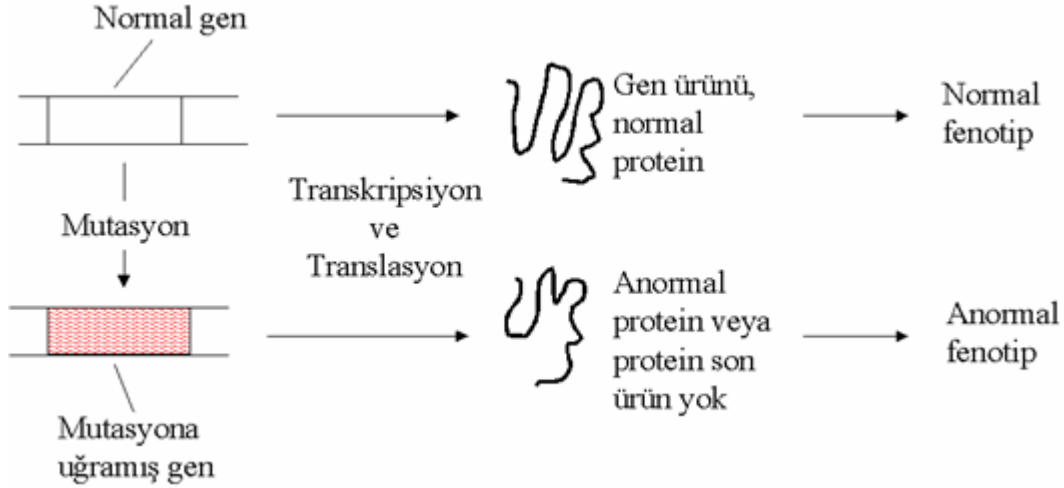


7 GEN MUTASYONLARI

Genetik materyalin, DNA replikasyon sürecinin mükemmel işleyişinden dolayı hücreden hücreye ve nesilden nesile değişmeden aktarıldığı önceki bölümlerde anlatılmıştı. Bu genellemeye rağmen genetik materyal bazı yollarla değişebilmektedir. Bu yollardan başlıcaları kendikendine değişme, replikasyon hataları, bazı kimyasallar ve radyasyondur. Geniş anlamda iki tip genetik materyal değişimi mümkündür: Bütün bir kromozomla ilgili değişimler (**kromozom mutasyonları** veya kromozom kusurları) ve bir veya birkaç baz çiftinin değişmesi. Bütün organizmalar baz çifti değişikliklerini tamir eden mekanizmalara sahiptirler. Fakat bütün baz çifti değişimleri her zaman tamir edilemeyebilmektedir. Tamir edilemeyen değişiklikler **baz çifti mutasyonları** olarak adlandırılır. Baz çifti mutasyonları bir organizmanın genomunun herhangi bir yerinde meydana gelebilir. Organizmaların genomlarının bütün bölgeleri genleri taşımadığından genlerde veya kontrol bölgelerinde meydana gelmedikçe baz çifti mutasyonları belli bir fenotipik değişikliğe neden olmaz. Dolayısıyla genetikçiler için önemli olan mutasyon, genleri etkileyen mutasyonlardır ve **gen mutasyonları** olarak adlandırılırlar. Bunun da ötesinde hücresel fonksiyon, proteinlerin bir sonucu olduğu için protein kodlayan genlerin ekspresyonunu etkileyen mutasyonlara daha fazla ilgi duyulmuştur (Şekil 7.1).



Şekil 7.1: Mutasyon kavramının şematik gösterimi.

