

**SAĞLIK HİZMETLERİ MESLEK
YÜKSEKOKULU**

PATOLOJİ LABORATUVAR TEKNİKLERİ

PLT214-MOLEKÜLER PATOLOJİ TEKNİKLERİ

Öğr. Gör. Nüket ÇALIŞKAN
nuket.caliskan@omu.edu.tr

Mutasyonlar ve Mutajenler

PLT214-MOLEKÜLER PATOLOJİ TEKNİKLERİ

Hafta 12



Mutasyon:

Genomik yapıda (Kromozom, DNA ya da RNA) meydana gelen değişikliklerin tümüne mutasyon denir

- ✓ Bu değişiklik gamet hücrelerinde ya da somatik hücrelerde olabilir.
- ✓ Gamet hücrelerindeki, sonraki nesillere aktarıldığı için, somatik hücrelerdeki, kansere neden olabildiği için önemlidir.

2

Mutasyon

- Mutasyon bir ya da daha fazla karakterdeki değişimle kendini gösterir.
- Böyle bir değişikliğin ürünü **mutant** olarak adlandırılır.
- Mutant terimi bir gen, bir hücre veya bir birey için kullanılabilir.

Mutasyon

- Mutasyonlar fenotipte değişikliğe yol açabilir ya da açmayabilir.
- Organizmanın karakteristiklerini değiştirme derecesi, mutasyonun nerde olduğuna ve mutasyonun geni ne denli değiştirdiğinin derecesine bağlıdır.
- Mutasyonlar somatik hücrelerde ya da eşey hücrelerinde olabilir.
 - Eşey hücrelerinde olanlar kalıtlı ve bu sebeple, genetik çeşitlilik ve evrimin de temelini oluşturur.

Mutasyonlar

Mutasyon kapsamına giren değişimler iki grup altında toplanabilir:

1. Mikroskopik (makro mutasyonlar): -2000 kb ve daha büyük

- ✓ Kromozom Sayı Değişimleri (Genom Mutasyonları)
- ✓ Kromozom Yapı Değişimleri (Kromozom Mutasyonları)

2. Submikroskopik (mikro mutasyonlar)

- ✓ **Nokta mutasyonları**
 - ✓ Transisyon
 - ✓ Transversiyon
 - ✓ Silent (Sessiz) mutasyon
 - ✓ Missense (Kayıp) Mutasyon
 - ✓ Nonsense (Anlamsız) Mutasyon
- ✓ **Frame-Shift (çerçeve kayması)**
 - ✓ İnsersiyon
 - ✓ Delesyon

1. Mikroskopik (makro mutasyonlar)

- Işık ya da elektron mikroskoplarla kolaylıkla ve kromozom düzeyinde saptanabilen: total kromozom, kromozom kolu, bant, subbant düzeyinde DNA bölgesini ilgilendiren 2000 kb büyüklüğündeki mutasyonlara denir (Makromutasyonlar).
- Bu tip mutasyonlar kromozomların sayısını veya kromozomlardaki geniş bölgeleri ilgilendiren büyük değişimlerdir.
- Bu tür değişimlerle genlerin ya sayısı ya da yerleşim düzenleri değişir bunun sonucunda da bireyin fenotipinde kalıcı değişimler ortaya çıkar.

a- Kromozom Sayı Değişimleri (Genom Mutasyonları)

Poliploidi

- ✓ Kromozom takımları sayısında tam katlar halinde artma \ Haploid yapının katları şeklindeki kromozom artışları

- Monoploidi : n sayıda kromozom, insanda bu değer 23 tür
 - Diploidi : 2n
 - Triploidi : 3n
 - Tetraploidi : 4n
 - Pentaploidi : 5n (insanda 115 kromozom durumu)

a- Kromozom Sayı Değişimleri (Genom Mutasyonları)

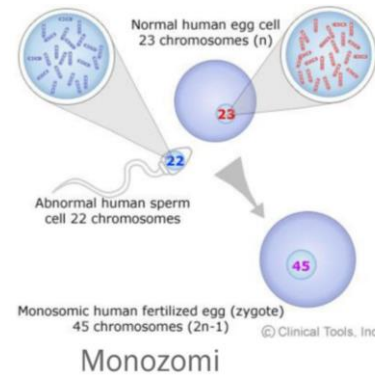
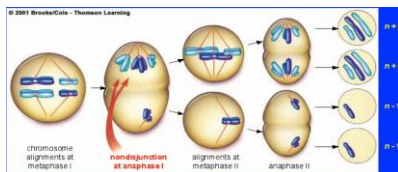
Aneuploidi: Haploid yapının katları şeklinde olmayan kromozom artışları (**trizomi**, 2n+1) yada azalışları (**monozomi**, 2n-1).

