

# GEN MUTASYONU, DNA ONARIMI ve TRANSPOZİSYON



# DNA'nın genetik fonksiyonları

- Bilgiyi depolama,
- Eşleme (replike etme),
- Aktarma ve
- Deşifre etme becerisi

# DNA molekülündeki hatalar

- Genetik farklılığa,
- Fenotipik çeşitlenmeye,
- Evrime,
- Hücre ölümüne,
- Genetik hastalıklara ve
- Kansere yol açar.

# Fenotipik çeşitliliğin nemi

- Fenotipik eşitlilik olmaksızın genetik analizlerin yürütülmesi imkansız olurdu.
- Örneğin, bezelyeler tek tipik fenotipik özellik gsterselerdi, Mendel hiçbir temel bulamayacaktı.

# Mutasyonlar çeşitli şekillerde sınıflandırılır

- Mutasyon, DNA dizisindeki değişiklik olarak tanımlanabilir.
- Mutasyon:
  - Tek bir baz çifti yer değişiminden,
  - Bir delesyon (çıkma) ya da
  - Bir veya daha fazla baz çiftinin insersiyonundan (girme) oluşabilir.

# Mutasyonlar eşitli Şekillerde sınıflandırılır

- Mutasyonlar fenotipte tanımlanabilen değişikliğe yol açabilir ya da açmayabilir.
- Organizmanın karakteristiklerini değiştirme derecesi, mutasyonun nerde olduğuna ve mutasyonun geni ne denli değiştirdiğinin derecesine bağlıdır.

# Mutasyonlar çeşitli şekillerde sınıflandırılır

- Mutasyonlar fenotipte değişikliğe sebep olabilir veya olmayabilir, farklı derecelerde görülür.
- Mutasyonlar somatik hücrelerde ya da germ hücrelerinde (soyhattı) olabilir.
- Soyhattı hücrelerinde olanlar kalıtılabilir.
- Bunlar kalıtımla geçebilir, genetik çeşitlilik ve evrimin de temelini oluşturur.

## Spontan (kendiliğinden), uyarılmış ve adaptif (uyumsal) mutasyonlar

- Mutasyonlar, spontan ya da uyarılmış mutasyonlardandır.
- Spontan mutasyon, doğal olarak oluşan mutasyonlardır.
- Genlerin nükleotid dizilerindeki rastgele değişiklikdir.
- Enzimatik DNA işlemesi (replikasyonu) sırasında oluşur.
- Bu değişiklik fenotipe yansır.



# Spontan (kendiliğinden), uyarılmış ve adaptif (uyumsal) mutasyonlar

- Uyarılmış mutasyon, herhangi bir dış faktörün etkisi sonucu oluşan mutasyonlardır.
- Doğal ya da yapay ajanlar sonucu oluşabilir.

# Spontan (kendiliğinden), uyarılmış ve adaptif (uyumsal) mutasyonlar

- Örneğin;
  - Kozmik mineral kaynaklardan yayılan radasyon ve
  - Güneşten gelen ultraviyole radasyonu,organizmaların çoğunda uyarılmış mutasyonlara sebep olan faktörler arasındadır.

# Mutasyonlar yapay olarak uyarılabilir

- Mutasyonların yapay olarak uyarıldıklarına dair örnekler:
  - Hermann J. Muller, X ışınlarının *Drosophila*'da mutasyona yol açtığını rapor etmiştir.
  - Lewis J. Stadler, X ışınlarının arpa üzerinde aynı etkiyi yaptığını belirlemiştir.

# Luria-Delbrück Fluctuation testi

- Salvador Luria ve Max Delbrück, mutasyonların spontan olarak oluştuğuna dair ilk doğrudan kanıtı sundular.
- Bu deneye 'Luria-Delbrück Fluctuation Test' denmektedir.

# Luria-Delbrück Fluctuation testi

- Luria ve Delbrück, deneylerini *E. coli* / T1 sistemi ile gerçekleştirdiler.
- Dipnot: T1 bakteriyofajı *E. coli* hücrelerine enfekte eden ve enfekte olan bakterileri parçalayan litik bir bakteri virüsüdür.

# Luria-Delbrück Fluctuation testi

- Luria ve Delbrück, *E. coli*'nin faja duyarlı çok sayıda küçük sıvı kültürünü oluşturdular.
- Daha sonra her kültürün çok sayıda örneğini agarlı besiyerinde T1 bakteriyofajı içeren petri kabına ektiler.
- Tam bir kantitatif veri elde etmek için, inkübasyondan önce her petri kutusuna eklenen bakterilerin toplam sayılarını da belirlediler.

# Luria-Delbrück Fluctuation testi

- İnkübasyonu takiben, her kutuda, bakteriyofaj varlığında büyüyen, faja dirençli bakteri kolonileri sayıldı.
- Sadece mutant hücreler yaşadıklarından, bu işlemi yapmak oldukça kolaydı.