7.1 Mutasyonların Tanımlanması

Mutasyon DNA baz çifti değişimi veya kromozomal değişimlerdir. **Baz dizisi** değişimleri baz çifti eklenmesi, silinmesi, baz çifti değişimi (AT→GC, AT→TA ...), bir grup baz çiftinin ters dönüşü ve bir baz çifti veya belli bir grup baz çiftinin yeni bir pozisyona transferini içerebilir. Çok hücreli organizmalarda mutasyon eğer somatik hücrelerde meydana geldiyse sadece ilgili bireyin ilgili hücrelerini ve dokusunu etkiler, yani yeni nesillere aktarılmaz. Bu tip mutasyonlar **somatik mutasyonlar** olarak adlandırılır. Eğer mutasyon eşeyli üreyen organizmaların germ (eşey) hücrelerinde meydana geldiyse gametler aracılığıyla yeni nesillere aktarılır. Bu tip mutasyonlar **germ hattı mutasyonları** (eşey

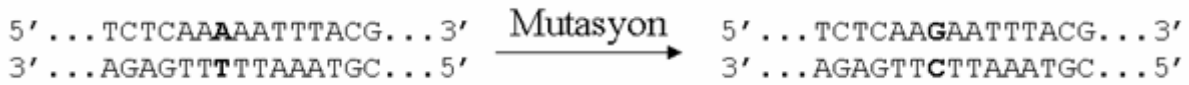
hücre mutasyonları) olarak adlandırılır. Somatik mutasyonlar, mutasyonun meydana geldiği bireyi etkileyirken germ hattı mutasyonları gelecek nesilleri etkiler. Eşeysiz üreyen çok hücreli organizmalarda somatik mutasyonlar yeni nesillere aktarılabilir. Prokaryotlarda ise vücut hücresi-eşey hücresi gibi bir ayırım olmadığından bütün mutasyonlar yeni hücrelere (yani nesillere) aktarılır.

Bir kromozomun organizasyonundaki bir değişiklik **kromozom mutasyonu** veya **kromozom kusuru** olarak adlandırılır. Bir gen dizisi içindeki mutasyon ise **gen mutasyonu** olarak adlandırılır. Gen mutasyonlarına baz çifti değişimi, bir veya daha fazla baz çiftinin eklenmesi veya silinmesi gibi DNA dizisindeki değişiklikler neden olur.

Mutasyonlar doğal olarak kendiliğinden meydana gelebilir. Mutajenler uygulanarak mutasyonların uyarılması da mümkündür. Bir **mutajen** kendiliğinden oluşan mutasyon oranının üzerinde bir mutasyon sıklığını oluşturan fiziksel ve kimyasal ajanlardır. Mutajenlerin uygulanmasıyla oluşan mutasyonlara **uyarılmış mutasyon** denir. Doğal olarak oluşan mutasyonlar da **kendiliğinden mutasyonlar** olarak adlandırılır. Uyarılmış ve kendiliğinden mutasyonlar arasında kesin bir sınır oluşturmak mümkün değildir. Bir polipeptitin dördüncül yapısı (fonksiyonel formu) birincil amino asit dizisi tarafından belirlenir (Birincil amino asit dizisi de bir gen tarafında kodlanır). Bir mutant suş tarafından sentezlenen bir polipeptit yabancı tip polipeptitten yapısal olarak farklı olabilir. Eğer farklı ise mutant polipeptit kısmen fonksiyonel olabilir, fonksiyonsuz olabilir veya hiç üretilmez.

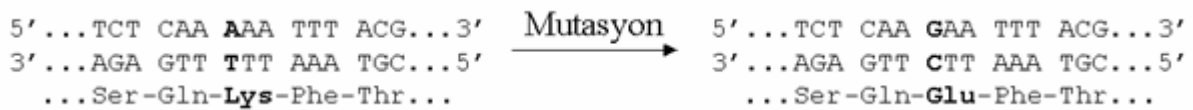
7.2 Gen Mutasyonu Tipleri

1. Baz çifti değişim mutasyonu (nokta mutasyon): Bir gendeki bir baz çiftinin diğer bir baz çiftine değişmesidir. Bütün olasılıklar mümkündür: AT→GC, AT→TA, GC→CG, GC→TA...