- Non-disjunction (Kromozomların ayrılamamaları) nedeniyle ortaya çıkar

Örneğin: Down sendromu 47,XX+21 - **trizomi**
 Klinefelter sendromu 47,XXY - **trizomi**
 Trizomi 13 sendromu 47,XX+13- **trizomi**
 Turner sendromu 45,X - **monozomi**

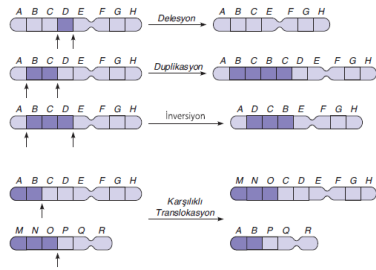
Non-disjunction (ayrılmama) olayı!

- Anormal gametlerin döllenmesi sonucu oluşan zigot, söz konusu kromozomun ya üç kopyasını taşır (**trizomi**), ya da bir kopyasını taşır (**monozomi**).



1. Kromozom Yapı veya Sayısını Değiştiren Mutasyonlar

b- Kromozom Yapı Değişimleri (Kromozom Mutasyonları)



b- Kromozom Yapı Değişimleri (Kromozom Mutasyonları)

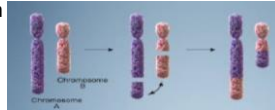
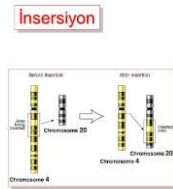
Delesyon: Bir kromozom segmentinin kaybıdır.

Duplikasyon: Bir kromozom segmentinin tekrarlamasıdır.



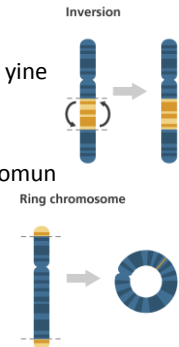
b- Kromozom Yapı Değişimleri (Kromozom Mutasyonları)

- İnversiyon:** Herhangi bir kromozomun farklı bölgelerine başka bir kromozoma ait bant ya da subbant düzeyinde bir kısmının katılmasıdır.
- Translokasyon:** Bir kromozomdan kopan parçanın, aynı kromozomun başka bölgesine veya başka bir kromozoma yapışmasıdır.



b- Kromozom Yapı Değişimleri (Kromozom Mutasyonları)

- Inversion:** Bir kromozoma kendi eksenini çevresinde 180° dönerek yine eski yerine yapışmasıdır.
- Halka (ring) kromozom:** Kromozomun bir kısmının kırılıp, bir çember oluşturmasıdır.



2. Submikroskopik (mikro mutasyonlar)

- Bir tek baz ya da mikroskop düzeyinde değerlendirilmeyecek kadar küçük bant ya da subbant düzeyinde olamayan mutasyonlar
- Mikroskopla varlığı saptanamayan, bir tek baz (A;G;C ya da T olabilir) ya da 200 kb büyüklüğünde olan mutasyonlara denir (Mikromutasyonlar ya da nokta mutasyonlar).

2. Submikroskopik (mikro mutasyonlar)

- Genin yapısındaki değişimle taşıdığı şifre değişeceği için o gene özgü ürün de değişime uğrar
 - Bu değişim bazen fenotipte gözlenmeyecek kadar önemsiz olabilir.
 - Bazen protein biraz değişebilir
 - Ya da genin fonksiyonu mutasyonla tamamen kaybolabilir

Nokta mutasyonları

Transisyon:

Bir pirimidin başka bir pirimidinle yer değiştirir

C → T

Bir pürin başka bir pürinle yer değiştirir

A → G

Primidin (C,T,U) → Primidin
Pürin (A,G) → Pürin

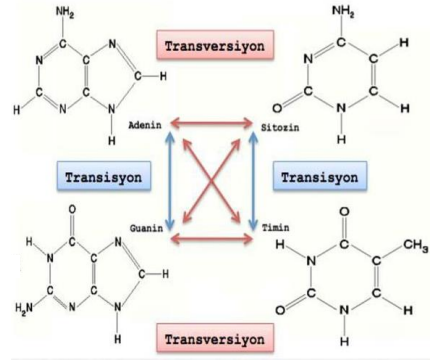
Transversiyon:

