

Bakterilerde Genetik Madde Aktarımı

Bakteriler arasında genetik materyalin (DNA segmentinin kısa veya uzun bir kısmı veya tümü) bir **vericiden (donör)** başka bir **alıcıya (resipient)** transferi, in vivo veya in vitro olarak kolayca gerçekleşebilmektedir.

Aktarılan genler, eğer bakteriler birbirlerine genetik olarak çok yakınsalar veya DNA sekansları arasında büyük bir homoloji varsa, alıcının kromozomu ile kolayca birleşebilmektedirler. Eğer, homoloji çok azsa veya ayrı cinslere ait türler ise bu birleşme çok daha az oranda olabilmektedir.

- Bakteriler arasında doğal gen transferleri başlıca 3 mekanizma ile gerçekleşmektedir.

-
- - 1)Transformasyon**
 - 2)Konjugasyon**
 - 3)Transdüksiyon**

Transformasyon

- Bir mikroorganizma, kendisine DNA komponenti yönünden çok yakın olan diğer bir mikroorganizmaya ait genetik materyal içeren bir ortamda üretildiğinde, belli bir süre sonra, bu sıvı ortamdan katı besiyerine ekimler yapılırsa, bazı kolonilerin değişik morfolojide olduğu ve bunların genetik materyali veren ölü organizmanın orjinal kolonilerine benzediği görülür.

Transformasyon

- *In vitro Transformasyon*
- *Streptococcus pneumonia* II-R suşu, kendisini oluşturan II-S suşundan ekstrakte edilen DNA materyalini içeren uygun bir sıvı ortamda ve uygun bir süre temasa bırakıldıktan sonra, katı besiyerine yapılan ekimlerde bazı kolonilerin S karakterinde olduğu görülür.

Transformasyon

- II-S suşu öldürülmüş ve elde edilen DNA ekstraktları ortama katılmıştır.
- Canlı olan II-R suşu ortamda bulunan II-S suşuna ait bazı genetik materyalleri almış ve bu elementlerde taşınan karakterler yönünden pozitif hale gelmiştir.
- II-S haline dönüşmüştür

Transformasyon

- In vivo

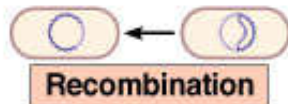
Farelere virü lent ve kapsüllü *S. pneumonia* II-S suşundan mutasyonla elde edilen II-R suşu (avirulent ve kapsülsüz) verilir.

Daha sonra ısı ile öldürülmüş II-S suşu (enfeksiyon yeteneği bulunmaz) farelere enjekte edilir.

II- R suşu II-S'lere ait genetik materyalleri alır ve II-S karakterine dönüşür, fareleri öldürür.

Deneme sonunda ölen farelerden katı besiyerine yapılan ekimlerde üreyen koloniler arasında, bazıları II-S karakterindedir (kapsüllü ve virulent).

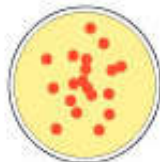
Transformasyon



- 1** Living encapsulated bacteria injected into mouse

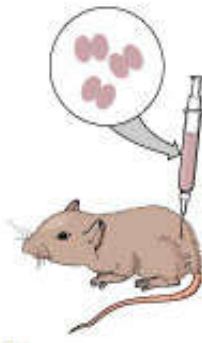


- 2** Mouse died

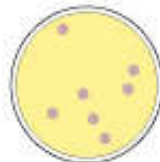


- 3** Colonies of encapsulated bacteria were isolated from dead mouse

- 1** Living nonencapsulated bacteria injected into mouse



- 2** Mouse remained healthy

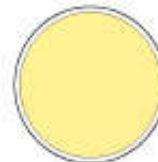


- 3** A few colonies of nonencapsulated bacteria were isolated from mouse; phagocytes destroyed nonencapsulated bacteria

- 1** Heat-killed encapsulated bacteria injected into mouse



- 2** Mouse remained healthy

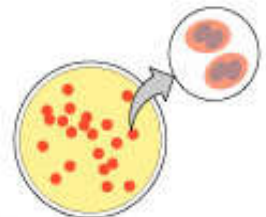


- 3** No colonies were isolated from mouse

- 1** Living nonencapsulated and heat-killed encapsulated bacteria injected into mouse



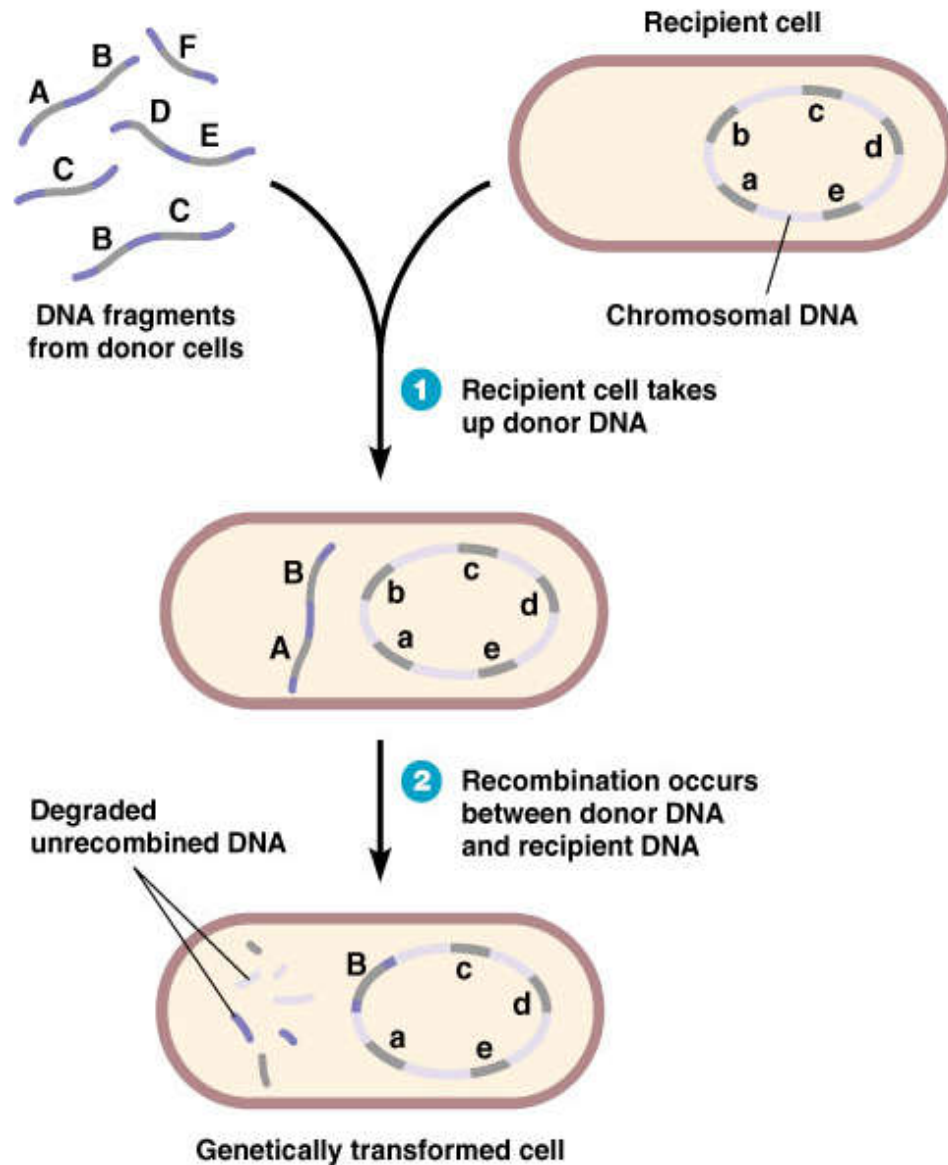
- 2** Mouse died



- 3** Colonies of encapsulated bacteria were isolated from dead mouse

Verici hücre DNA parçacıkları alıcı hücre kromozomu ile birleşir. Verici hücre karakterleri yönünden alıcı hücre pozitif hale gelir. Her iki hücrenin antijenik yakınlığının çok fazla olması gen alışını kolaylaştırır.

Transformasyon



Transformasyon

- Bir DNA segmentinin diğer bir bakteri genomu ile birleşebilmesi için her ikisinin de baz sıralarının homolog olması gerekir. Verici hücre DNA segmenti keline homolog olan alıcı hücre DNA'sının özel bölgesi ile ilişki kurar ve buradan birleşirler (integrasyon)
- Genomun bir parçası halini alır.
- Replikasyon
- Bölünme sırasında bir kopyası kardeş hücreye aktarılır.

- Transformasyonla, laktoz ve galaktoz pozitif genler, antibakteriyel maddelere dirençlilik, virulens aktarılabilmektedir. Bu faktörler alıcının DNA'sı ile birleşir ve transkripte olarak mRNA'ya aktarılır. Transle edilerek, hücrede yeni karakterlerin ortaya çıkmasına neden olur.

Transformasyon

- Alıcı hücrenin **kompetent** olması, DNA parçasını alabilecek kabiliyete (permeabilite) sahip olması gerekmektedir.
- Alıcı hücre yüzeyinde reseptörler vardır.

Kapsüllü bakterilerde adsorpsiyon ve içeri giriş zordur.

Genetik materyalin içeriye girmesine penetrasyon denir.

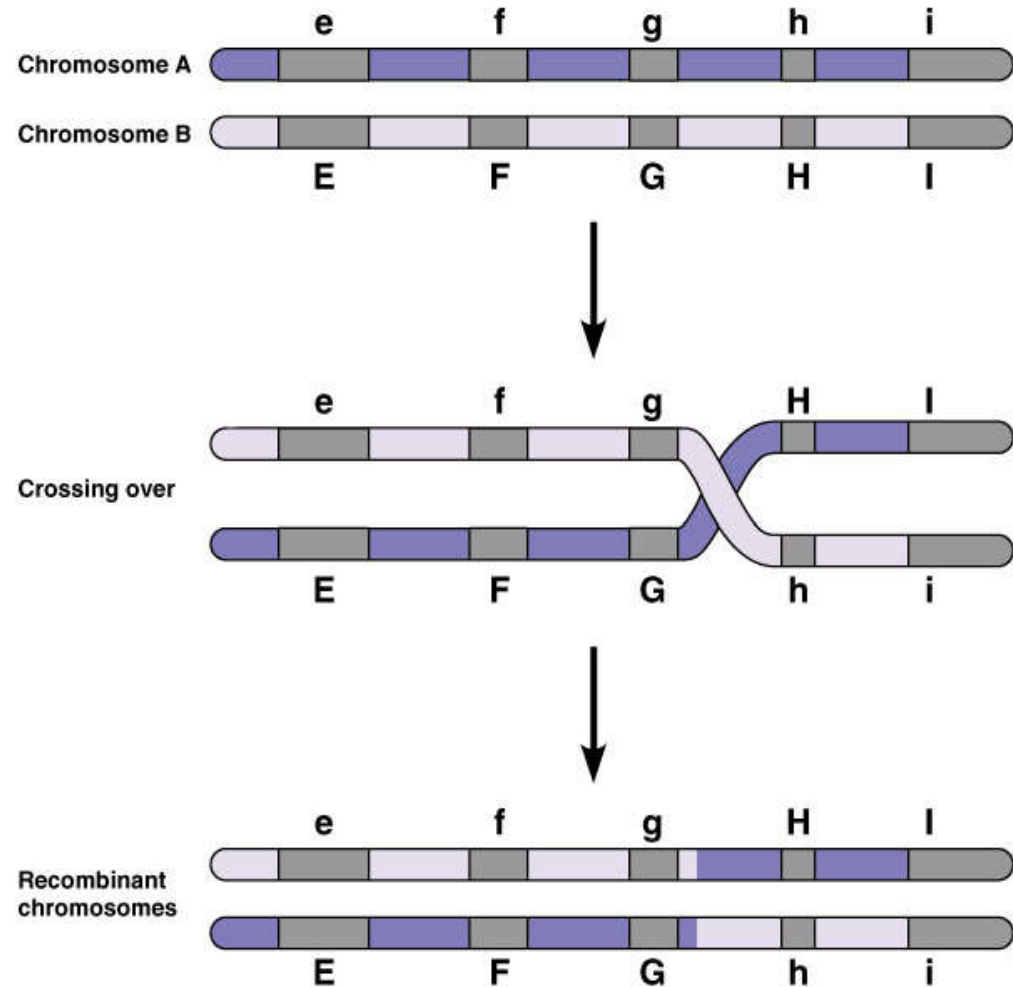
Rekombinasyon

Bakteri hücre DNA'sı ile birleşme

- Rekombinasyon
- Verici hücre DNA'sının çift iplikçığı endonükleaz tarafından koparılır.
- İçeriye giren DNA parçacığı tek iplikçikten oluşmaktadır (ekzogenot).
- Alıcı hücre DNA'sının (endogenot) bir iplikçığından bir segment kopar. Alıcı tek iplikçiğe iner.
- Endogenot ile ekzogenot arasında 1-2 kros-over ile rekombinasyon meydana gelir.
- Oluşan hibrid DNA'nın uçları ligaz enzimi ile birleştirilir.