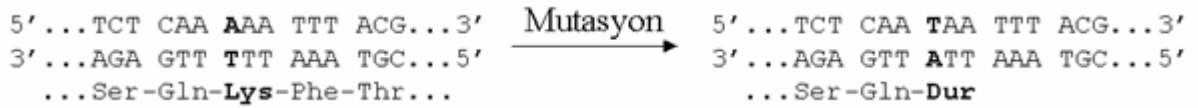
2. Proteinin amino asit dizisindeki etkisine göre mutasyonlar:

a) **Yanlış anlamlı (missense) mutasyonlar:** Bir baz çifti değişimi sonucu mRNA üzerinde farklı bir amino asiti kodlayan farklı bir kodon oluşumuna dolayısıyla fenotipik bir değişikliğe neden olan mutasyonlardır. İnsanlarda β -globin geninin 6. kodonundaki bir baz çifti değişimi orak hücre anemisine neden olmaktadır.

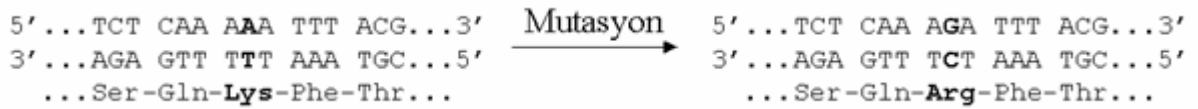


b) **Anlamsız (nonsense) mutasyonlar:** DNA üzerinde bir baz çifti değişimi sonucu mRNA'da normalde bir amino asiti kodlayan bir kodonun yerine bir sonlanma kodonunun (UAG, UAA, UGA) oluşmasıdır. Zincir içinde oluşan bu sonlanma kodonu

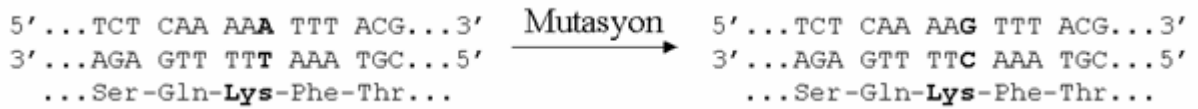
polipeptit zincirinin tamamlanmasını engeller ve fonksiyonsuz bir polipeptit oluşumuna neden olur.



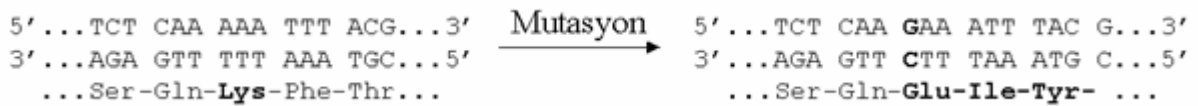
- c) **Nötral mutasyonlar:** DNA dizisindeki bir baz çifti değişimi sonucu oluşan yeni kodonun yabancı tip kodondan farklı bir amino asiti kodlamasına neden olan mutasyonlardır. Ancak yeni kodlanan amino asit ile yabancı tip amino asitin kimyasal ve yapısal özelliklerinin aynı olması nedeniyle, protein fonksiyonunda bir değişikliğe neden olmazlar. Sözelimi arjinin→lizin değişiminde her ikisi de bazik amino asitler olduğundan proteinin fonksiyonu değişmez.



- d) **Sessiz (silent) mutasyon:** DNA yapısında bir baz çifti değişir ve mRNA'da yeni bir kodon oluşur. Ancak yeni oluşan kodon ve yabancı tip kodon aynı amino asiti kodlar (dejenere kodonlar!). Dolayısıyla mutasyon protein yapısına aktarılmaz. AAA ve AAG lizini kodlar.



- e) **Satır kayma mutasyonu:** Bir genden bir veya daha fazla baz çiftinin silinmesi veya eklenmesi ile oluşan mutasyonlardır. Bu tip mutasyonlarda genellikle gen bölgesine daha önceki pozisyona sonlandırma kodonu eklenerek daha kısa proteinler üretilir. Yada normal pozisyondaki stop kodonu atlanarak daha uzun bir protein üretilir. Her iki durumda da protein genellikle fonksiyonsuz olmaktadır.



Eğer üç veya üçün katları kadar baz çifti çıkarılır veya eklenirse okuma satırı kaymaz ancak yapıya yeni amino asitler eklenir veya yapıdan çıkarılır.

