3. Yüksek hararet.

4. DNA molekülünün, iki ipliğini birbirinden ayırmaksızın, özel bir metotla kesilmesi.

5. DNA ile reaksiyona girerek hidrojen bağlarının kopmasına, deaminasyona veya oksidasyona sebep olan kimyasal âmiller.

6. Alıcının bazı özellikleri. Üzerinde fazla kıvamlı maddelerden veya müsilağdan ibaret bir kapsüle sahip olan bakterilere değiştirici DNA nüfuz edemez. Bundan başka ekstrasellüler DNaz salan bakteriler de ortamdaki DNA'yı yukarıda anlatılan şekilde bozarak transformasyona mani olurlar.

Bakteriler, çoğalma periyotlarının bir kısmı esnasında transformasyonların vuku bulması için daha müsait bir hâl alırlar. Çünkü bu safhada onlarda, DNA ve DNaz'ın da dahil olduğu büyük moleküllere karşı muvakkat bir permeabilite husule gelir, ve DNA ancak bu safhada bakteriye girebilir. Bu geçici devre esnasında alıcı bakteri ile değiştirici DNA molekülü arasında müessir bir temas fazla vakit almaz. Yapılan tecrübelerde 10 saniye gibi kısa bir zamanın, DNA'nın alıcıya girmesi için kâfi olduğu müşahede edildi. Halbuki bu muvakkat devrenin dışında aynı olay için 20-25 dakikalık bir zamana ihtiyaç vardır.

Acaba değiştirici DNA bakteri hücresi içine muayyen deliklerden mi girer yoksa onun hücreye nüfuzu enzimlerle katalize edilen bir olay mıdır? Bu hususta birbirinden farklı iki hipotez vardır. Bu hipotezlerden birine göre bakteri, büyüme ve bölünme olayları esnasında çıplak bir sathı kazanır. Bu çıplak bölgeler meselâ bölme duvarın teşekkül ettiği yerde olabilir. DNA ve diğer büyük moleküller böyle yerlerden bakteriye girerler. SPIZIZEN (1959) 'in görüşü budur.

İkinci hipotez bakteri sathında muvakkaten hasıl olan bazı bölgelerin özel enzimler husule getirerek değiştirici DNA'yı bağladıklarını kabul eder. Böyle yerlere reseptör denir. FOX ve HOTCHKISS (1957) büyük moleküllere permeabl olma safhasında her bakteride 60-70 reseptörün yani adsorpsiyon yerinin mevcut olduğunu hesapladılar. Böyle bölgelerin kaybolması ile bakterinin büyük moleküllere permeabilitesi de kaybolur.

Mutasyona ilâveten rekombinasyon da evolüsyonda ehemmiyetli bir olaydır. Eğer rekombinasyon olmasaydı evolüsyona ait bütün değişmeler sadece mutasyona dayanacaktı ve şimdikinden çok daha yavaş olacaktı. Fakat görüldüğü gibi rekombinasyon, en yükseğinden en aşağısına kadar bütün canlı formlarda yaygındır.

LITERATÜR

1. EVERY, O. T., MAC LEOD, C. M., and MAC CARTY, M., (1944): Studies on the chemical nature of the substance inducing transformation of pneumococcal types. I. Induction of transformation by a desoxyribonucleic acid fraction isolated from pneumococcus type III. — *J. Exptl. Med.* 79, 137-158.
2. DAWSON, M. H., and SIA, R. H., P., (1931): A technique for inducing transformation of pneumococcal types in vitro. — *J. Exptl. Med.* 54, 681-699.
3. FOX, M. S., and HOTCHKISS, R. D., (1957): Initiation of bacterial transformation. — *Nature* 179, 1322-1325.
4. GRIFFITH, F., (1928): Significance of pneumococcal types. — *J. Hyg.* 27, 113-159.
5. SPIZIZEN, J., (1959): Genetic activity of deoxyribonucleic acid in the reconstitution of biosynthetic pathways. — *Federation Proc.*, 18, 957-965.
6. TAYLOR, H. E., (1949): Transformations réciproques des formes R et ER chez le pneumocoque. — *Compt. rend. acad. sci.* 228, 1258-1259.
7. WATSON, J. D., and CRICK, F. H. C., (1953): A structure for deoxyribonucleic acids. — *Nature*, 171, 737-738.