Genetik Rekombinasyon

- İki DNA molekülü
- arasında gen alışverişi
 - Crossing over



Genetik materyaller

- kromozom
- plasmid
- bakteriyofaj
- virus
- transpozon ve insersiyon sekansları

Genome	Group	Size (kb)	Number of genes
Eukaryotic nucleus			
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Yeast	13,500 (L)	6,000
<i>Caenorhabditis elegans</i>	Nematode	100,000 (L)	13,500
<i>Arabidopsis thaliana</i>	Plant	120,000 (L)	25,000
<i>Homo sapiens</i>	Human	3,000,000 (L)	100,000
Prokaryote			
<i>Escherichia coli</i>	Bacterium	4,700 (C)	4,000
<i>Hemophilus influenzae</i>	Bacterium	1,830 (C)	1,703
<i>Methanococcus jannaschii</i>	Bacterium	1,660 (C)	1,738
Viruses			
T4	Bacterial virus	172 (L/C)	300
HCMV (herpes group)	Human virus	229 (L)	200
Eukaryotic organelles			
<i>S. cerevisiae</i> mitochondria	Yeast	78 (C)	34
<i>H. sapiens</i> mitochondria	Human	17 (C)	37
<i>Marchantia polymorpha</i> Chloroplast	Liverwort	121 (C)	136
Plasmids			
F plasmid	In <i>E. coli</i>	100 (C)	29
kalilo	In <i>Neurospora</i> , a fungus	9 (L)	2

NOTE: C = circular; L = linear; L/C = linear in free virus, circular in cell

Plazmidler

- Genomdan ayrı olarak küçük sirküler, sarmal ve çift iplikçikli DNA içerirler.
- Otonom replikasyon
- Konjugasyonu sağlarlar.
- Antibiyotik direnç genleri
- Toksin genleri
- Virulens genleri
- Metabolik genler

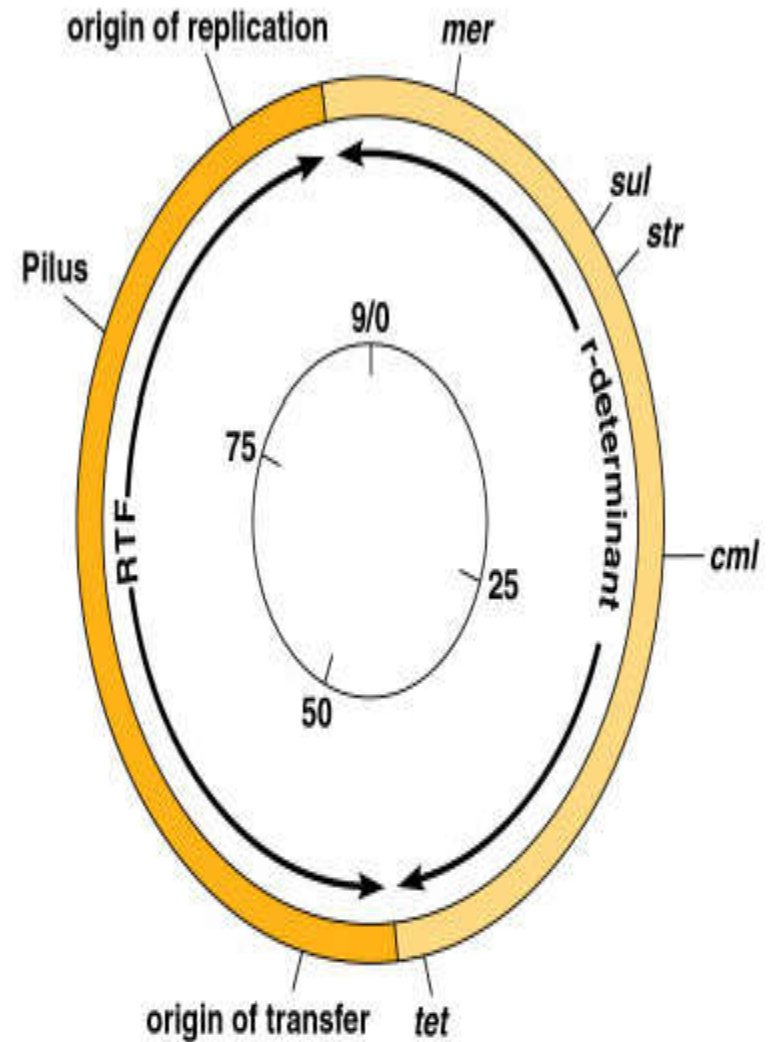
Plazmidler

- Rekombinant DNA teknolojisi
- Pilus oluşumu
- Plazmidlere Enterobakterilerde (Escherichia, Salmonella, Shigella, Klebsiella, Proteus vs. türlerinde) sıklıkla rastlanmaktadır.
- Gram pozitif mikroorganizmalarda da örneğin Stafilokoklardaki (S. aureus) penicillinase (beta lactamase)enzimini kodlayan büyük plazmid

Plazmid



(a)



(b)

Plazmidlerin sınıflandırılması

- **1-Büyükliklerine göre**
- **Çok küçük** (1-10 Md)(aynı bakterideki büyük plazmidlerin yardımı ile veya konakçının genomu ile birleşerek bakteri bölünmesi sırasında kardeş hücrelere transfer edilirler)
- **Küçük** (10-50 Md) (çok kopyalı plazmidler)
Gen aktarmalarında genellikle küçük veya orta boy suni plazmidlerden yararlanılır. Hücre içinde kopya sayısının fazla olması ekspresyon yönünden avantajdır.
- **Büyük** (50 Md üzeri)(kopya sayısı 1-4)
Hem kendilerini ve taşıdıkları bilgileri ve hem de konakçı kromozomundan bir segmenti (veya geni) aynı türden veya çok yakın cinse ait türlere transfer etme yeteneğine sahiptirler.

Plazmidlerin sınıflandırılması

- 2- Uyum durumuna göre
- **Kompatibil** birden fazla plazmid aynı bakteride uyum içerisinde bulunuyorsa
- **Non-kompatibl** uyum içerisinde olamıyorsa,
Birbirlerinin üremesine ve biri diğerinin replikasyonuna engel olur.

Bir bakteride bulunan replikasyon mekanizması bir plazmid tarafından kullanılıyorsa, aynı mekanizmadan yararlanan ikinci bir plazmid bu olanağa sahip olamadığı için replike olamaz (kompetatif inhibisyon). Aynı plazmid ile ikinci enfeksiyona (süper enfeksiyon) engel olur.

- **3-Konjugatif özelliklerine göre,**
 - a-Non-konjugatif plazmidler
(1-10 kb-çok küçük)plazmidler kendilerini bir bakteriden diğerine transfer edebilecek genetik bilgilere sahip değildir.
 - b-Konjugatif
Büyük plazmidlerin DNA'larında seks pilusunu oluşturmak için bilgi vardır. Kendilerini bu pilus aracılığıyla transfer edebilirler
- **4- Taşıdıkları spesifik sekanslara göre,**
- i-F faktörü ii- Rezistans plazmidler iii-Virulens plazmidler iv-Bakteriyosinler v- Metabolik plazmidler

Plazmidlerin yapısı

- **Replikasyon orijini (RO)** kodlayan nükleotidler
(Nükleotidlerden oluşmuş bir DNA segmenti)
RO'ya sahip olan küçük veya büyük DNA sekansları bağımsız replikasyon özelliği gösterebilirler (replikon)
- **Restriksiyon endonükleazların kesim yerleri ve restriksiyon haritaları**
- **Rezistanslık genleri** Genellikle yer değiştirebilen genetik elementler(transpozon) tarafından karakterize edilirler. Transpozonların yapısında antibiyotiklere dirençlilik sağlayan enzimlerin kodları bulunur
Özel bazı karakterleri spesifiye eden markerler, transpozonlar, insersiyon sekansları (is-elementler) bulunur

Doğal plazmidler neden tercih edilmez?

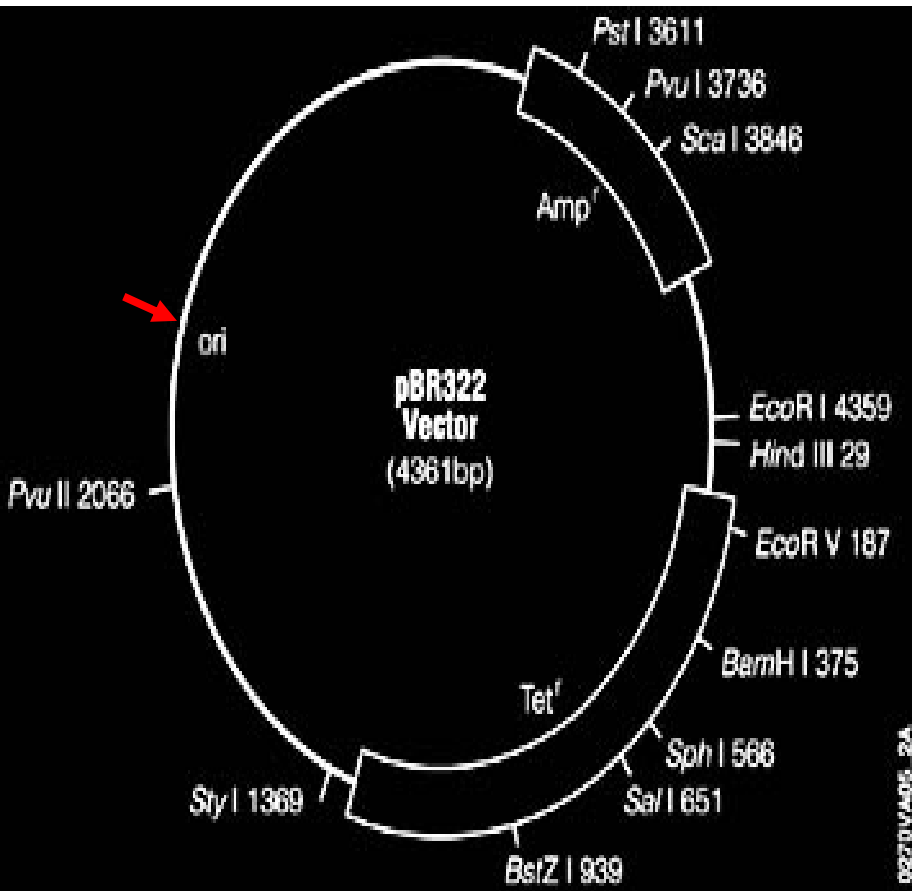
- Özel markerlar yetersiz
- Stabilitesine güvenilmez
- Hücre içi ekspresyonları kontrol edilemez.
- Spesifik marker ilavesi yapılamaz.

(Başlatma kodonu-terminatör kodon

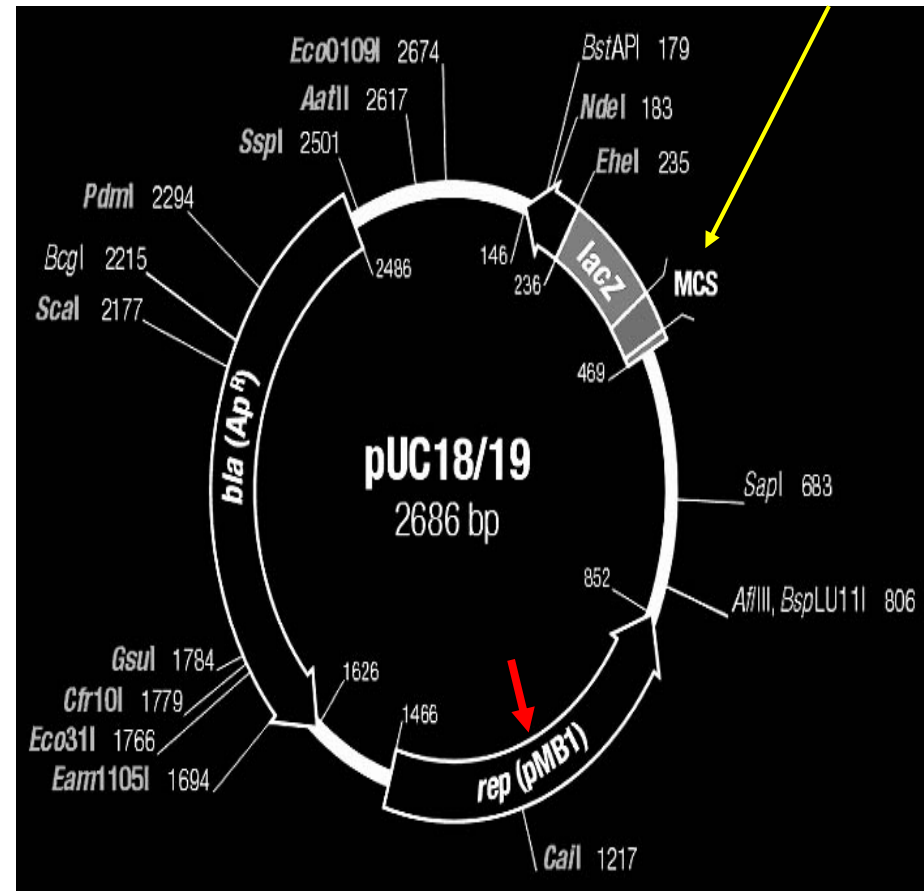
Kuvvetli promotor ilavesi, beta galaktosidaz kodlayan genler)

Suni Plazmidler

MCS



pBR322



pUC18/19

Bakterilerde plazmidler

- Nasıl tespit edilir?

1-Konvansiyonel metodlar

Bazı karakterleri kazanması-kaybetmesi (laktoz)

2-Elektronmikroskop ile

3- Elektroforezis ile

4- Genom ile birleşenler işaretli problarla

5- Densite gradient santrifügasyon ile

Plazmid DNA izolasyonu

- 1-Bakterinin sıvı ortamda üretilmesi
- 2-Sferoplast eldesi
- 3-SDS ile sferoplast parçalanır.
- 4-RNase, Proteinase K ile muamele
- 5-Santrifüj, üst sıvı alınır.