• Pürinler ve pirimidinler birbirleriyle yer değiştirirler:

A → C

G → T

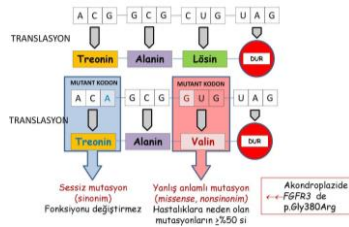
Primidin → Pürin
Pürin → Primidin



Nokta mutasyonları

Silent (Sessiz) mutasyon: DNA üçlü (triplet) kodonunda bir nokta mutasyona rağmen kodondan sentezlenen amino asit değişmez.

TTA → TTG
lösin lösin



- ✓ Bir kodonun üçüncü bazının değişmesi genellikle kodlanan amino asit değişikliği yapmaz.

- ✓ Fenotipi etkilenmez.

Nokta mutasyonları

Missense (Kayıp) Mutasyon: DNA üçlü (triplet) kodonunda bir nokta mutasyon sonrasında kodondan sentezlenen aminoasit değişir.

❖ Fenotip değişir.

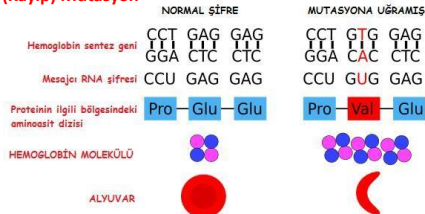
GCA → GAA
alanin glutamik asit

- ❖ Yeni yerleşen amino asit: orijinal aminoasitle kimya olarak benzer ve Protein fonksiyonunu etkilemez ise Nötr Missense mutasyon denir.

- ❖ Aa değişir fakat kimyasal özellikleri benzer kalır. Hidrofobik aa hidrofobik aa'e ya da asidik aa asidik aa'e değişir.

Nokta mutasyonları

Missense (Kayıp) Mutasyon



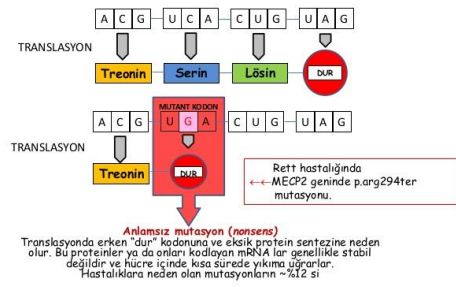
- ❖ Tek bir aa değişimi bu aa ancak proteininin üç boyutlu yapısının oluşumunda etkili bir pozisyonda bulunduğu zaman önem taşır.
- ❖ Mutasyon yeni bir aa değişimine neden olur. Bu yeni aa eski aa'ten farklı özelliklere sahiptir.
- ❖ Proteinin yeni primer yapısı aktiviteyi ya düşürür ya da tamamen ortadan kaldırır.

Nokta mutasyonları

Nonsense (Anlamsız) Mutasyon: Üçlü (triplet) kodonda meydana gelen bir nokta mutasyon sonrasında kodon STOP kodon oluşturur.

TTA → TGA
alanin STOP

- ❖ Bir anlamsız kodon (bitim kodonu) (UAG, UAA, UGA) meydana geldiğinde ise mutasyonun meydana geldiği noktadan itibaren protein sentezi durur.
- ❖ Etkisini fenotipte çıkarma olasılığı oldukça yüksektir.



Nokta mutasyonları

	Mutasyon yok	Nokta Mutasyonlar			
		Sessiz	Anlamsız	Hatalı	
				Konservatif	Non-Konservatif
DNA level	TTC	TTT	ATC	TCC	TGC
mRNA level	AAG	AAA	UAG	AGG	ACG
protein level	Lys	Lys	STOP	Arg	Thr

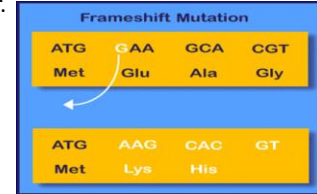
Frame-Shift (çerçeve kayması) Mutasyonlar

- Mutasyonlar bazen bir genin open reading frame (açık okuma çerçevesi)'inin değişmesine neden olabilirler: bunlara "Frame-shift mutasyonlar" denir.
- Genin ürününü belirleyen sınırlar (okunma çerçevesi) içinde kodonların kayması ve bunun sonucunda da genin ürününe ait bilginin değişmesi.
- Küçük delesyon veya insersiyon lar: frameshift mutasyonlara (Çerçeve kayma mutasyonlar) neden olurlar.