# Adaptif (uyumsal) mutasyon

- Gen mutasyonunun doğasını seçebildiği ya da yönlendirebildiği düşünölen mutasyondur.
- Bu mutasyonlar 2 hipotez altında incelenmiştir.



# Hipotez 1: Adaptif mutasyon

- Her petri kutusunda sabit sayıda bakteri ve faj bulunur.
- İnkübasyon süresi sabit ise;
  - Dirençli bakteri sayısında, petri kutusundan petri kutusuna ve deneyden deneye çok az oynama olur.

# Hipotez 1: Spontan mutasyon

- Mutasyonlar inkübasyonun geç döneminde oluştuklarında, çok daha az sayıda dirençli hücre üreyecektir.
- Bu nedenle dirençli hücre sayısının, hücre kültürü içerisinde spontan mutasyonların çoğunun değişik zamanlarda oluşumunu yansıtacak şekilde deneyden deneye oynadığı görülür.

# Hücre tipi ya da kromozoma göre mutasyonların sınıflandırılması

- Mutasyonlar oluştukları hücre tipi ya da kromozoma bölgelere göre sınıflandırılırlar.
  - Somatik mutasyonlar; soy hattı hücreleri dışında herhangi bir hücrede olabilirler.
  - Soy hattı mutasyonları, gametlerde oluşur.
  - Otozomal mutasyonlar, otozomlar üzerinde yer alan genlerde oluşur.
  - X'e bağlı mutasyonlar, X kromozomu üzerinde bulunan genlerde oluşur.

# Hücre tipi ya da kromozoma göre mutasyonların sınıflandırılması

- Somatik hücrelerdeki mutasyonlar gelecek nesillere aktarılamaz.
- Diploit bir organizmanın somatik bir hücresinde bir otozomal resesif/çekinik mutasyon olduğunda tanımlanabilir.
- Bir fenotipe yol açması olasılığı azdır.
- Bu mutasyonların yabanıl allel tarafından maskelenmesi olasıdır.

## Hücre tipi ya da kromozoma göre mutasyonların sınıflandırılması

- Otozomal dominant mutasyonlar fenotipik olarak görülür.
- Homogametik dişilerin gametlerinde oluşan X'e bağı resesif mutasyonlar etkilenmiş X kromozomunu alan hemizigot erkeklerde ifade edilebilir.

# Haployetmezlik

- Bazı durumlarda, resesif mutant bir allel heterozigot ya da hemizigot iken tanımlanabilen bir fenotipe yol açar.
- Bu durum haployetmezlik olarak bilinir.
- Bazı insan hastalıkları transkripsiyon faktörlerini kodlayan genlerde haployetmezlik sonucu oluşur.

# Moleküler değişiklik tipine gore sınıflandırma

- Nokta mutasyon
- Yanlış anlamlı (missense) mutasyon
- Anlamsız (nonsense) mutasyon
- Sessiz (silent) mutasyon

# Nokta ve yanlış anlamlı (missense) mutasyonlar

- Bir DNA molekülünde bir baz çiftinin diğeri bir baz çiftine dönüşümü baz yer değıştirme ya da nokta mutasyonu olarak adlandırılır.
- Bir genin protein kodlayan kısmındaki bir tripletteki bir nükleotitin değışmesi yeni bir aminoasit oluşumuna yol açar ve,
- Bu duruma yanlış anlamlı mutasyon (missense mutation) denir.



# Anlamsız (nonsense) mutasyon

- Bir başka durumda triplet, bir durdurucu kodona dönüşür ve protein sentezinin sonlanmasını sağlar.
- Böylece anlamsız (nonsense) mutasyon oluşur.