Plazmid eliminasyonu

- 1-Spontan
- 2-Kimyasal maddeler ile

Acridin orange, acriflavine, etidium bromide, mitomisin C

3-UV ışınları-iyonizan ışınlar

Replikasyon

- Bakterilerde olduğu gibi bidireksiyonal (E.coli, konjugatif plazmidlerde)

Plazmid profil analizi

- Plazmid varlığı
 - Plazmid türlerini belirler
 - Standart molekül ağırlık
 - Agaroz jel Elektroforezinde tesbit
 - Süper sarmal form
 - Lineer form (ortada)
 - Sirküler form
- Bandlar

- Sükroz Densite Gradient Santrifügasyonda (%5-20)
- Santrifüj tüpünde sükrozun değişik konsantrasyonlarında toplanır.
 - Lineer form üstte
 - Sirküler form ortada
 - Süper sarmal form altta

Konjugasyon

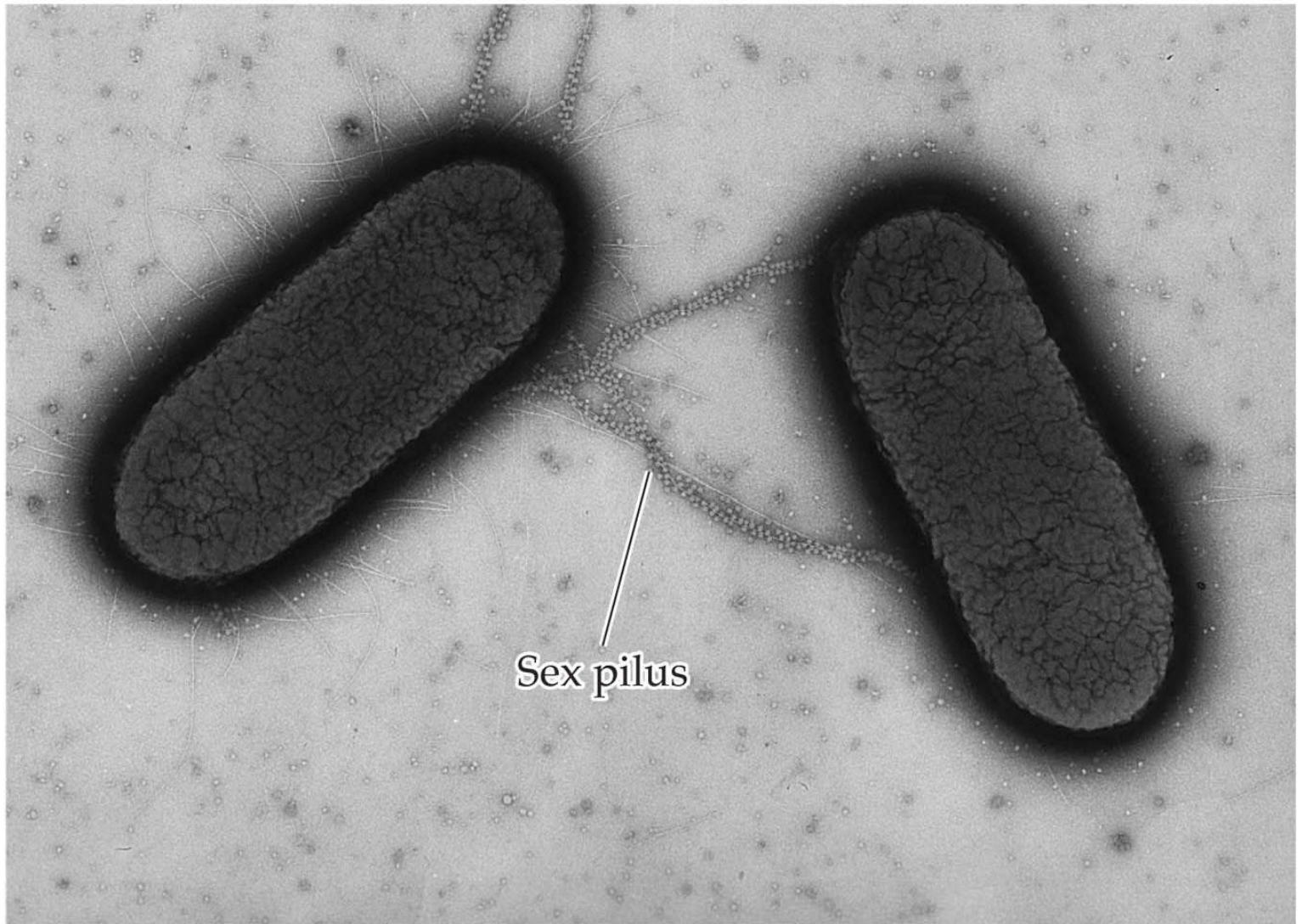
- Konjugasyon, verici hücre DNA'sının tümünün veya bir segmentinin, **seks pilusları** aracılığı ile alıcıya aktarılması olayına verilen bir isimdir.

Konjugasyon

İki hücre arasında konjugasyonun gerçekleşebilmesi verici hücrelerdeki **seks pilusları** ile yapılır. Seks piluslarının sentezlenmesini hücre içinde bulunan **özel genler** sağlarlar.

Bunlar, diğer normal piluslardan (fimbria) daha uzun ve kalındırlar. Ortaları boş olduğundan bir boru ve geçit köprüsü görevini yaparlar. Genetik materyal buradan geçerek alıcıya aktarılır. Normal pilusların gen aktarmasında rolleri yoktur.

Seks pilusu



LIFE: THE SCIENCE OF BIOLOGY, Seventh Edition, Figure 13.8 Bacterial Conjugation
© 2004 Sinauer Associates, Inc. and W. H. Freeman & Co.

F faktörü bir hücrede

- 1- Bağımsız genetik element (F^+), (Plasmid)
- 2- Konakçı DNA'sı ile birleşmiş olarak (Hfr) (episom)
- 3- Bağımsız fakat, konakçı DNA'sından bir parça olarak (F' prime).

Plazmid çeşitleri

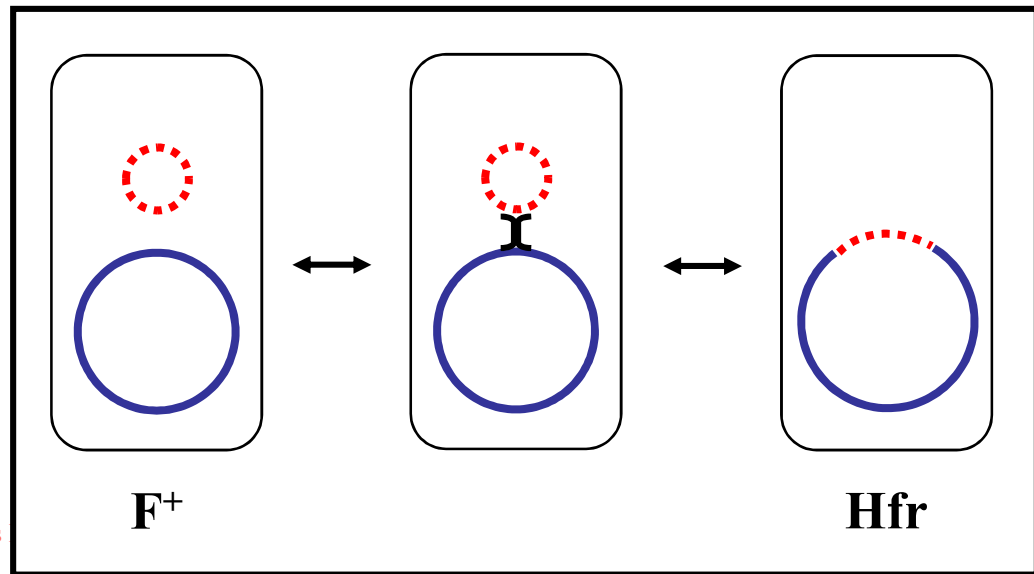
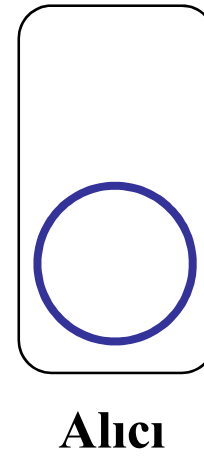
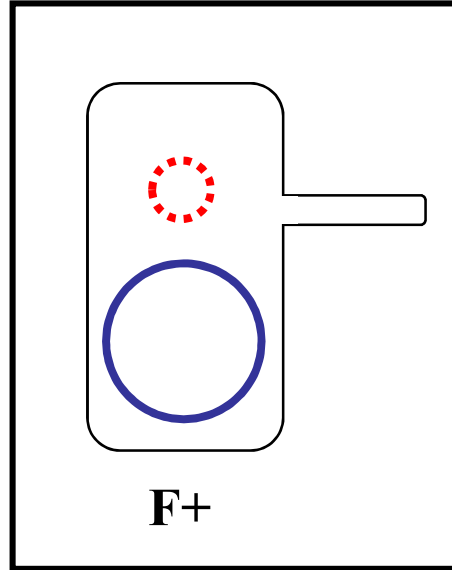
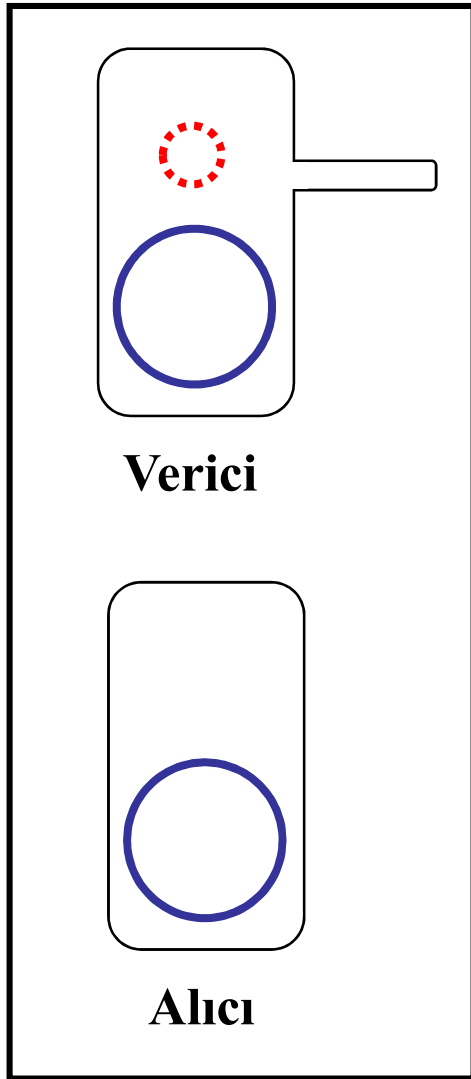
- **1-F plazmidi** (F faktörü)

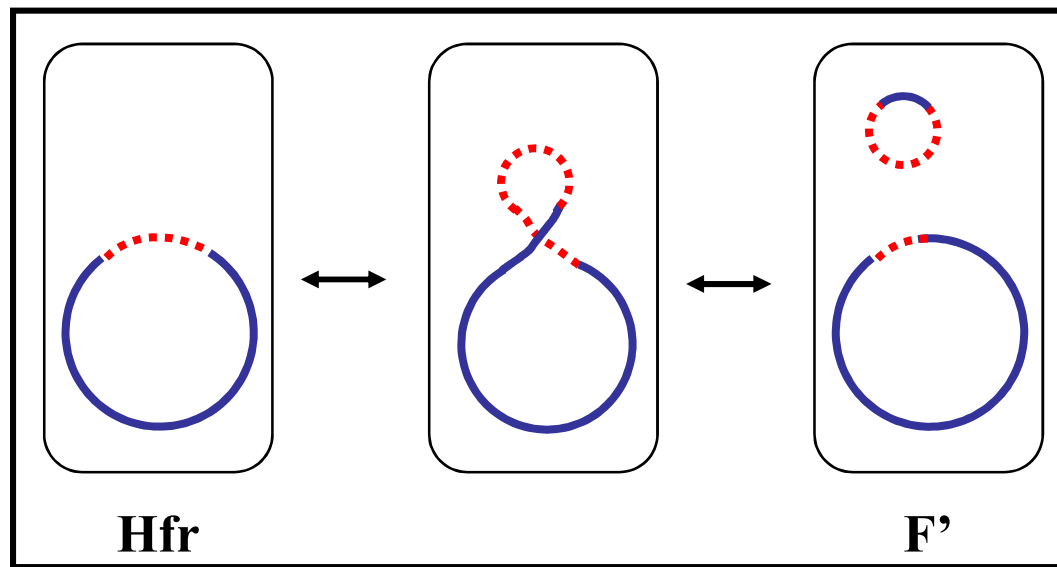
Hangi bakteriye aktarılır ise seks pilusu sentezlenir.

RO + tra operon (21 gen)(kendisinin transferini sağlayacak pilus formasyonunu kodlayan bilgilere sahip)

i- **F⁺ X F⁻** F faktörünün bir iplikçiğinde ori T bölgesinde kopma meydana gelir ve buradan ayrılan 5'ucu, seks pilusunun oluşturduğu köprüden geçerek F⁻ hücreye transfer edilir.