Nokta mutasyonlar oluşturdukları fenotipe göre iki gruba ayrılırlar: İleri mutasyonlar ve ters mutasyonlar. **İleri mutasyonlar** yabancı tip fenotipi mutant fenotipe dönüştüren mutasyonlardır. **Ters mutasyonlar** ise mutant bir fenotipi yabancı tip fenotipe dönüştüren mutasyonlardır. Ters mutasyonda mutant amino asit yabancı tip

amino asite dönüştürülerek tam bir dönüş sağlanabilir. Bu olay **reversiyon** olarak adlandırılır. Ters mutasyonlarda yabancı tipe değil de diğer bir amino asite değişim ile kısmi bir reversiyon sağlanabilmektedir. Bir mutasyon başka bir gende meydana gelen diğer bir mutasyon sonucu yabancı tipe dönüştürülebilir. Bu tip genler (bir mutasyonu yabancı tipe dönüştüren genler) **baskılayıcı (represör) gen** adını alır.

7.3 Mutasyonların Nedenleri

Mutasyonlar kendiliğinden oluşabilir veya uyarılabilir. Kendiliğinden oluşan mutasyonlar hücrel süreçlerdeki hatalar sonucu veya güneşten gelen ultraviyole ışınları gibi çevresel nedenlerle oluşur. Uyarılmış mutasyon ise belli fiziksel ve kimyasal ajanların uygulanmasıyla oluşturulur.

7.3.1 Kendiliğinden (spontan) mutasyonlar

Organizmalarda kendiliğinden mutasyonlar oluşur. Bu mutasyonların nicel ölçüsü olarak iki kavram kullanılır: mutasyon oranı ve mutasyon sıklığı. **Mutasyon oranı** belli bir zaman biriminde belli bir mutasyonun oluşma olasılığıdır. Yani her bir nesilde mutasyon meydana gelen gen sayısı gibi. *Drosophila melanogaster*'de belirlenen kendiliğinden mutasyon oranı 10^{-4} ila 10^{-5} gen⁻¹ nesil⁻¹'dir. İnsanda bu oran 10^{-4} ila $4 \cdot 10^{-6}$ gen⁻¹ nesil⁻¹'dir. Bakterilerde ve bakteriyofajlarda mutasyon oranı 10^{-4} ila 10^{-7} gen⁻¹ nesil⁻¹'dir. **Mutasyon sıklığı** ise belli bir gen bakımından mutant bireylerin veya hücrelerin bütün populasyon içindeki sıklığıdır. 100 000 organizma içindeki mutant birey sayısı veya 1 000 000 gamet içindeki mutant gamet sıklığı gibi.

Kendiliğinden mutasyonun birçok nedeni olabilir. Bunlardan DNA replikasyon hataları, DNA içinde kendiliğinden kimyasal değişimler ve transpozibil (yer değiştirici) genetik elementlerin hareketi en önemli nedenlerdir.

Replikasyon hatalarının bir nedeni DNA yapısına katılan bazların nadir formlarının (totomerlerinin) alışılmadık eşleşme özellikleridir. Totomer C normal A ile totomer T normal G ile totomer A normal C ile ve totomer G normal T ile eşleşebilir. Bu yanlış eşleşmeler DNA polimerazlar tarafından düzeltilir, ancak düzeltilemeyenler bir nokta mutasyona neden olurlar. Replikasyon sırasında ayrıca kalıp zincirin kısa bir bölgeden halkasallaşmasıyla silinme (delesyon) ve yeni sentezlenen zincirin halkasallaşmasıyla da eklenme meydana gelir. Bu silinme ve eklenme sayısı üç baz veya katları değilse satır kayma mutasyonu oluşur. (Eklenme ve silinme de mutasyondur!).