Frame-Shift (çerçeve kayması) Mutasyonlar

Bir baz çiftinin aradan çıkması (delesyon):

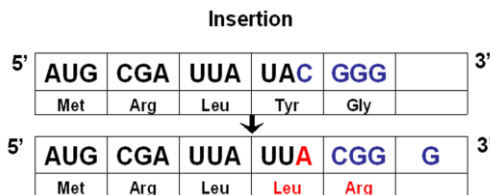
- Genin bir bazlık parçasının kaybolması o noktadan itibaren tüm kodonların değişmesidir.



Frame-Shift (çerçeve kayması) Mutasyonlar

Yeni bir baz çiftinin yapıya girmesi (insersiyon):

- Gene tek bir baz çifti eklenmesi sonucu o noktadan itibaren tüm kodonların



Frame-Shift (çerçeve kayması) Mutasyonlar

- Mutasyonun meydana geldiği noktadan itibaren gendeki tüm okunma çerçevesi değişeceği için genin ürünündeki değişiklik çok fazla olacaktır.
- Genin ürünü olan polipeptidde çok sayıda amino asitlerin dizisinin değişmesi genellikle protein molekülünün yapı ve işlevinin tamamen değişmesine neden olur.
- Çerçeve kayması mutasyonlarının fenotipte ortaya çıkma şansı baz çifti değişimlerinden çok yüksek daha yüksektir.**

Mutasyonların Nedenleri

Spontan mutasyonlar: Spontaneous mutations:

- Biyolojik süreçlerde hücre içinde anormalliklerin sonucundan oluşan mutasyonlar.

Yapay mutasyonlar: Induced mutations

- Mutajen adı verilen kimyasal veya fiziksel etkenlerle meydana gelen mutasyonlardır.
- Çevresel faktörler (Hücre dışındaki) bu mutasyonlara neden olur
- Kimyasal maddeler ya da fiziksel faktörler (mutagenler) hücrelerin DNA yapısını değiştirir

MUTAJENLER

- Biyolojide canlı organizmaların DNA yada RNA gibi hücresel bilgi ve yönetim zincirlerinin moleküler yapısını değiştirerek söz konusu organizmanın doğal olarak beklenen seviyenin çok üzerinde mutasyona uğramasına sebep olan fiziksel veya kimyasal etmenlerdir.

I- Fiziksel Mutajenler

- Genellikle, baz çifti değişimlerine yol açarlar

- a- Isı
- b- pH
- c- Işınlr

1-iyonize ışınlr (X ve gamma)

- ✓ X ve γ ışınlr gibi iyonlaştırıcı ışınlr kuvvetli fiziksel mutajenlerdir. Çoğunlukla büyük bazen de nokta mutasyonlar meydana getirirler.
- ✓ X ışınlrınması kromozomları koparan, deoksiribozları oksitleyen bazlarda deaminasyon ve dehidrosilasyona neden olan peroksitler meydana getiren kuvvetli mutajenlerdir.

2-Non-iyonize (UV, 260 nm dalga boyu ışınlr)

3-Mor ötesi ışınlr

II-Kimyasal Mutajenler

a- Baz Analogları (5-Bromodeoksiridin-BrdU, 6-thioguanin, 2-aminopürinler en yaygınları)

b- Deaminasyon yapan ajanlar: DNA yapısında amino gruplarının kaybına neden olan ajanlar (Nitroz asidi, hidroksil aminler)

c- Alkileyici ajanlar: DNA yapısına alkil grubu takan ajanlar (Kükürt, Nitrojen mustard, Etilenoksitler)

d- İnterkalasyon yapan ajanlar: Acridinlerin hepsi bu özelliktedir (Proflavin, acriflavin ve acridin orange)

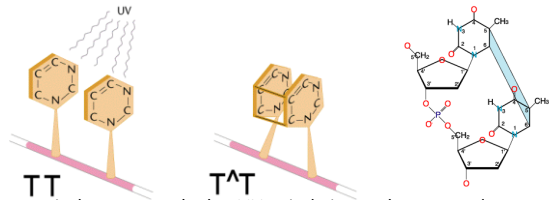
e- Demetilasyon yapan ajanlar: DNA'nın hipo yada demetilasyonuna neden olan ajanlar (5-azacytidine, Saza-2-deoxycytidine)

f- Çeşitli insersiyonlara neden olan ajanlar (Bu grup ajanlar DNA replikasyonu esnasında-süresince pürin ve pirimidin bazları yerine DNA yapısına katılan çoğunlukla frame-shift mutasyonlara neden olan ajanlardır.(ethidium bromide-EtBr).