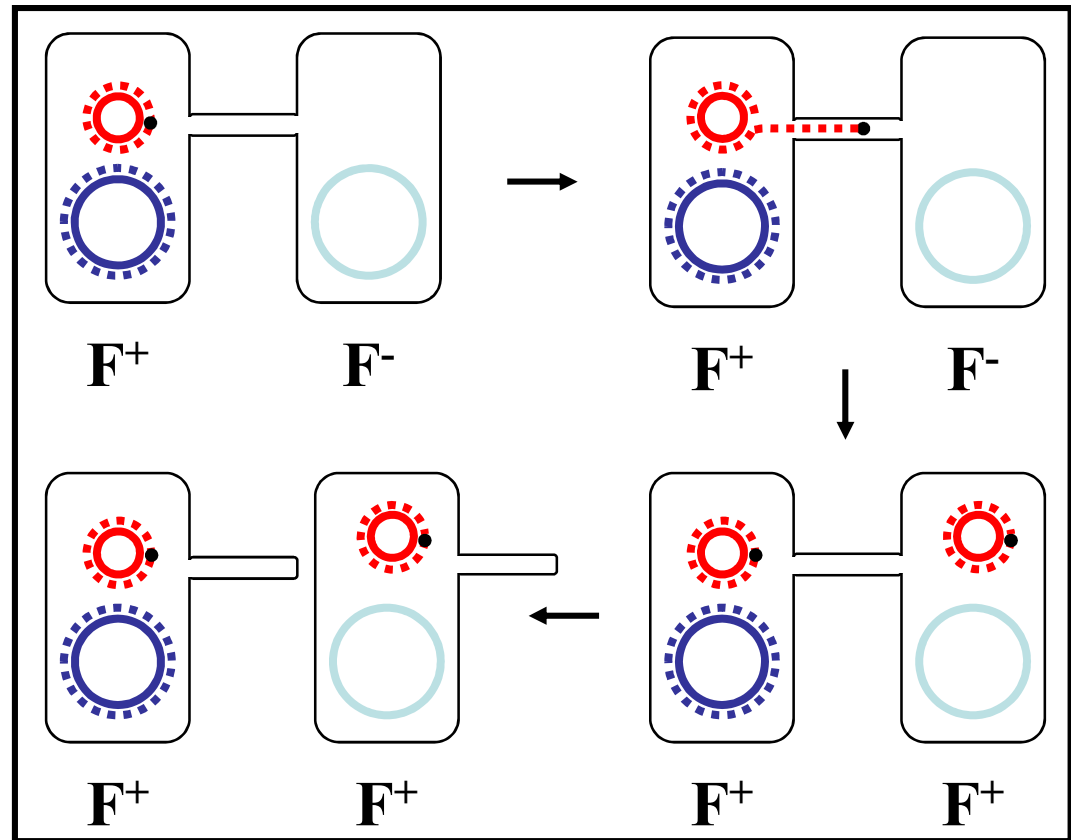
Aktarılan tek iplikçiğin karşısında 5'←3' yönünde ikinci bir iplikçik sentezlenerek alıcı hücrede çift iplikçikli ve sonra da sirküler forma dönüştürülür.





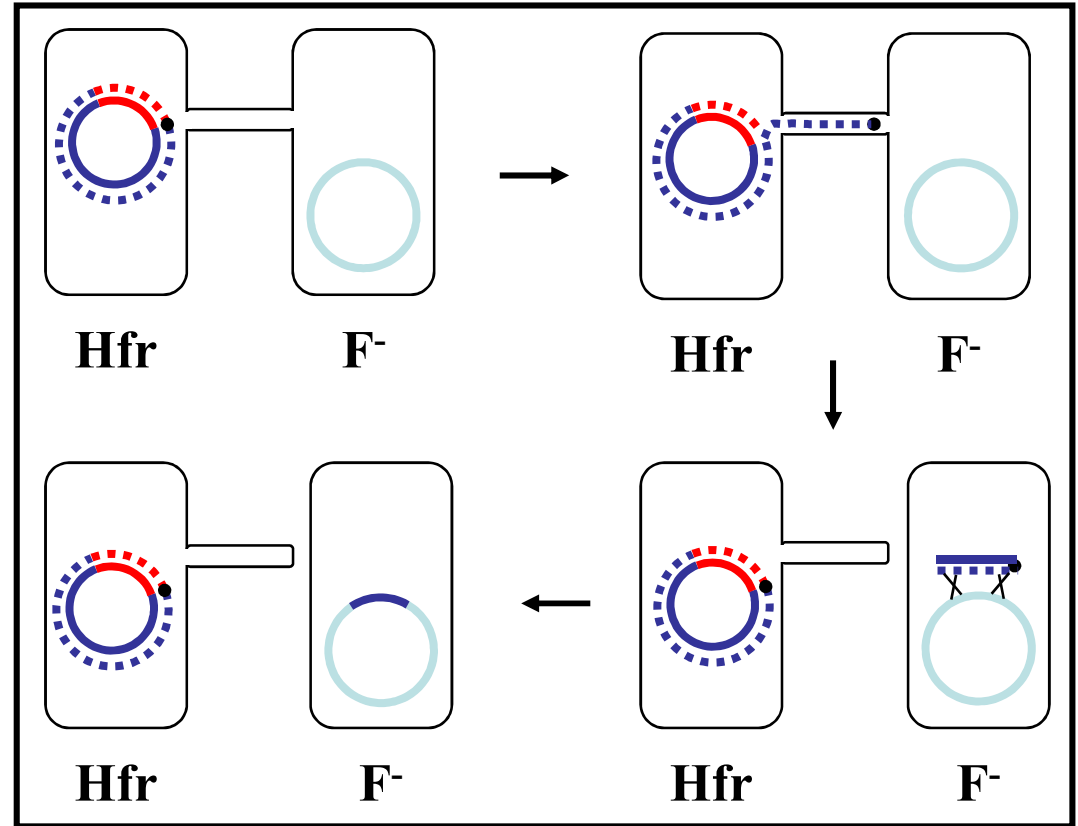
$F^+ \times F^-$ birleşmesinin mekanizması

- Çift oluşumu
 - Konjugasyon köprüsü
- DNA transferi
 - Transfer orijini
 - Vericide bulunan tek kopyada Rolling circle replikasyon



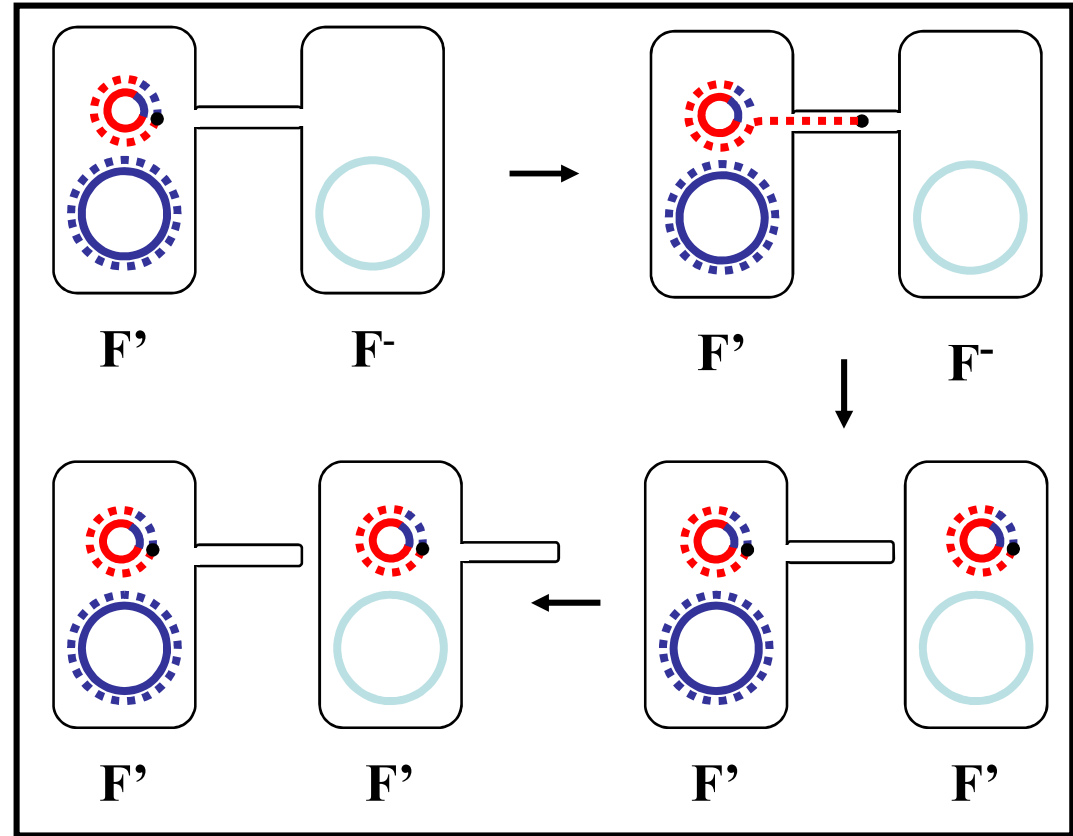
Hfr x F⁻ birleşmesinin mekanizması

- Çift oluşumu
 - Konjugasyon köprüsü
- DNA transferi
 - Transfer orijini
 - Vericide bulunan tek kopyada Rolling circle replikasyon
- Homolog rekombinasyon

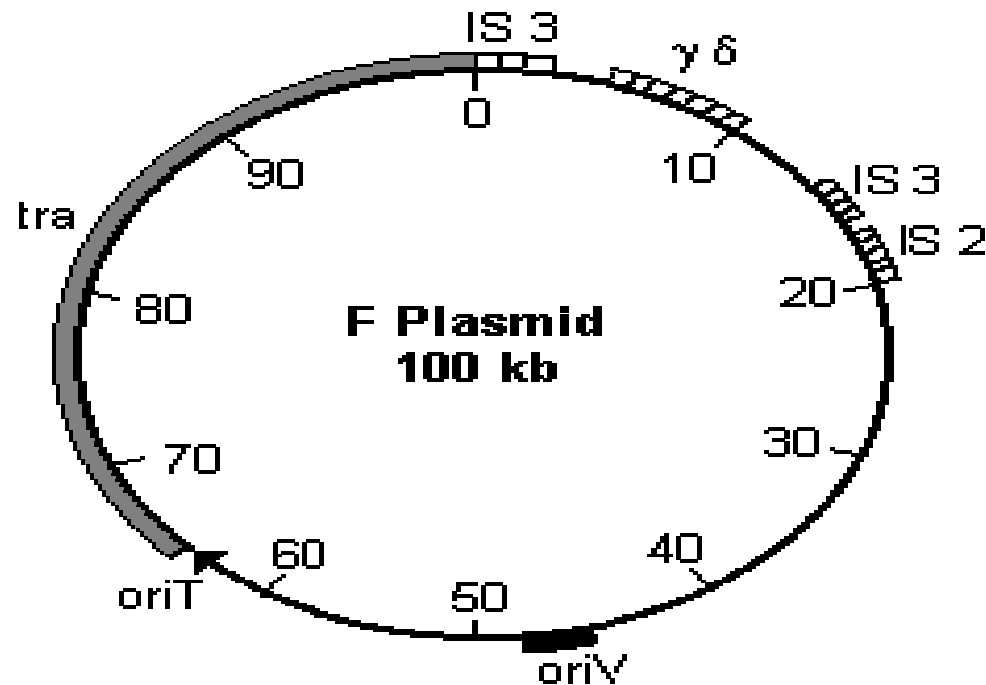


F' x F⁻ birleşmesinin mekanizması

- çift oluşumu
 - Konjugasyon köprüsü
- DNA transferi
 - Transfer orijini
 - Rolling circle replikasyon



F plasmidi



IS 3 & S 2 = insertion sequences
γδ = transposon Tn1000
oriV = origin of replication
oriT = origin of conjugal transfer
tra = tra functions

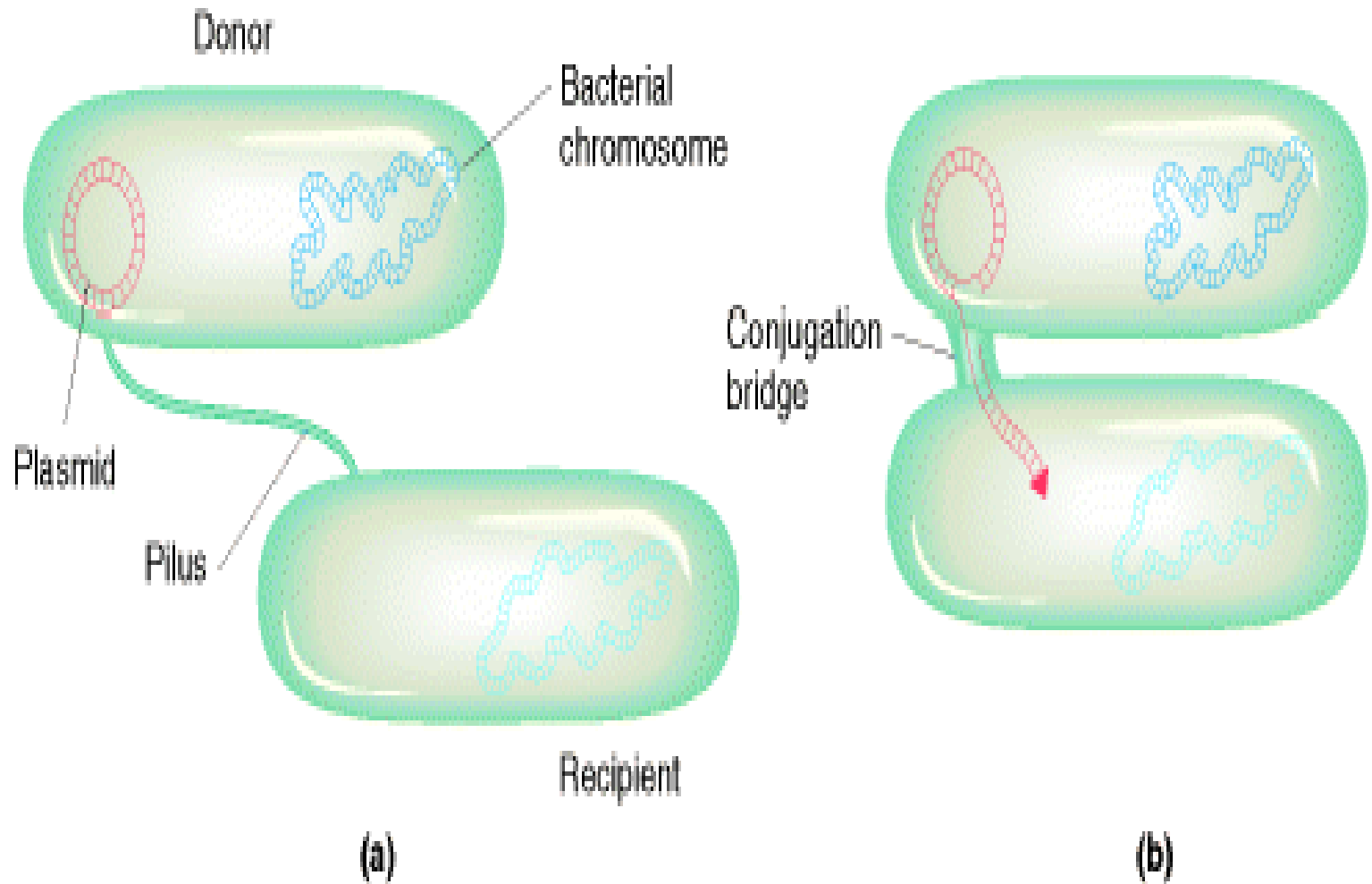
- 1-F plazmidi
- Aktarılan iplikçiğe komplementer yeni iplikçik sentezlenir.
- Çift iplikçik sirküler forma dönüşür.
- F plazmidi sitoplazmada kalır.