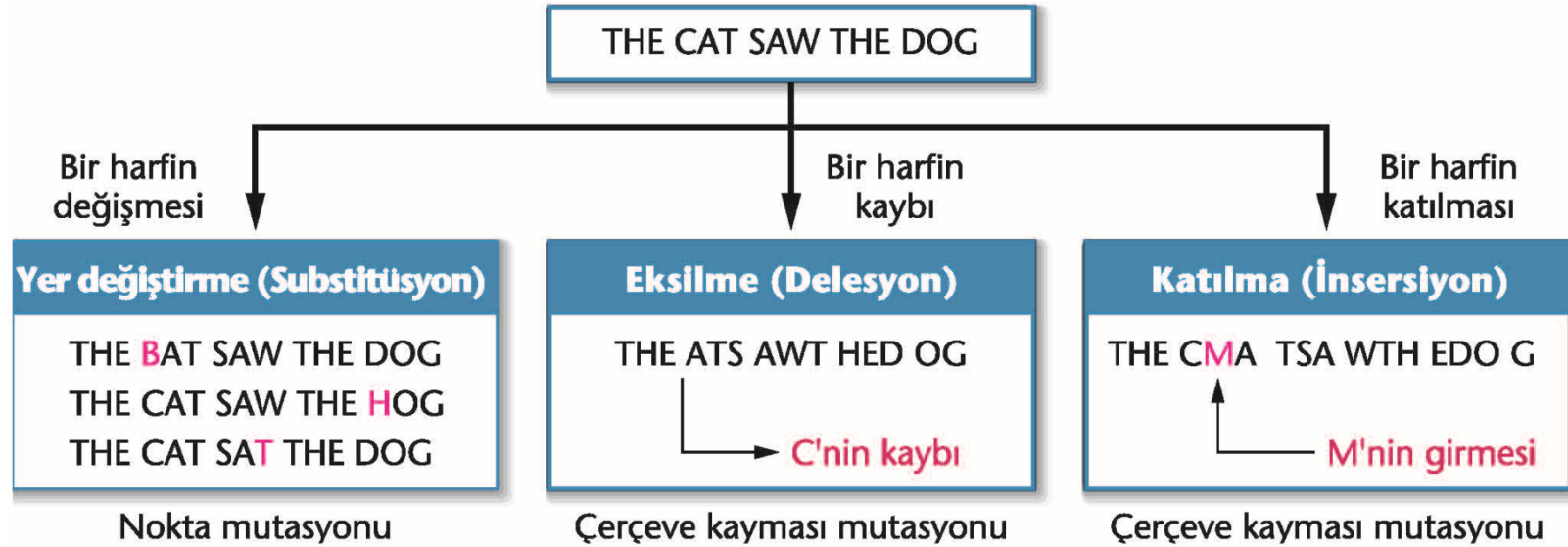
# Sessiz (silent) mutasyon

- Nokta mutasyonu bir kodonu değiştirir fakat proteinin o pozisyonda bir aminoasit değişikliğine yol açmazsa sessiz mutasyon oluşur.
- Eğer bir pirimidin bir pirimidinle ya da bir pürin bir pürinle yer değiştirirse transisyon (geçiş) olmuştur.
- Pürinle pirimidin karşılıklı yer değiştirirse transversiyon (değişim) olmuştur.

# Çerçeve kayması mutasyonları

- Gen içinde herhangi bir noktaya bir ya da daha fazla nükleotitin girmesine insersiyon, çıkmasına ise delesyon adı verilir.
- Tek bir harfin kaybedilmesi veya eklenmesi sonraki tüm üç harfli kelimelerin değişmesine sebep olur buna çerçeve kayması mutasyonu denir.

# Substitüsyon-Delesyon-İnserisyon



# Fenotipik etkilerine göre sınıflandırma

- İşlev kaybı (loss of function) mutasyonu
- İşlev kazancı (gain of function) mutasyonu
- Morfolojik bir özelliği etkileyen mutasyonlar
- Besinsel (nutritional) veya biyokimyasal etki gösteren mutasyonlar
- Davranış mutasyonları
- Düzenleyici mutasyonlar
- Öldürücü (letal) mutasyonlar
- Koşullu mutasyonlar
- Nötral mutasyonlar

# İşlev kaybı/kazancı mutasyonları

- İşlev kaybı (loss-of-function) mutasyonu gen ürününün işlevini yok eden mutasyondur.
- Aynı zamanda yokluk (null) ya da nakavt (knockout) olarak bilinir.
- İşlev kaybı mutasyonlarının baskın ya da çekinik olması olasıdır.
- İşlev kazancı (gain-of-function) mutasyonu yeni bir işlev kazanmasına yol açar.
- Bu mutasyonların çoğu dominanttır (baskındır).

## Besinsel (nutritional) veya biyokimyasal etki gösteren mutasyonlar

- Bakteri veya mantarlarda tipik bir besinsel mutasyon, bir aminoasit veya vitamini sentezlemedeki yetersizliktir.
- İnsanda orak hücre anemisi ve hemofili, biyokimyasal etki gösteren mutasyon örnekleridir.

# Davranış mutasyonları

- Organizmanın davranış kalıplarını etkileyen mutasyonlardır.
- Örneğin; hayvanların günlük ritimleri veya eşleşme davranışları değişebilir.



# Düzenleyici mutasyonlar

- Regülatör bir gendeki mutasyon, normal düzenleyici işlemleri bozabilir ve bir geni süresiz olarak aktif ya da inaktifleştirebilir.

# Koşullu mutasyonlar

- Bu mutasyonlar, organizmanın yaşadığı çevreye bağımlı olarak değişkenlik gösterirler.
- Örneğin; sıcaklığa duyarlı mutasyonlar.

## Spontan mutasyon sıklığı organizmalar arasında büyük farklılık gösterir

- Çalışılan tüm organizmalar için spontan mutasyon sıklığı çok düşüktür.
- Mutasyon sıklığı farklı organizmalar arasında önemli ölçüde değişir.
- Aynı tür içinde bile spontan mutasyon sıklığı genden gene değişir.

## Spontan mutasyon sıklığı organizmalar arasında büyük farklılık gösterir

- Organizmalar arasındaki değişkenlik, onların hata okuma ve onarım sistemlerinin göreceli etkinliklerinden dolayı oluşabilir.