DNA molekülünde kendiliğinden kimyasal değişimler de diğer bir önemli mutasyon nedenidir. Bunlardan ikisi deaminasyon ve depurinasyondur. **Deprunasyon** olayında A ve G (purin bazları) DNA yapısından uzaklaştırılır. Her bir DNA molekülünde binlerce kayıp oluşabilir. Eğer bu boşluklar tamir edilemezse replikasyon sırasında baz dizilişinde değişiklikler oluşacaktır. **Deaminasyon** ise bir bazdan bir NH₂ grubunun uzaklaştırılması işlemidir. C'in deaminasyonu sonucu U oluşur (dU, DNA yapısında urasil!). Eğer bu U yapıdan uzaklaştırılmazsa A ile eşleşir. Başlangıçta CG olan baz çifti bu olay sonucu TA baz çiftine dönüşür. Prokaryotik ve ökaryotik genomlardaki sitozinlerin küçük bir kısmı **5-metil sitozin (5^m C)** şeklindedir. Normalde 5^m C, G ile eşleşir. Ancak 5^m

C'in deaminasyonu sonucu T oluşur. T genomun normal bir bazı olduğu için tamir mekanizmalarınca değiştirilemez. Sonuç olarak başlangıçta CG olan baz dizisi TA şekline dönüşür. Genomun 5^m C bulunan bölgeleri daha yüksek oranda mutasyona maruz kalırlar. Bu 5^m C bölgelerine **mutasyonel sıcak benekler** denir.

7.3.2 Uyarılmış mutasyonların nedenleri

Kendiliğinden mutasyonların oranı çok düşük olduğundan genetikçiler belli bir gen bakımından mutant olan bireylerin sıklığını artırmak üzere mutajenler kullanırlar. Bunlardan en yaygın olanlarından ikisi radyasyon ve kimyasallardır.

Mutasyonları uyarmak üzere X ve u.v. ışınları kullanılır. **X ışınları** tarafından üretilen iyonize radyasyon moleküller arasındaki kimyasal bağları kopararak kromozom kırılmalarını, kromozom yeniden düzenlenmelerini ve nokta mutasyonları uyarır. **u.v. ışınları** iyonize değildir. Yine de DNA yapısında fotokimyasal değişikliklere bağlı olarak mutasyonlara neden olur. u.v. ışınlarının en önemli etkilerinden biri pirimidinler arasında anormal (kovalent) bağlar oluşturmalarıdır. Bu bağlar büyük çoğunlukla aynı zincir üzerinde peş peşe iki timin arasında oluşur ve bu yapı **timin dimerleri** olarak adlandırılır. Timin dimerleri genellikle tamir edilebilir. Tamir sırasında bazen mutasyonlar oluşabilmektedir.

Bir çok kimyasal, mutasyonları uyarır. Bunlardan en önemli üçü baz analogları, baz modifiye edici ajanlar ve aralayıcı ajanlardır (Tablo 7.1). **Baz analogları** için tipik örnek 5-bromurasil (5BU)'dir. 5BU timinin bir nadir formudur fakat A ile eşleşebildiği gibi G ile de eşleşebilir. Replikasyon sırasında 5BU:A çifti C:G çiftine dönüşebilmekte ve sonuçta bir nokta mutasyona neden olmaktadır. **Baz modifiye edici ajanlar** doğrudan DNA'daki bazı değiştirebilmektedir. Bu ajanlara tipik örnekler nitrik asit (HNO₃), hidroksilamin (NH₂OH) ve alkilleyici ajanlardır. Bu mutajenlerin etki mekanizmaları aşağıda gösterilmiştir (Tablo 7.1).

Aralayıcı ajanlar ise aynı zincirdeki iki baz arasına girerler. Replikasyon sırasında bu ajanlar nedeniyle bir baz eklenmesi veya eksilmesi gerçekleşir. Sonuçta da bir satır kaymasına neden olur. Aralama olayı kalıp zincirde olursa yeni zincire fazladan bir baz eklenir, yeni zincirde olursa bir baz silinir.

7.4 DNA Tamir Mekanizmaları

Kendiliğinden veya uyarılarak oluşan mutasyonlar hücrenin veya organizmanın DNA'sında hasara neden olur. Bu hasar özellikle yüksek doz mutajenler kullanıldığında oldukça fazla olabilmektedir. Prokaryotik ve ökaryotik hücreler DNA hasarı ile başa çıkmak için çok sayıda tamir sistemine sahiptir. Bunlardan bazıları DNA polimeraz kontrol okuma tamiri, fotoreaktivasyon veya ışık tamiri, koparma tamiri, yanlış eşleşme tamiri ve SOS tepkisidir. Bu tamir sistemlerinden bir veya birkaçı bir arada çalışarak meydana gelen hataları düzeltirler. Ancak nadir olarak bu tamir mekanizmalarından kaçabilen mutasyonlar yeni nesillere taşınırlar. Bu sistemlerden sadece SOS sistemi, kendisinin yürüttüğü tamir işlemi sırasında mutasyonlara neden olabilir. SOS sistemi eğer

hücrenin veya organizmanın DNA'sı ağır şekilde hasar gördüyse devreye girer. Böyle bir durumda yok olmaktansa mutasyona razı olmak gibi bir tercih yapılır.