2-Hfr X F⁻

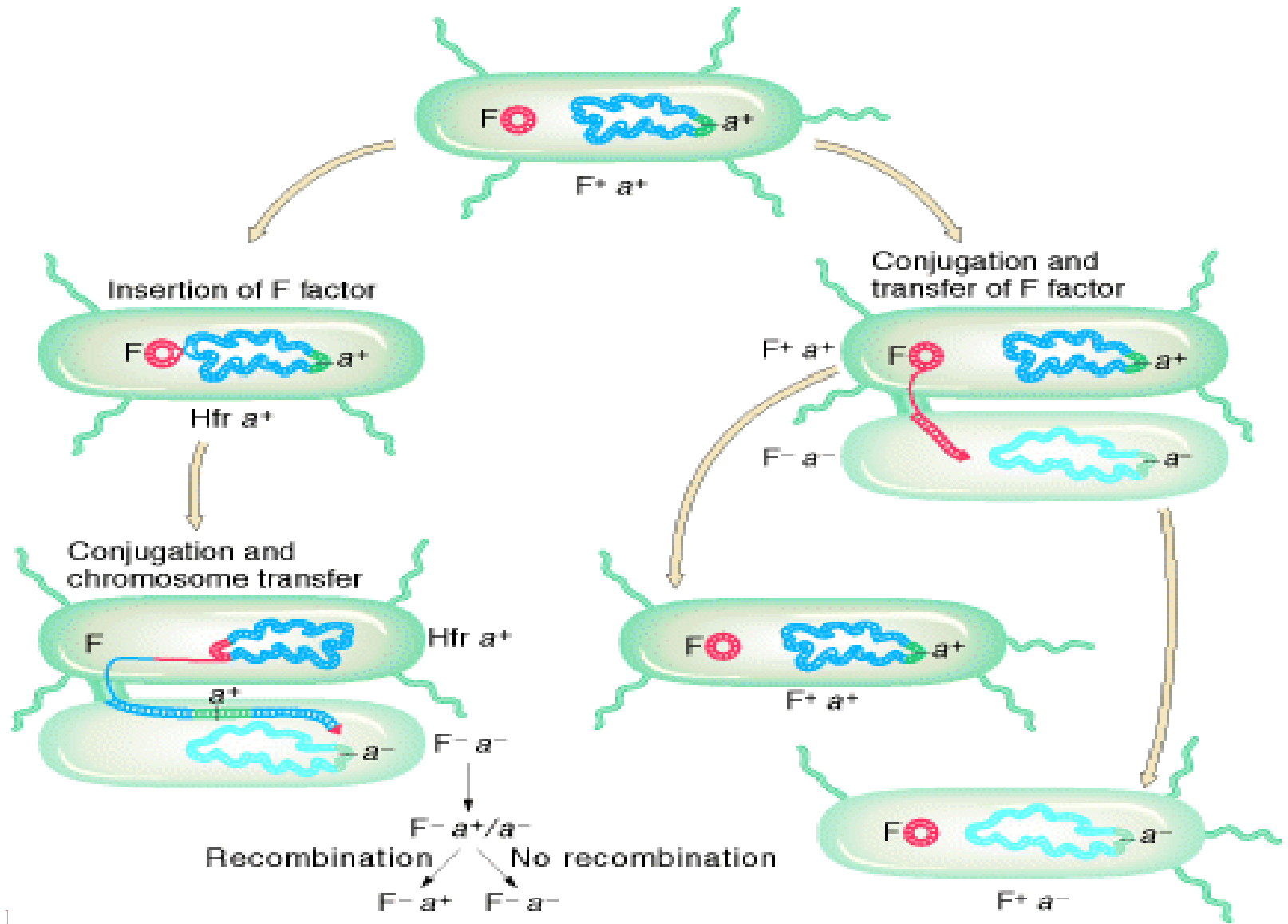
Gen transferi yüksek olur.