TABLO 15.2

FARKLI ORGANİZMALARDA ÇEŞİTLİ LOKUSLARDAKİ SPONTAN MUTASYONLARIN SIKLIĞI

Organizma	Özellik	Gen	Sıklık	Birim
Bakteriyofaj T2	Lizis inhibisyonu	$r \rightarrow r^+$	$1 \times 10^{-8}$	Gen replikasyonu başına
	Konak seçimi ("range")	$h^+ \rightarrow h$	$3 \times 10^{-9}$	
	Laktöz fermentasyonu	$lac^- \rightarrow lac^+$	$2 \times 10^{-7}$	
	Laktöz fermentasyonu	$lac^+ \rightarrow lac^-$	$2 \times 10^{-6}$	
	T1 fajına karşı direnç	$Tl-s \rightarrow Tl-r$	$2 \times 10^{-8}$	
	Histidin gereksinimi	$his^+ \rightarrow his^-$	$2 \times 10^{-6}$	
	Histidin bağımsızlığı	$his^- \rightarrow his^+$	$4 \times 10^{-8}$	
<i>E. coli</i>	Streptomisin bağımlılığı	$str-s \rightarrow str-d$	$1 \times 10^{-9}$	Hücre bölünmesi başına
	Streptomisin duyarlılığı	$str-d \rightarrow str-s$	$1 \times 10^{-8}$	
	Radyasyona direnç	$rad-s \rightarrow rad-r$	$1 \times 10^{-5}$	
	Lösin bağımsızlığı	$leu^- \rightarrow leu^+$	$7 \times 10^{-10}$	
	Arjinin bağımsızlığı	$arg^- \rightarrow arg^+$	$4 \times 10^{-9}$	
	Triptofan bağımsızlığı	$trp^- \rightarrow trp^+$	$6 \times 10^{-8}$	
<i>Salmonella typhimurium</i>	Triptofan bağımsızlığı	$trp^- \rightarrow trp^+$	$5 \times 10^{-8}$	Hücre bölünmesi başına
<i>Diplococcus pneumoniae</i>	Penisiline direnç	$pen^s \rightarrow pen^r$	$1 \times 10^{-7}$	Hücre bölünmesi başına
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	Streptomisin duyarlılığı	$str^r \rightarrow str^s$	$1 \times 10^{-6}$	Hücre bölünmesi başına
<i>Neurospora crassa</i>	İnositol gereksinimi	$inos^+ \rightarrow inos^-$	$8 \times 10^{-8}$	Aseksüel sporlarda mutant sıklığı
	Adenin bağımsızlığı	$ade^- \rightarrow ade^+$	$2 \times 10^{-8}$	
<i>Zea mays</i>	Küçük tohumlar	$sh^+ \rightarrow sh^-$	$1 \times 10^{-6}$	Her nesildeki gamet başına
	Mor	$pr^+ \rightarrow pr^-$	$1 \times 10^{-5}$	
	Renksiz	$c^+ \rightarrow c^-$	$2 \times 10^{-6}$	
	Tatlı	$su^+ \rightarrow su^-$	$2 \times 10^{-6}$	
<i>Drosophila melanogaster</i>	Sarı vücut	$y^+ \rightarrow y$	$1.2 \times 10^{-6}$	Her nesildeki gamet başına
	Beyaz göz	$w^+ \rightarrow w$	$4 \times 10^{-5}$	
	Kahverengi göz	$bw^+ \rightarrow bw$	$3 \times 10^{-5}$	
	Ebony (Siyah) vücut	$e^+ \rightarrow e$	$2 \times 10^{-5}$	
	Gözsüz	$ey^+ \rightarrow ey$	$6 \times 10^{-5}$	
<i>Mus musculus</i>	Benekli post	$s^+ \rightarrow s$	$3 \times 10^{-5}$	Her nesildeki gamet başına
	Açık post rengi	$d^+ \rightarrow d$	$3 \times 10^{-5}$	
	Kahverengi post	$b^+ \rightarrow b$	$8.5 \times 10^{-4}$	
	Pembe göz	$p^+ \rightarrow p$	$8.5 \times 10^{-4}$	
<i>Homo sapiens</i>	Hemofili	$h^+ \rightarrow h$	$2 \times 10^{-5}$	Her nesildeki gamet başına
	Huntington hastalığı	$Hu^+ \rightarrow Hu$	$5 \times 10^{-6}$	
	Retinoblastoma	$R^+ \rightarrow R$	$2 \times 10^{-5}$	
	Epiloia	$Ep^+ \rightarrow Ep$	$1 \times 10^{-5}$	
	İris yokluğu (Aniridi)	$An^+ \rightarrow An$	$5 \times 10^{-6}$	
	Cücelik (Akondroplazi)	$A^+ \rightarrow A$	$5 \times 10^{-5}$	

# Nötral mutasyonlar

- Mutasyonların çoğunun gen kodlamayan geniş genom kısımlarında yer alması daha olasıdır.
- Bunlar genellikle gen ürünlerini etkileyemediklerinden nötral mutasyonlar olarak düşünülür.