Tablo 7.1: Mutasyonları uyaran bazı kimyasallar ve etki şekilleri.

Orijinal Baz	Mutajen	Modifiye Baz	Eşleştiği Baz	Tahmini Değişiklik
Guanin	Nitrik asit	Ksantin	Sitozin	-
Sitozin	Nitrik asit	Urasil	Adenin	CG→TA
Adenin	Nitrik asit	Hipoksantin	Sitozin	AT→GC
Sitozin	Hidroksilamin	Hidroksiyalaminositozin	Adenin	CG→TA
Guanin	Metilmetansulfonat (MMS)(alkilleyici ajan)	O6 Metilguanin	Timin	GC→AT
Timin	MMS	O6 Metiltimin	Guanin	TA→CG

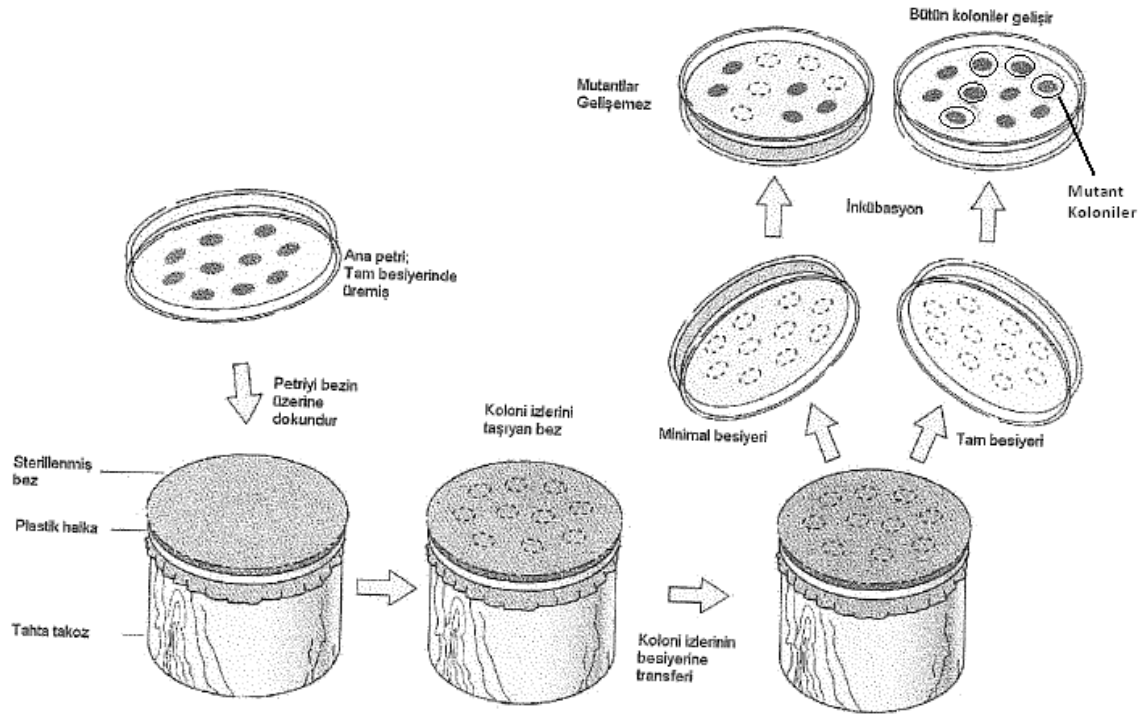
7.5 Mutasyonların İzolasyonunda Görüntüleme Yöntemleri

Görülebilir mutasyonlar organizmanın fiziksel görünüşünü ve morfolojisini etkiler. Göz rengi, kanat şekli, koloni büyüklüğü ile ilgili mutasyonlar doğrudan gözlenebilir. Bir mutasyon sonucu eğer mutant hücreler bir avantaj kazanırsa (antibiyotik direnci gibi) bu avantaj kullanılarak izole edilebilirler. Fakat bütün mutasyonlar doğrudan gözlemlenebilir olmayabilir ve avantaj da sağlamayabilir.