3- F' (F prime) X F⁻

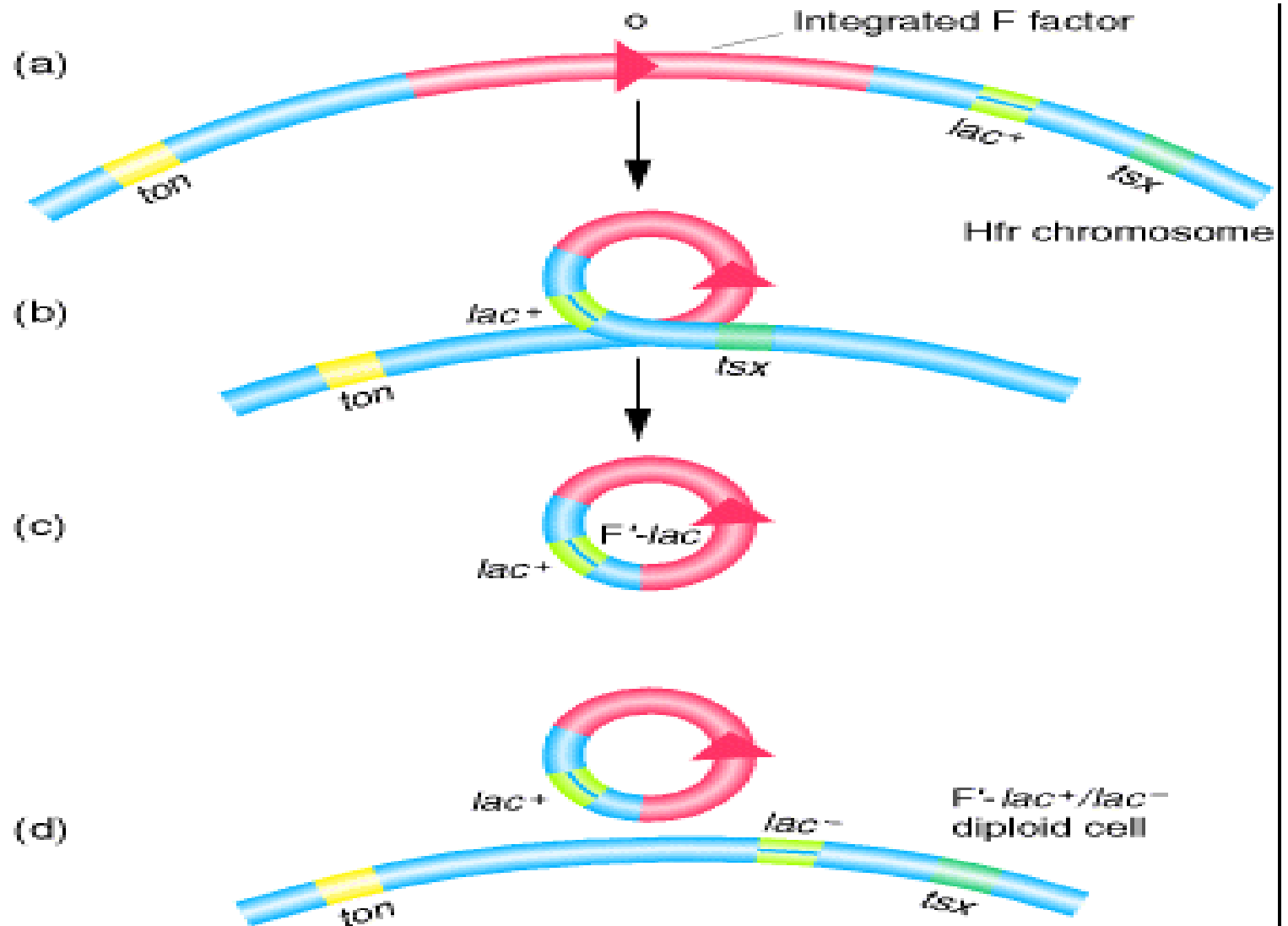
Konjugasyon ile F plasmidin transferi



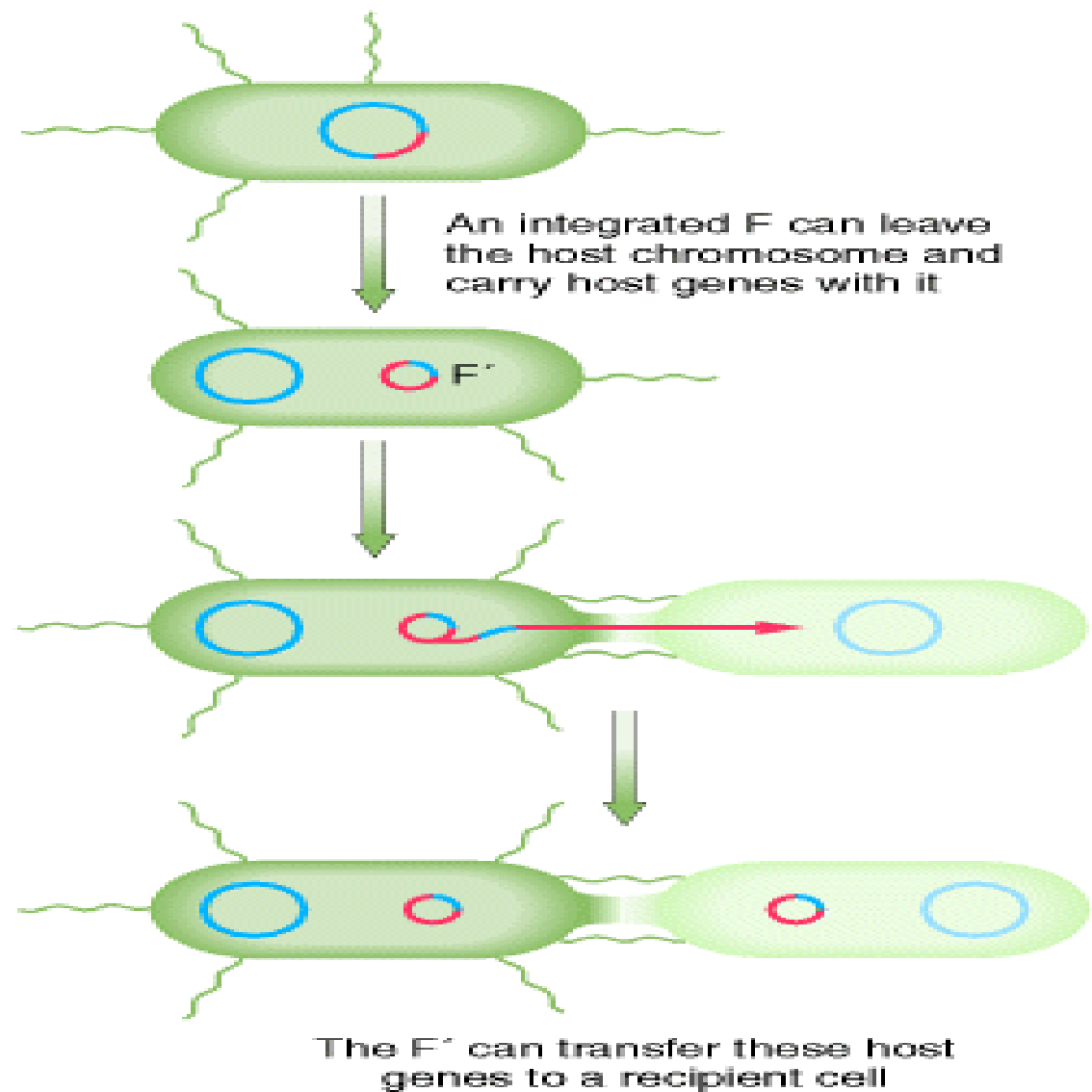
E. coli'nin konjugasyonal siklusu



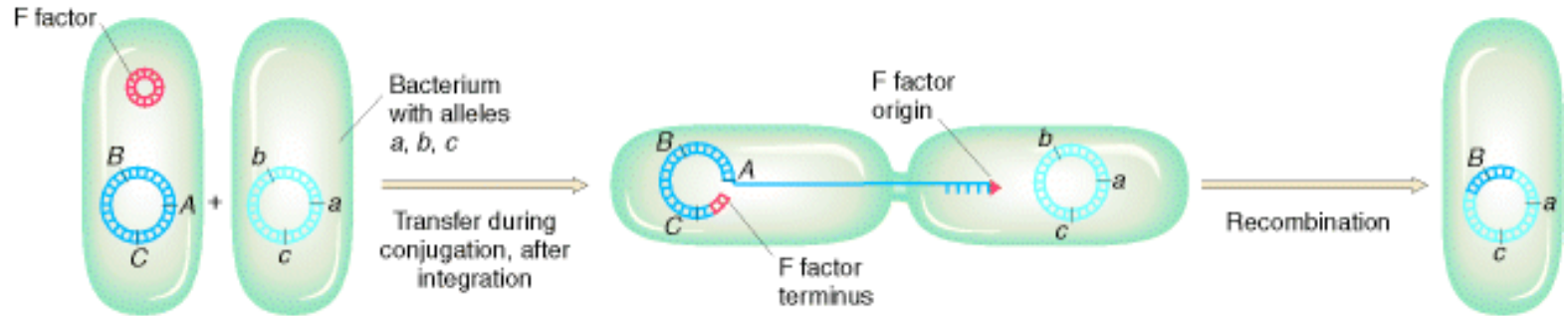
F' plasmid



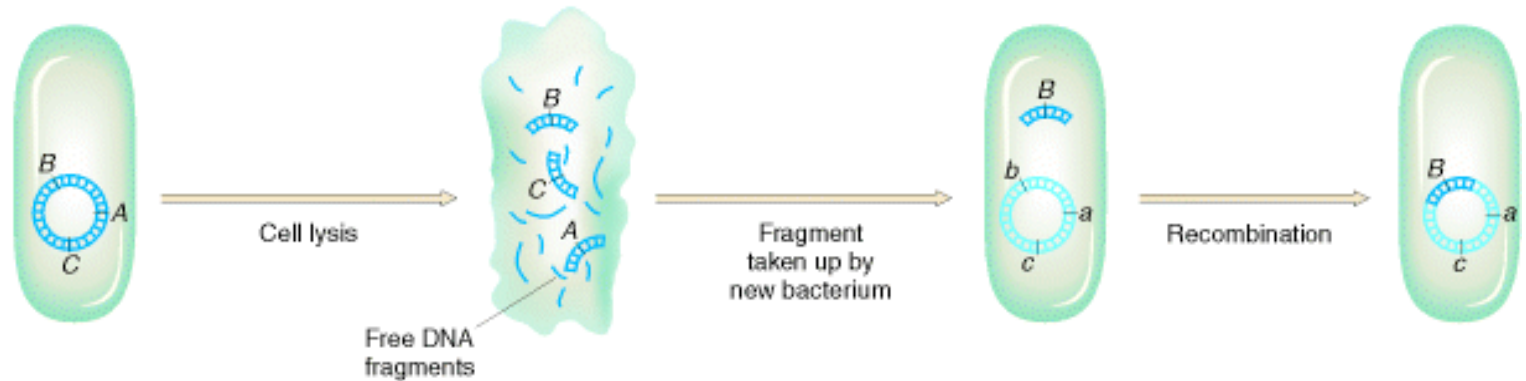
F' plasmid ile konjugasyon



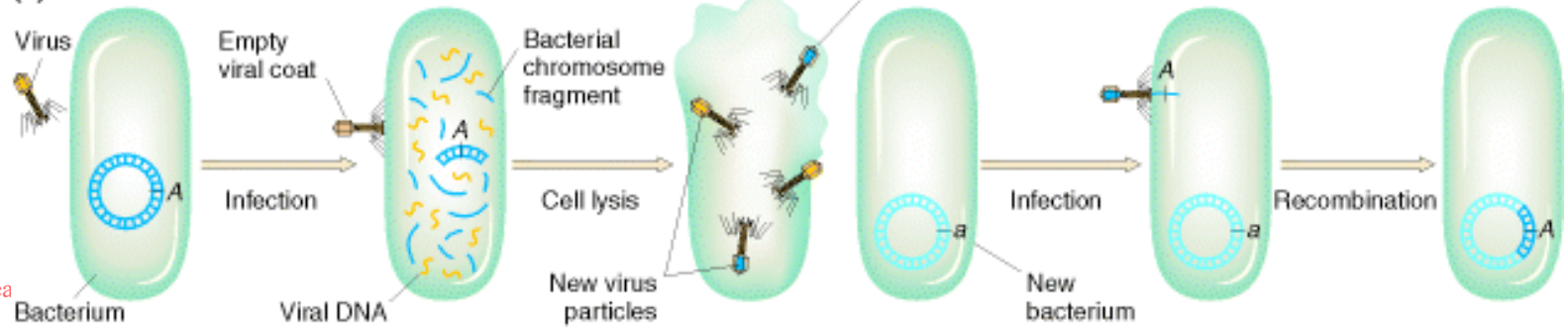
(a) Conjugation



(b) Transformation



(c) Transduction



Antibiyotik direnci

- Fajlar, plasmidler, konjugatif transpozonlar, spontan mutasyonlar
- Aşırı antibiyotik kullanımı

Rezistenslik (R) Plazmidleri

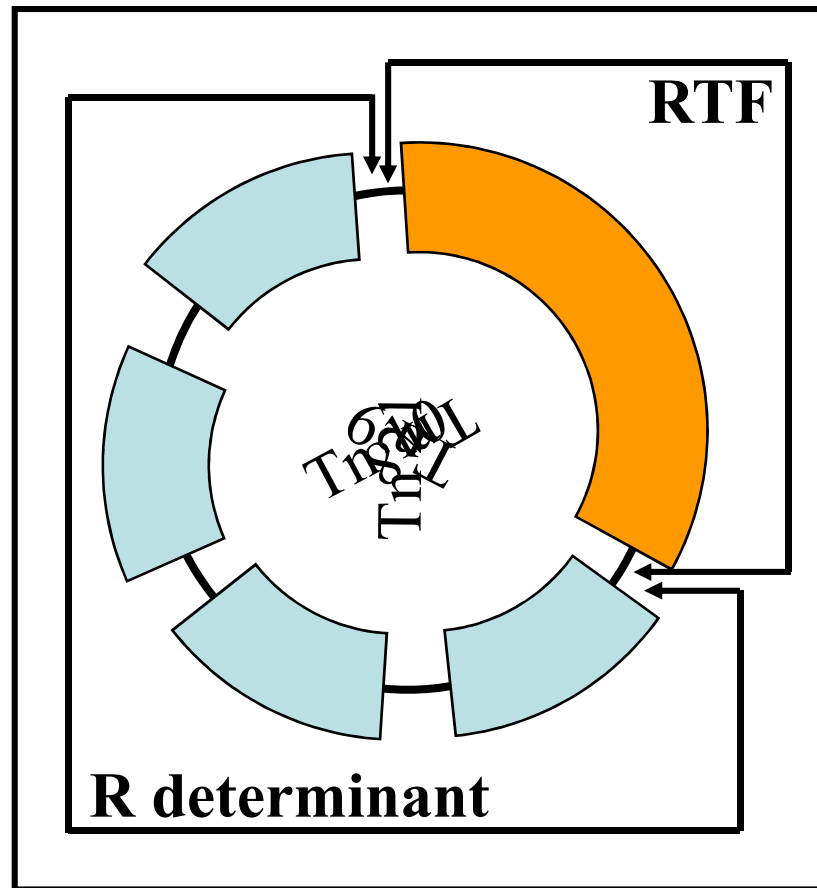
- Bir çok ilaca karşı çoğul dirençlilik *E. coli*, salmonella, shigella, klebsiella, proteus ve bazı enterobakterilerde rastlanmıştır. Son yıllarda antibiyotiklere çoğul direnç gösteren suşların sayısında artış görülmüştür.
- R plazmidleri çift iplikçikli sarmal, sirküler yapıda DNA karakterinde genetik elementlerdir.
- R faktöründeki çoğul dirençlilik, bunda bulunan transpozon (Tn) ve/veya İS elementlerinden kaynaklanmaktadır.

R plazmidleri

İki bölümden oluşurlar

- 1-TF Konjugasyonu ve aktarılmayı yöneten transfer faktörü
- 2-RF Çeşitli ilaçlara karşı dirençliliği tayin eden rezistenslik faktörü
- R pilus formasyonu
- Komensal ve patojenikler arasında yaygın bir hale gelir. Hastalığın Nüksüne neden olur.
- R faktöründe ilaç direncine neden olan enzimlerin aktivasyonunu kodlayan genler vardır.
- Fosforilasyon, asetilasyon, adenilasyon ile antibiyotikler aktivitesini kaybeder.
- Kendi replikasyonu için gen taşır.

R plasmidi



Bakteriyosinler

- Bazı bakteriler tarafından sentezlenen letal etkili proteinlerdir.
- Etki spektrumu dardır.
- Kromozomal-plazmid orijinlidir.
- Gram pozitif (stafilokok, streptokok, listeria gibi) ve Gram negatif (E. coli)
- Bakteriyosin formasyonu için Bakteriyosinogen'lerin bulunması gereklidir
- F ve R faktörlerinin oluşturdukları konjugasyon köprüsünden geçerler.
- Proteazlar ile inaktive edilirler.
- Bakteride lizis oluştururlar.

Bakteriyosinler

- Etki mekanizması;
- 1- Hücre membranının permeabilitesini artırır. Kolisinlerin (plazmid) geçişini kolaylaştırır.
- 2- Bakteri hücre membranında kolisin reseptörlerine tutunur.
- 3- DNase RNase gibi etkir.
- 4- Hücre duvarında kanallar oluşturur.

Virülens plazmidleri

- Patojenik mikroorganizmalar, kendilerinde bulunan bazı virülens faktörleri ile konakçıyı hastalandırırlar ve hatta ölümüne neden olabilirler. Bakterilerin sahip oldukları virülens faktörlerinin bir kısmı kromozomlarında kodlanmasına karşın bir kısmı da plazmid orijinlidir.

Virülens plazmidleri

B. anthracis

pOX1 (letal toksin)

- pOX2 (kapsül formasyonu)