Spontan Mutasyonlar

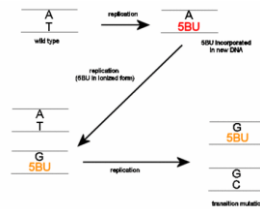
•Spontan mutasyonların nedenleri:

- ✓ Crossing-over anormallikler
- ✓ Mayoz sırasında kromozomların hatalı dağılımı
- ✓ Replikasyon sırasında oluşan hatalar
- ✓ Normal metabolik süreçlerin kimyasal ürünlerden dolayı DNA Değişimi
- ✓ Transpozon unsurlarının etkileri
- ✓ Nükleotid yapısında değişiklikler

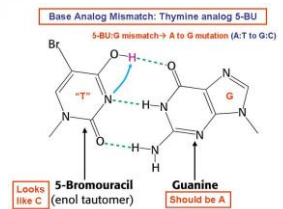
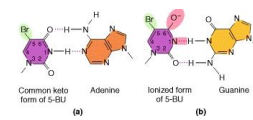


• Daha az enerjili olan UV ışık da kuvvetli mutajendir. Kromozomlarda kopmalara ve bazlar üzerinde kimyasal değişime neden olur.

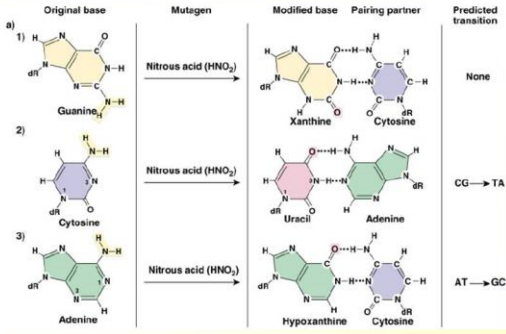
- Timinlerin 5. ve 6. C atomları arasındaki bağlardan ortaya çıkan bir siklobutan halkası timin timerini oluşturur. Bunun sonucunda
 - DNA molekülünde bükülmeler, şekil bozuklukları.
 - Birbirine bağlı bazların eşleşme yapamaması
 - DNA replikasyonunda hatalar; DNA polimerazın replikasyonu durdurması



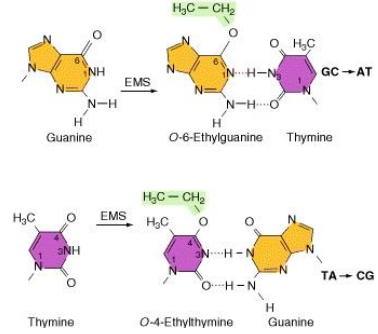
Baz Analogları



Deaminasyon yapan ajanlar

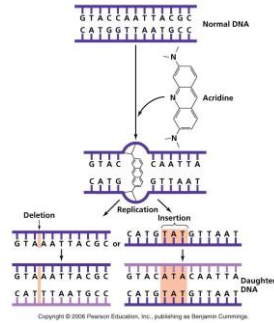


Alkilleyici ajanlar:



- Bu mutagenler DNA'daki pürin veya pirimidin bazlarına bağlanabilen birkaç halka (polisiklik) yapısı içerirler bu şekilde bazların birbirine bağlanarak kümeler oluşturmasına neden olurlar.
- Bunun sonucunda DNA replikasyonu sırasında kalıpta ya da uzayan DNA zincirinde dışarı doğru ilmek oluşur.
- Sonuçta, çerçeve kayması tipinde mutasyonlara yol açacak delesyon ya da adisyonlar meydana gelebilir.

Çeşitli insersiyonlara neden olan ajanlar



- Etklenme:** Örneğin, replikasyon sırasında DNA polimerazın araya girmiş molekülün karşısına fazladan nükleotid sokması.
- Kaybolma:** Araya girmiş molekülün varlığıyla kalıpta meydana gelen bir bükülmenin, polimerazın bir nükleotidi atlayarak geçmesine neden olmasındır.