7.5.1 Besin mutantları

Organizmaların gelişmesi için esasi olan bir besinin sözelimi bir amino asitin sentezini etkileyen mutasyonlara **oksotrof mutasyon** veya **besin mutasyonu**, ilgili organizmaya da **besin mutantı** veya **oksotrof** denir. Oksotrof mutasyonlar ilgili organizmaya özel bir fiziksel farklılık veya avantaj sağlamaz aksine dezavantajlı bir durum oluşur. Dolayısıyla bunların izolasyonu için özel yöntemler gerekir.

Besin mutantlarının izolasyonunda kullanılan yöntemlerden biri **replika ekim yöntemi** olarak adlandırılır. Sözelimi arjinin amino asitini sentezleyemeyen bir mutant bakteri arjinin bulunmayan bir ortamda gelişemeyecektir. Ortama arjinin konulduğunda ise hem yabani tipler hem de mutantlar gelişecektir. Dolayısıyla mutantı doğrudan izole etmek mümkün olmayacaktır. Replika ekim yönteminde ilgili besinin de bulunduğu bir besiyerine mutantların da bulunduğu düşünülen bakteri popülasyonu ekilir. Bu besiyerinde mutant ve yabani tiplerin her ikisi de gelişir (Şekil 7.2). Bu ana petrideki kolonilerin konumları değiştirilmeksizin iki besiyerine her koloniden ekim yapılır. Bu besiyerlerinden biri ilgili besini içeren tam besiyeri, diğeri de ilgili besini içermeyen minimal besiyeridir. Mutantlar tam besiyerinde üreyecek, minimal besiyerinde üremeyecektir. Minimal besiyerinde konumu boş olan koloni veya koloniler tam besiyerinde belirlenir ve mutant olarak izole edilir.



Şekil 7.2: Replika ekim yöntemi ile oksotrof mutantların izolasyonu.

7.5.2 Şartlı mutasyonlar

Bazı gen ürünleri, sözgelimi DNA polimeraz ve RNA polimeraz, hücreler için esasi olan süreçleri yürüttüklerinden (DNA ve RNA besin ortamından alınamaz!) mutasyonla aktiviteleri sıfırlandığında hücre hayatta kalamaz. Bu tip mutasyonlara **letal mutasyonlar** veya **öldürücü mutasyonlar** denir. Bu tip genler için ancak şartlı mutasyonlar elde edilebilir. **Şartlı mutantlar** belli bir şartta normal fenotipi gösterirken diğer bir şartta öldürücü fenotipi gösterir. Şartlı mutasyonlar ilgili genin yapısında meydana gelen nokta mutasyon sonucu bu genin kodladığı polipeptitin amino asit dizisinde meydana gelen bir amino asit farklılığından kaynaklanır. Bu amino asit değişimi, belli bir şartta proteinin fonksiyonel forma dönüşünü engellerken diğer şartlarda fonksiyonel forma dönüşü sağlayabilir. Dolayısıyla organizma bir şartta normal fenotipi, diğer şartta öldürücü fenotipi gösterir. Bu tip mutantlara tipik olarak **sıcaklık duyarlı mutanlar** örnek verilebilir. Böyle bir sıcaklık duyarlı mutant hücrede sözgelimi 28°C'de protein fonksiyonel forma dönüşür, organizma normal fenotipi gösterir, 30°C'nin üzerinde ise protein fonksiyonel forma dönüşemediği için ölür. Bu gen bakımından yabancı tip olan hücreler ise hem 30°C'de ve hem de 28°C'de yabancı tip fenotipi gösterir, hayatta kalır.