# DNA replikasyon hataları

- DNA polimerazlar bu replikasyon hatalarının çoğunun yapılarında bulunan 3'-5' yönünde çalışan ekzonükleazlarını kullanarak düzeltebilmelerine karşın,
- Yanlış girmiş nükleotitler replikasyondan sonra kalabilirler.

# DNA replikasyon hataları

- Bazların, tautomerler diye bilinen formları da replikasyon sırasında yanlış eşlemeye yol açabilir.
- Bu hatalar ağırlıklı olarak nokta mutasyonlarına yol açar.



# Replikasyon kayması

- Nokta mutasyonlarına ek olarak, DNA replikasyonu küçük insersiyon ve delesyonlara neden olabilir.
- Bu mutasyonlar;
  - Replikasyon sırasında DNA kalıbının bir zincirinin ilmik oluşturup ayrıldığı zaman veya
  - DNA polimerazın kayıp yeniden başlangıç noktasına döndüğü zaman oluşur.

# Replikasyon kayması

- Replikasyon kayması DNA'nın herhangi bir bölgesinde olabilir.
- Fakat tekrarlayan dizilere sahip bölgelerinde ve sıcak noktalarda daha fazla görülür.

# Tautomerik kaymalar

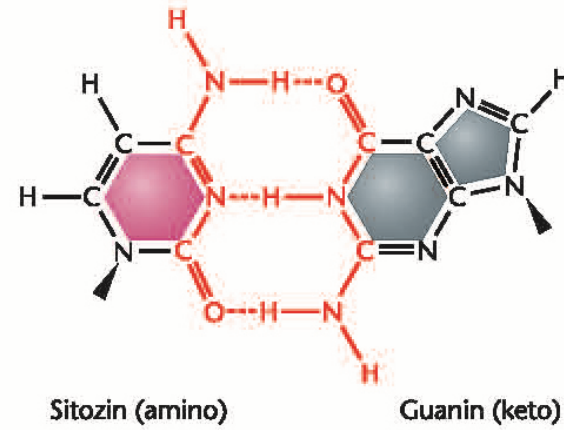
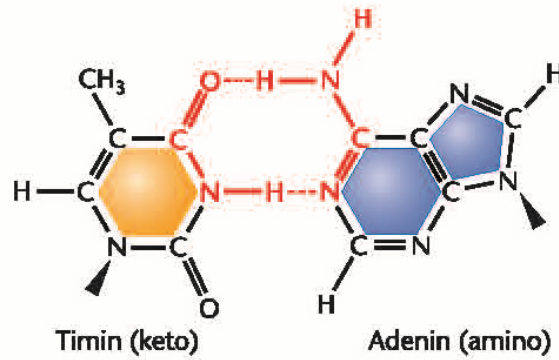
- Tautomerik formlar, bazların alternatif kimyasal formlarıdır.
- Biyolojik öneme sahip tautomerler;
  - Sitozin ve adeninin amino-imino formları ve
  - Timin ve guaninin keto-enol formlarıdır.

# Tautomerik kaymalar

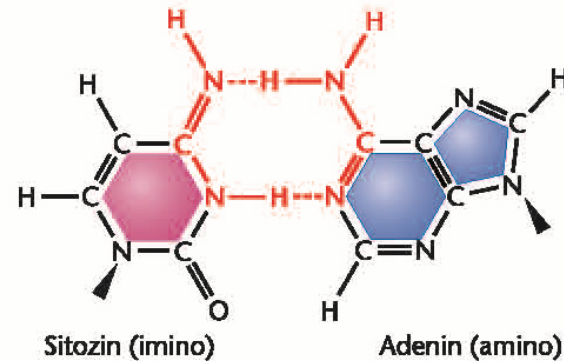
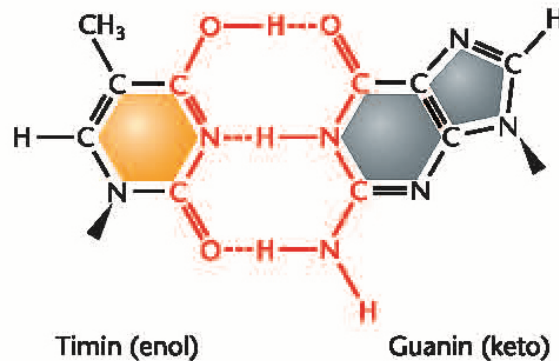
- Bu kaymalar molekülün bağ özelliğini değiştirebilir.
- Dolayısıyla baz çifti değişimlerine ve mutasyonlara yol açabilir.