S. aureus (eksfoliatif toksin)

C. tetani (nörotoksin)

Y. pseudotuberculosis

Y. enterocolitica (membran proteinlerini kodlayan genler)

E. coli (LT+ST)

K99, K88 ve 987

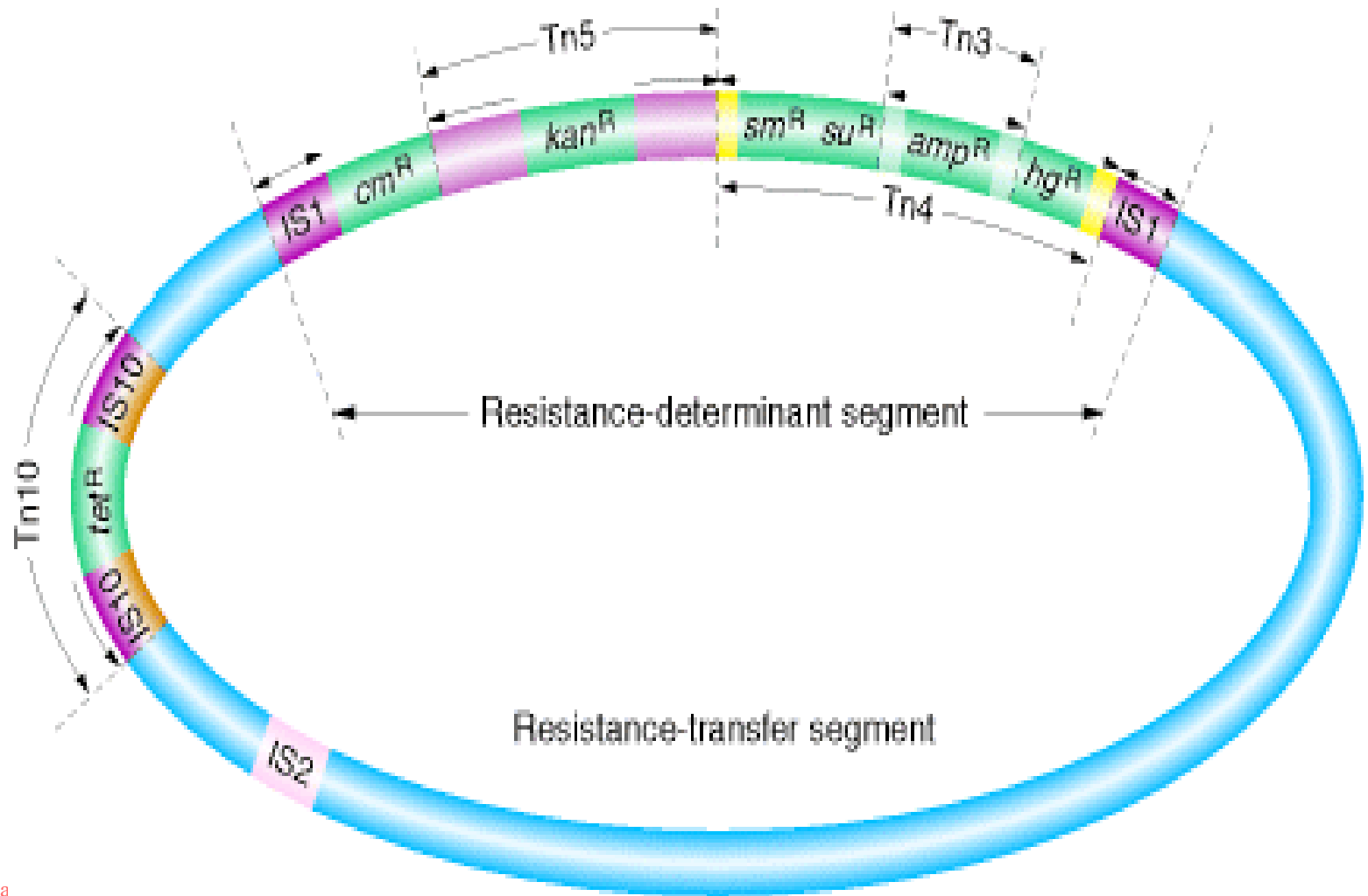
EPEC

hemolizin, enterotoksin

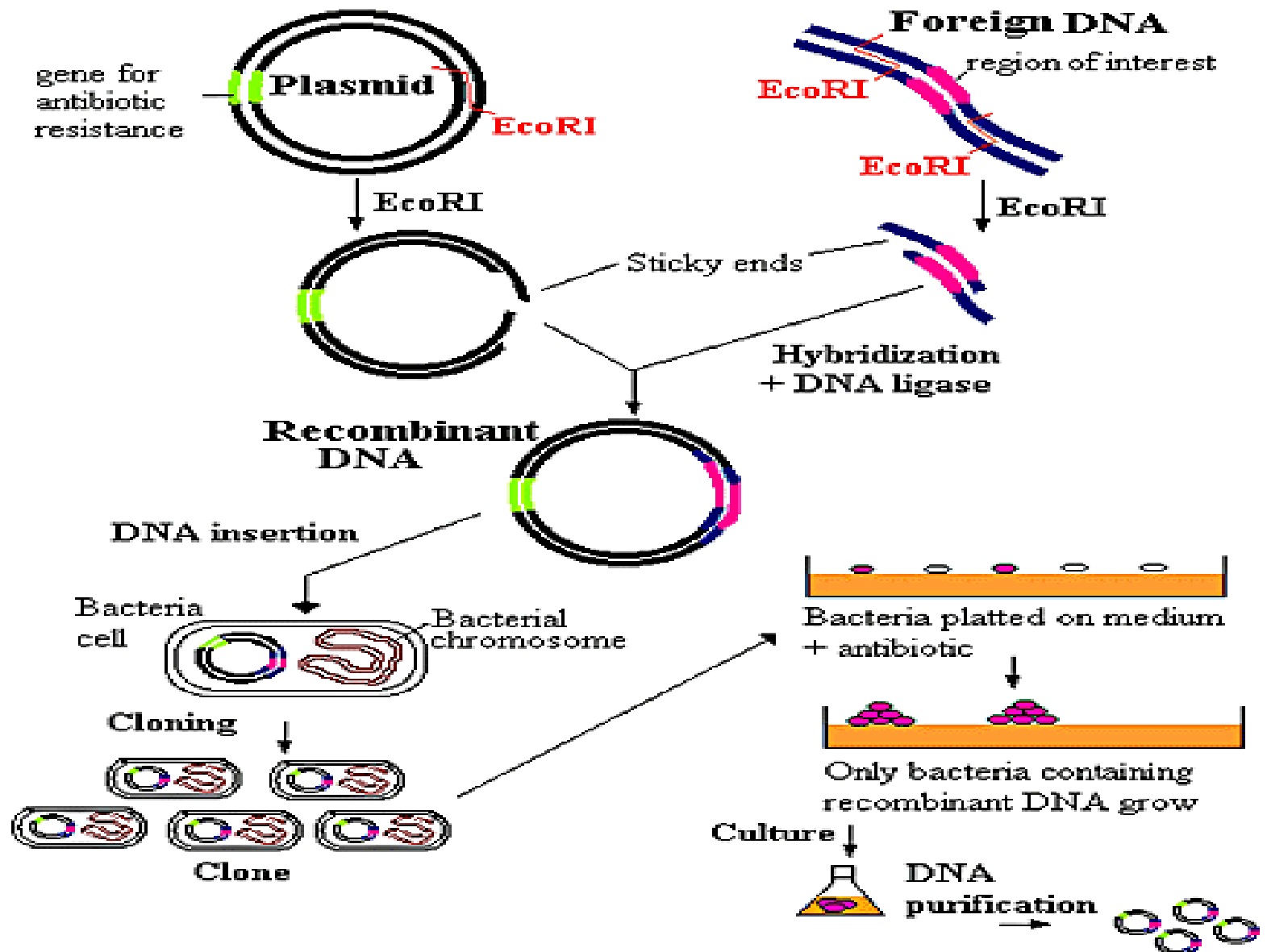
Antibiyotiklere dirençlilikte plazmidlerin rolü

- 1- Antibiyotiklerin etkilediği hedef bölgenin modifikasyonu
- Metilasyon (Ribozomlardaki 23SrRNA'da linkomisin ve eritromisin'in bağlanması önlenir) Streptokok, Stafilokok
- 2- Antibiyotiklerin modifikasyonu
- Kloramfenikol asetil transferaz enzimi Gram pozitif ve Gram negatiflerde (*E. coli*, *S. aureus*) kloramfenikol'ü detoksifiye eder
- *S. aureus* 'un bir çok suşlarının penisilin G'ye ve sefalosporin'e dirençliliği: plazmidlerin kodladığı beta laktamaz enzimi, antibiyotiklerin yapısındaki beta laktam halkasını hidrolize ederek ayrıştırır. Penisilinin etkinliği inaktive olur
- Beta-laktamaz (plazmid+kromozomal)

Birçok antibiyotik direnç genleri taşıyan plasmid



Klonlama



Genetik Rekombinasyon

- Verici bir bakteriden aktarılan genetik materyallerin (ekzogenot) beklenen etkinlikte olabilmesi için, sitoplazma içinde bulunmasından ziyade, alıcının kromozomu ile birleşmesi (integre olması) gereklidir. Bu olguya **rekombinasyon** adı verilmektedir. Bazı durumlarda alıcının sitoplazmasına giren yabancı DNA sekansları, burada kalabilir ve kromozomla birleşmeyebilir (alıcı ile verici hücre DNA kompozisyonlarının farklı olduğu hallerde) Böyle olgular, sekanslar arasında homolog bölgelerin veya özel birleşme yerlerinin çok az veya olmamasından kaynaklanır.

Genetik Rekombinasyon

- Alıcının DNA'sına integre olan verici DNA sekansları, kromozomun bir devamı veya bir parçası haline gelerek, onunla birlikte ve eş zamanlı (senkronize) olarak replike olur ve eksprese edilir. Replike olan DNA segmenti, kardeş hücrelere de taksim edilir.
- 1) Homolog (genel) rekombinasyon
2) Site specific recombination (özel rekombinasyon)
3) Nonhomolog rekombinasyon

Homolog (genel) rekombinasyon

- Alıcının hücre duvarından ve belirli yerlerinden içeri giren lineer formdaki DNA segmentleri hemen sirküler forma dönüştürülür. Böyle bir molekülde bulunan ve alıcının kromozomu ile komplementer (homolog) olan bölgeler karşı karşıya gelir. Homolog bölgelerde meydana gelen karşılıklı kopmalar sonunda, vericinin sekansları alıcının DNA sekansları arasında krosoverla (crossover) integre olur.
- rec A⁺ gen ürünü proteinlerinin önemi oldukça fazladır
- Rec B ve rec C gen ürünlerinin de etkinliği vardır

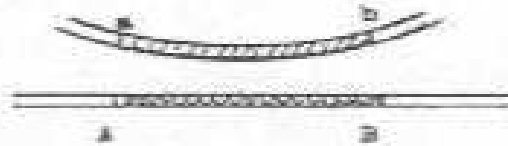
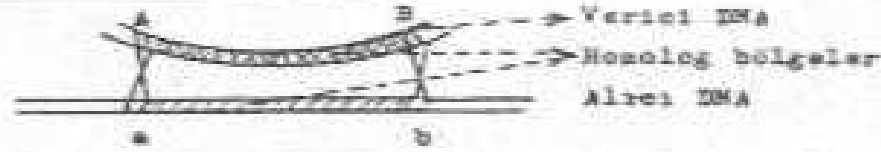
Site Specific (Özel) Rekombinasyon

recA gen ürünü proteinine bağımlı değildir. Bu nedenle de recA- mutantlarında da rekombinasyon meydana gelmektedir. Bakterilerin kromozomları üzerinde, bazı yabancı genler için özel alıcı bölgeler bulunmakta ve buradan integrasyon gerçekleşmektedir. Bu tür rekombinasyona en iyi örnek *E. coli* K-12'ye ait Lambda (I) faji verilebilir.

Nonhomolog Rekombinasyon

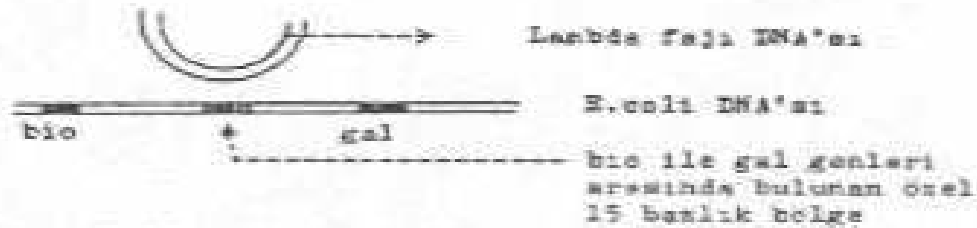
- DNA segmentleri arasında genetik homolojiye dayanmadan birleşmeler nonhomolog rekombinasyonlar olarak tanımlanmaktadır. Bu tür rekombinasyonlar, recA gen ürünü proteinlerine bağımlı değildir. Bakterilerde rastlanan Transpozonlar (Tn) ve İnsersiyon sekansları (İS-elementleri), bakteri veya plasmid üzerinde veya karşılıklı yer değiştirmeleri bu tür rekombinasyon için örnek kabul edilmektedir (Mutator faj).

Genel (Homolog) Rekombinasyon

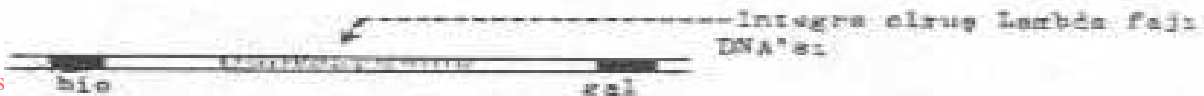


Verici ve alıcı DNA'lar arasında homolog bölgeler karşılıklı olarak değişmiştir

Site Specific Recombination



Lamba faji E.coli kromozomunda biotin ile galaktose genleri arasındaki 15 bazlık bölgeye girer ve integre olur



Yer Değiştirebilen (Transposable) Genetik Elementler

- 1) İnsersiyon sekansları (İS-elementleri)
2) Transposonlar (Tn)
3) Mu faji (mutator faj, mutasyon oluşturan faj)

Yer Değiştirebilen Genetik Element tipleri

- İnsersiyon Sekansları(IS)Transpozonlardan daha basit
- Tanım: Transpozisyonda rol alan genler dışında elementler taşımazlar.
- Nomenklatur - IS1 Transposase, elementlerin yer değiştirmesinde,transpozisyon enzimini kodlayan gen
- Yapı- İki ucunda tersine tekrarlanan (IR) sekanslar
 - Önemi

- Mutasyon

ABCDEFG

Transposase

GFEDCBA

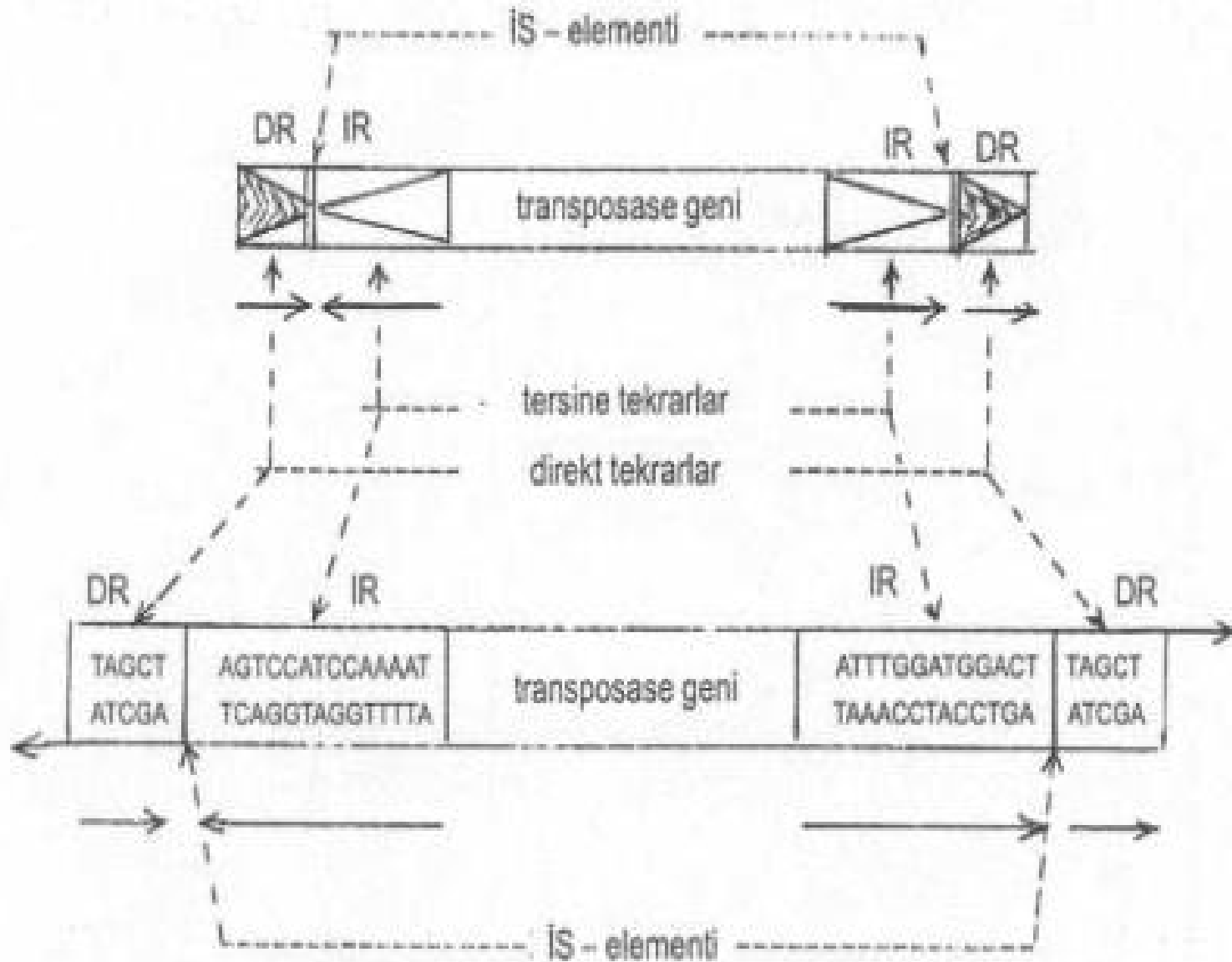
- Plazmid insersiyonu

- Faz varyasyonu

İnserisyon Sekansları (İS-Elementleri)

- Elementlerin iki ucunda tersine tekrarlanan sekanslar (inverted repeat, IR) bulunmaktadır.
- Bunları dış taraftan çevreleyen, yeni girdiği alıcıya ait hedef bölgede ve aynı oriyantasyonda, direkt tekrarlanan (direct repeat, DR) nukleotid sekansları yer almaktadır.
- İS-elementlerinin iki ucunda lokalize olan tersine tekrarların arasında, bu elementlerin DNA üzerinde yer değiştirmesinde rolü olan ve elementlerin sınırlarını iyi belirleyen transpozisyon enzimini kodlayan gen (transposase) bulunur.