# Tautomerik kaymalar

## (a) Standart baz-eşleşme düzenlemeleri



## (b) Anormal baz-eşleşme düzenlemeleri



# Depürinasyon

- Çift sarmal DNA'daki azotlu bazlardan birinin kaybolması durumudur.
- Genellikle pürinlerde meydana gelir (adenin veya guanin).
- Pürin halkasının 9. pozisyonu ile deoksiribozun 1'-C atomunu bağlayan glikozidik bağ kırılırsa bu bazlar kaybolurlar.
- Bu durum, DNA'nın bir zincirinde apürinik (AP) bölge oluşumuna yol açar.

## AP bölgesi onarılmazsa:

- DNA replikasyonu sırasında o pozisyonda kalıp rolü oynayacak hiçbir baz bulunmayacaktır.
- Sonuçta DNA polimeraz, bu bölgedeki nükleotitleri rastgele yerleştirebilir.

# Deaminasyon

- Adenin ve sitozindeki bir amino grubunun keto grubuna dönüşmesidir.
- Sonuçta sitozin urasile ve adenin hipoksantine dönüşür.
- Replikasyon sırasında her iki molekülün de baz eşleşme özellikleri değişmiş olur.
- Deaminasyon spontan olarak ya da nitroz asit ( $\text{HNO}_2$ ) gibi kimyasal mutajenlerle muamele sonucu oluşabilir.



# Oksidatif hasar

- Hücrelerde, normal oksijenli solunum sırasında reaktif oksijen türleri oluşur.
- Bu radikaller (süperoksitler, hidroksil radikalleri, hidrojen peroksit vb.), DNA'nın yapısal bütünlüğü için tehdit oluştururlar.
- Bu maddeler, yüksek enerjili radyasyon sonucunda da oluşabilir.
- DNA'daki bazlar üzerinde 100'den fazla farklı tip kimyasal modifikasyon oluşturabilirler.

# Transpozonlar

- Yer değiştirebilen genetik elementlerdir.
- Hem prokaryotlarda hem de ökaryotlarda spontan mutasyonlara neden olurlar.

# Uyarılmış mutasyonlar radyasyon veya kimyasallardan kaynaklanır

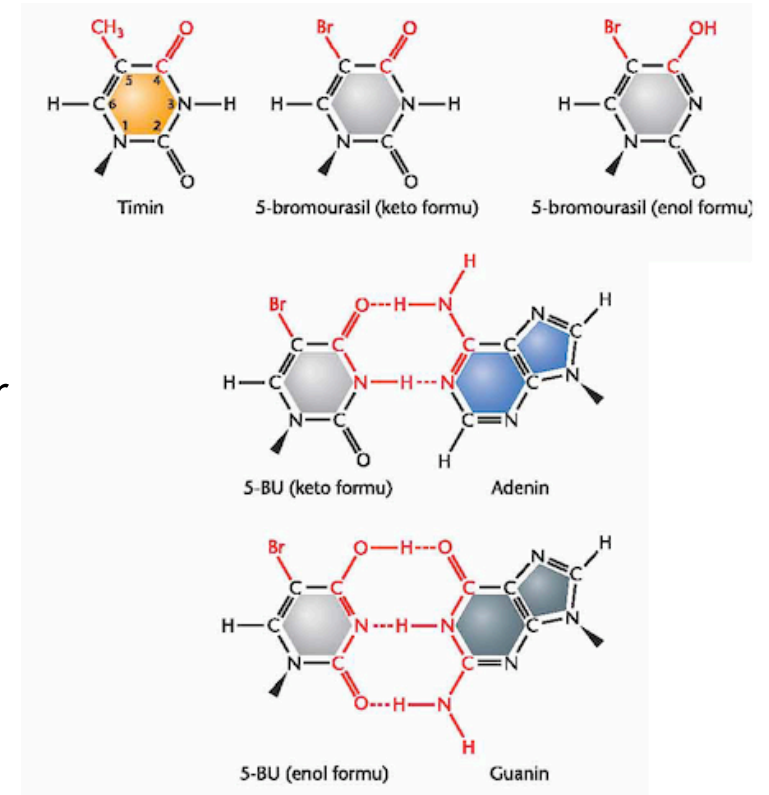
- Yaşadığımız çevrede bol miktarda mutajen bulunmaktadır.
- Doğal mutajenler;
  - Mantar toksinleri
  - Kozmik ışınlar
  - UV ışınları vb' dir.

# Uyarılmış mutasyonlar radyasyon veya kimyasallardan kaynaklanır

- Yapay mutajenler ise;
  - Endüstriyel kirleticiler,
  - Tıbbi X ışınları
  - Sigara dumanındaki kimyasallar vb'dir.

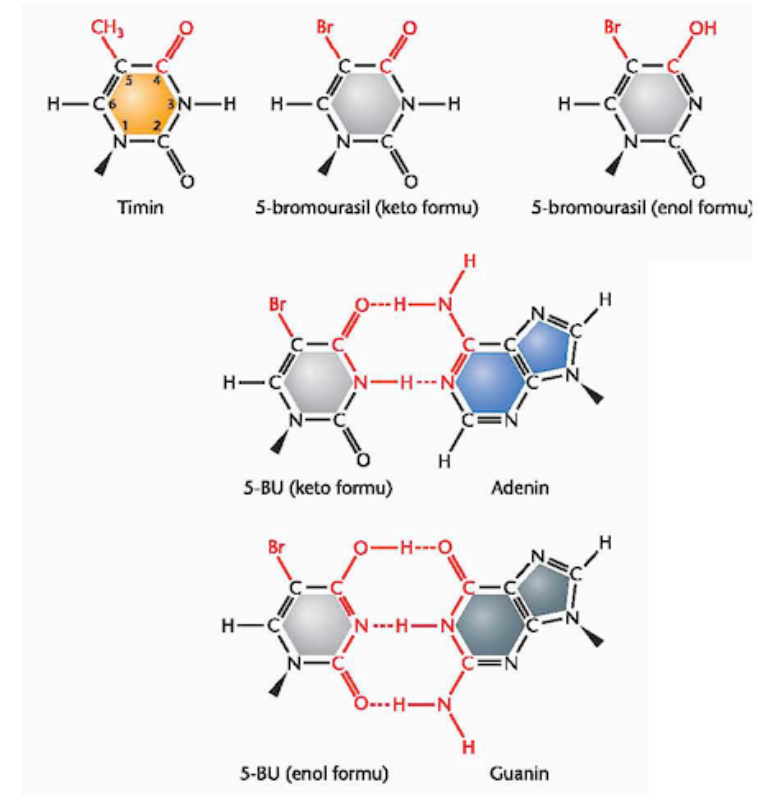
# Baz analogları

- Nükleik asit biyosentezi sırasında pürin ya da pirimidinlerin yerine geçebilen mutajenik kimyasallardır.
- 5 bromourasil (5-BU), urasilin bir türevidir.
- Eğer 5-BU deoksiriboza bağlanırsa, nükleozit analogu olan bromodeoksiuridin (BrdU) oluşur.



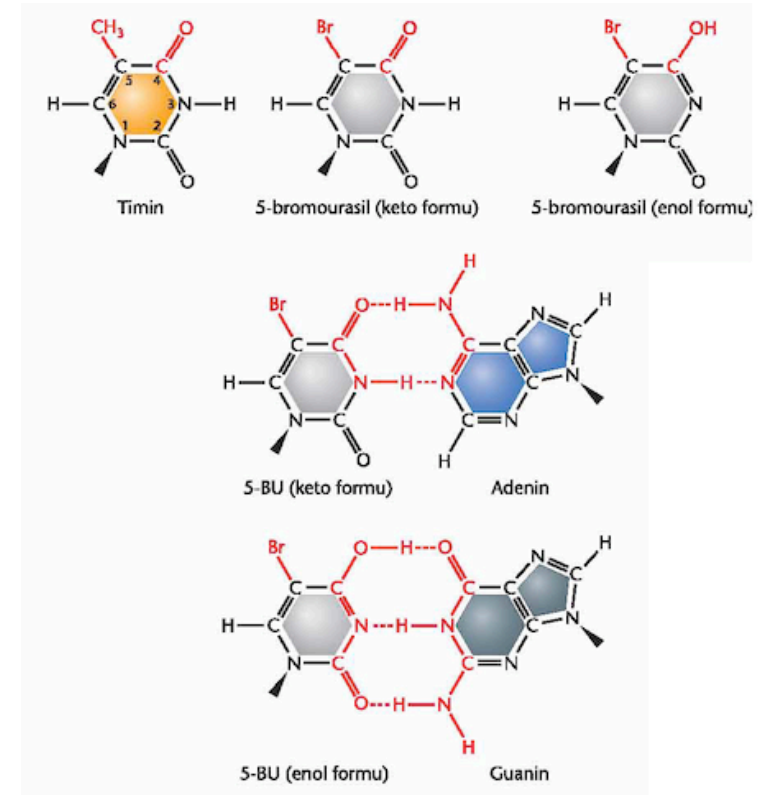
# Baz analogları

- 5-BU timin yerine DNA'ya girebilir.
- Eğer enol formuna dönüşecek olursa adenin yerine guanin ile eşleşecektir (transisyon meydana gelir).
- Ayrıca 5-BU'nun DNA'da bulunuşu, UV ışınlarına karşı duyarlılığı artırır.



# Baz analogları

- Diğer bir baz analogu da adenin yerine geçen 2-aminopurin'dir (2-AP).
- 2-AP timin ile eşleşmeye yatkındır.
- Ancak replikasyonu takiben sitozin ile de eşleşebileceğinden, A-T yerine G-C eşleşmeleri meydana gelebilir.



# Alkilleyici ajanlar

- I. Dünya Savaşı'nda keşfedilen kükürt içeren hardal gazı alkilleyici bir ajandır.
- Nükleotitlerdeki amino veya keto gruplarına  $\text{CH}_3$  veya  $\text{CH}_3\text{CH}_2$  gibi bir alkil grubu ekler.
- Bu yolla oluşan 6-etil guanin, adeninin baz analogu gibi davranır ve timinle eşleşir.