İnseriyon Sekansları (İS-Elementleri)



Hedef bölge
 ----- TAGCT A -----
 ----- A TCGAT -----
 Konakçı DNA'sı

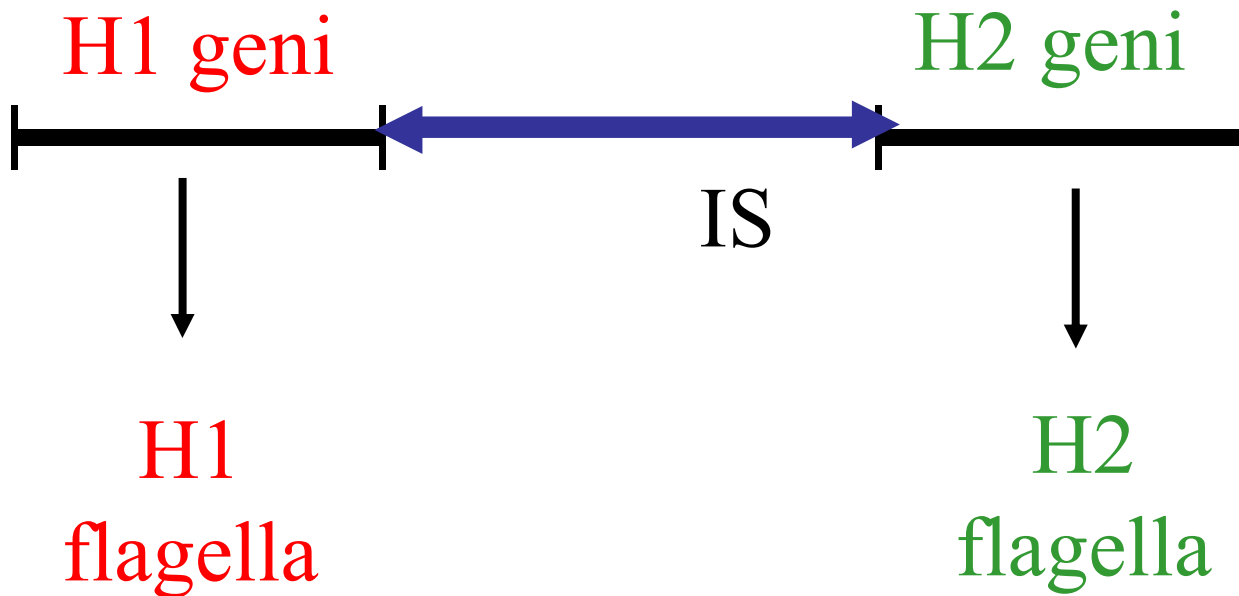
----- TAGCT A -----
 ----- A TCGAT -----
 Hedef bölgede
 asimetrik kesim
 ve aralık oluşması

IS-elementi
 ----- TAGCT A -----
 ----- A TCGAT -----
 Oluşan aralığa
 IS-elementinin
 girmesi

DR IS-elementi DR
 ----- T AGCT A -----
 ----- A TCGA T -----
 Hedef bölgede
 dubleksasyon ve
 direkt tekrarların
 (DR) oluşması

IS- elementi
 ----- T DR A -----
 ----- A DR T -----
 Konakçı DNA'sına
 inserte olmuş bir
 IS-elementi

Salmonella H Antijenlerinde Faz Varyasyonu



Yer Değiştirebilen Genetik Elementler

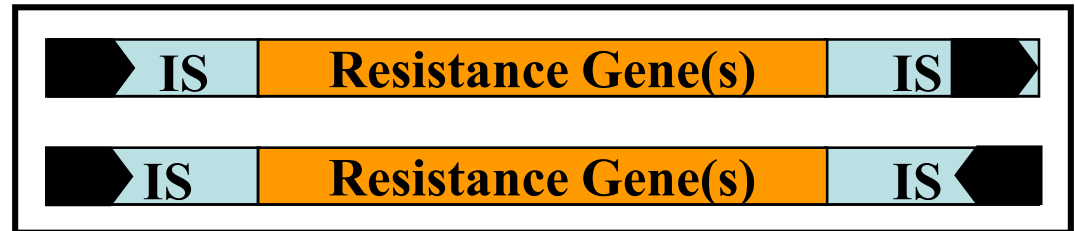
- **Transposonlar (Tn)**
- İS-elementlerine oranla, daha büyük ve komplike bir özellik gösterirler.
- Yapıları
- İki ucunda tersine tekrar (IR), bunları dıştan çevreleyen direkt tekrar (DR) ve ortada da transposase geni
- Özel marker genleri (antibiyotiklere, kemoterapötiklere, metallere dirençlilik, vs) taşırlar.

Transposable Genetik Element Tipleri

- Transposonlar (Tn)
 - Tanım: Transpozisyonda rol alan genler dışında elementler taşımazlar.
 - Nomenklatur - Tn10
 - Komposit Transpozonlar iki ucunda İS-elementi (İS modülü) bulunur

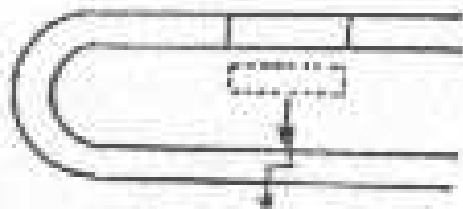
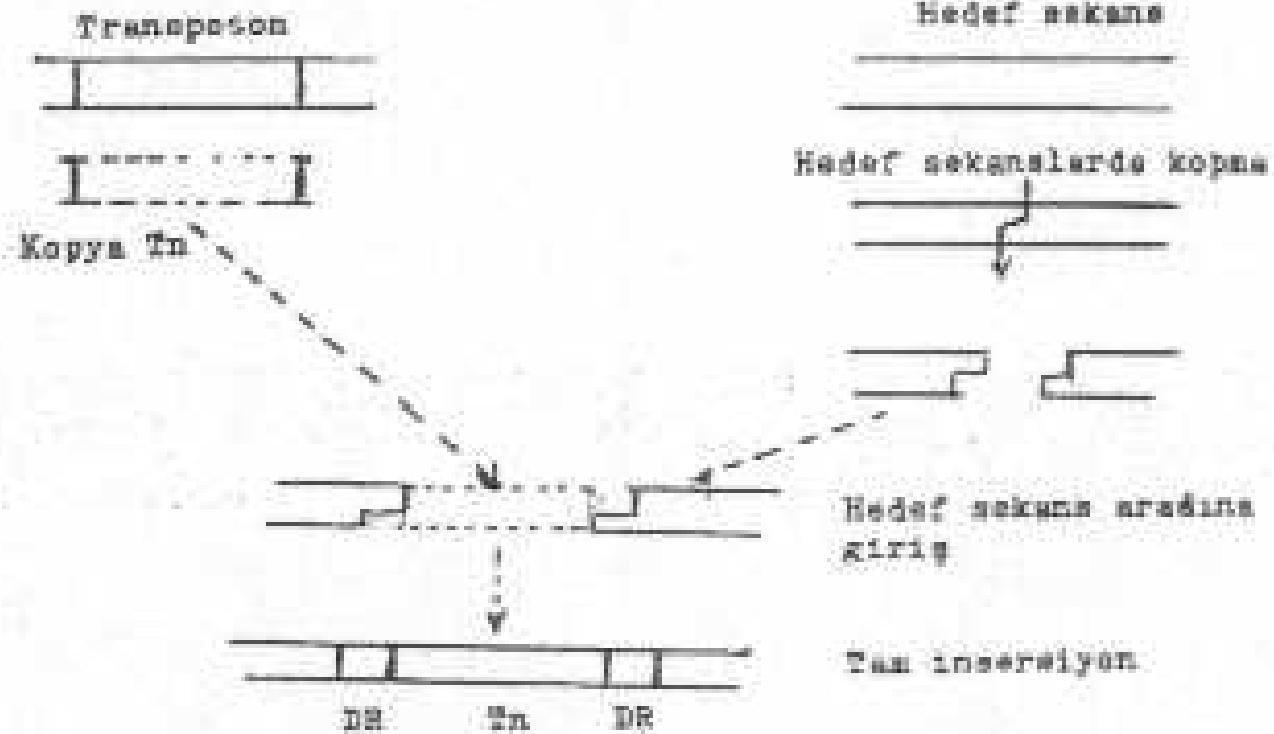
– Önemi

- Antibiyotik direnci

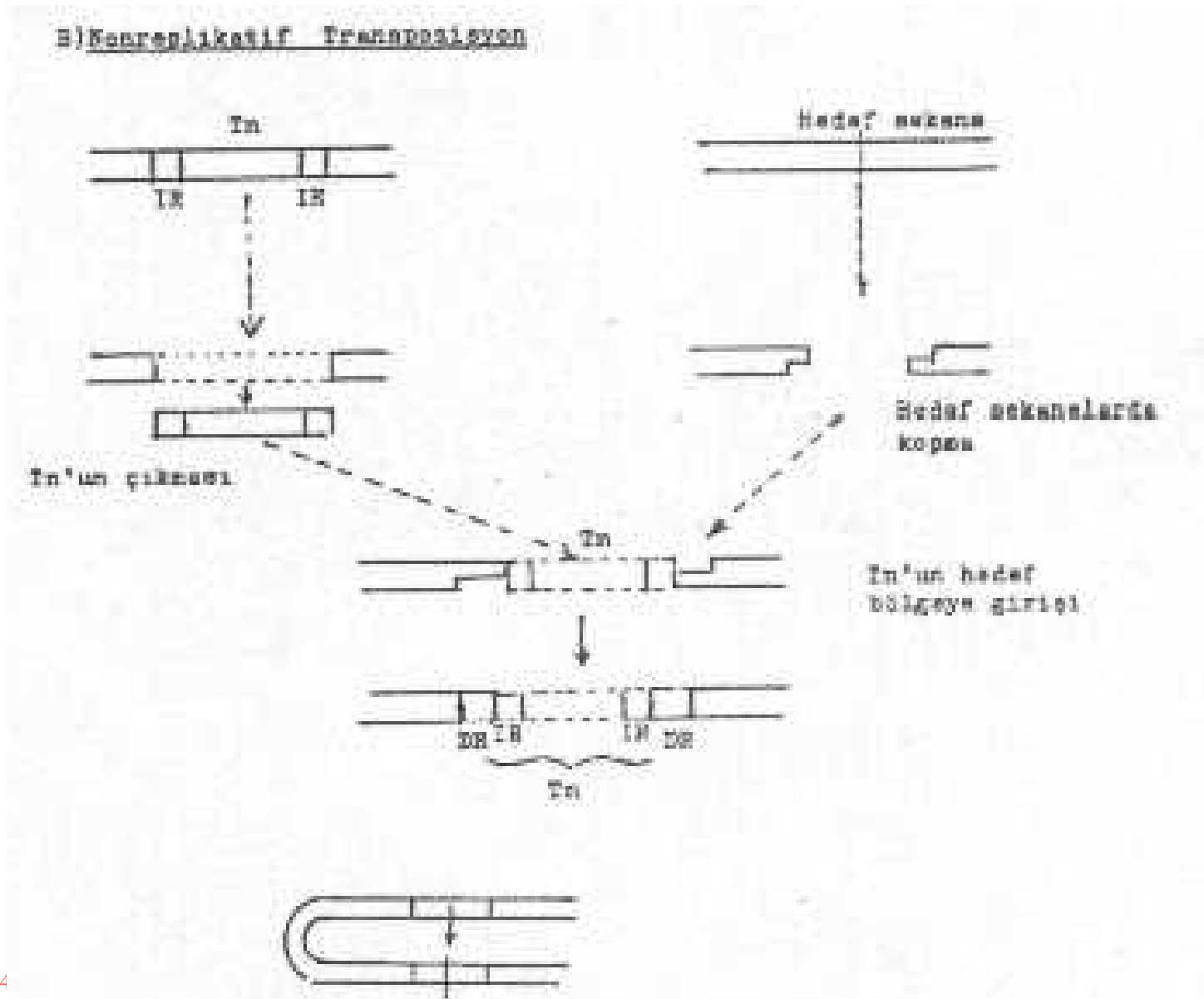


Replikatif Transpozisyon

1) Replikatif Transpozisyon



Nonreplikatif (Direkt) Transpozisyon



Konservatif Transpozisyon

- Bu tür transpozisyon lambda fajında olduğu gibi gerçekleştirilir.
- Karşılıklı gelen sekanslar arasında çapraz rekombinasyonla integrasyon meydana gelir.

Mu Fajı (Mutator Faj)

- *E. coli* 'ye ait olan bu faj, aynı bir transposon gibi bakterinin kromozomu üzerinde yer değiştirebilir ve çeşitli yerlere girebilir. Böyle durumlar mutasyonlara yol açmaktadır.

“Dev transposon” Mu fajı, *E. coli* 'de mutasyon meydana getirmek için kullanılmaktadır. Mu fajı, konakçı bakteriyi infekte ettikten sonra, genomu nonreplikatif tarzda integre olur.

İntegronlar

- Klinik materyallerden izole edilen, *Enterobacteriaceae* familyasına ve pseudomonaslara ait mikroorganizmalarda, bir çok rezistenslik genleri taşıyan ve İntegron olarak tanımlanan yeni hareketli elementlerin (mobile element) varlığı bildirilmiştir. Bunlara, ya bağımsız olarak plasmidlerde veya Transposon (Tn21) ailesinin bir bölümü olarak rastlanılmaktadır.

Bakterilere rezistenslik kazandırmada önemli rolleri olduğu