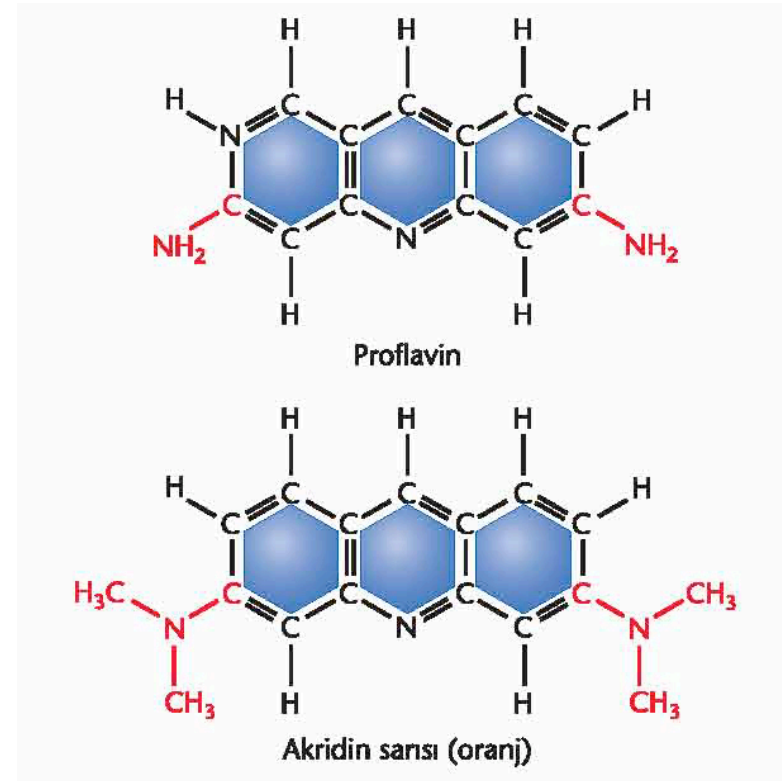


# Alkilleyici ajanlar

Yaygın İsim veya Sembol	Kimyasal İsim	Kimyasal Yapı
Hardal gazı (sülfür)	Di-(2-kloroetil) sülfid	$\text{Cl}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{Cl}$
EMS	Etilmetan sülfonat	$\text{CH}_3-\text{CH}_2-\text{O}-\text{S}(\text{O})_2-\text{CH}_3$
EES	Etiletan sülfonat	$\text{CH}_3-\text{CH}_2-\text{O}-\text{S}(\text{O})_2-\text{CH}_2-\text{CH}_3$

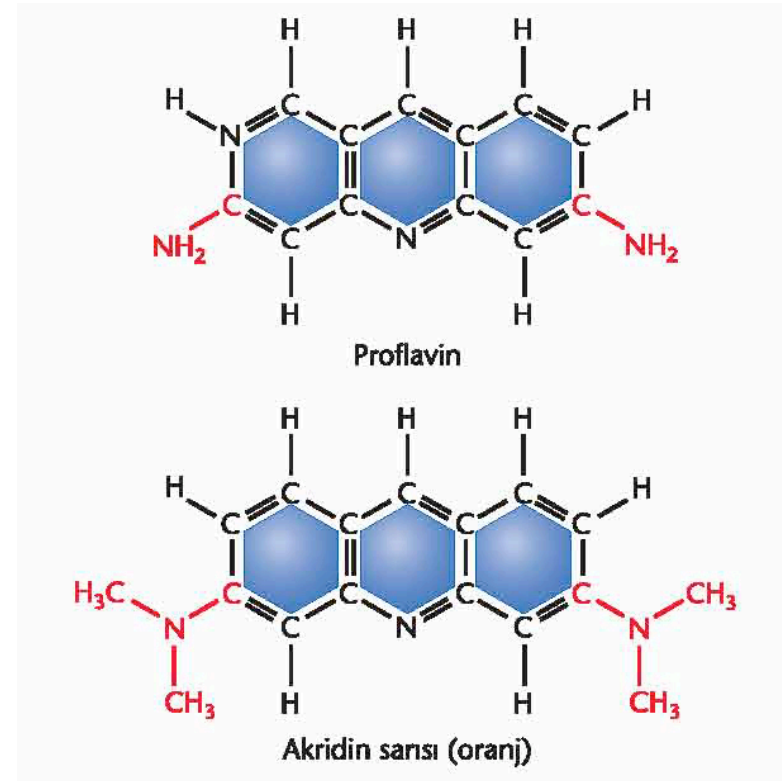
# Akridin boyaları

- Bu kimyasal mutajenler çerçeve kayması mutasyonlarına neden olur.
- En çok çalışılmış olanları proflavin ve akridin sarısıdır (oranj).



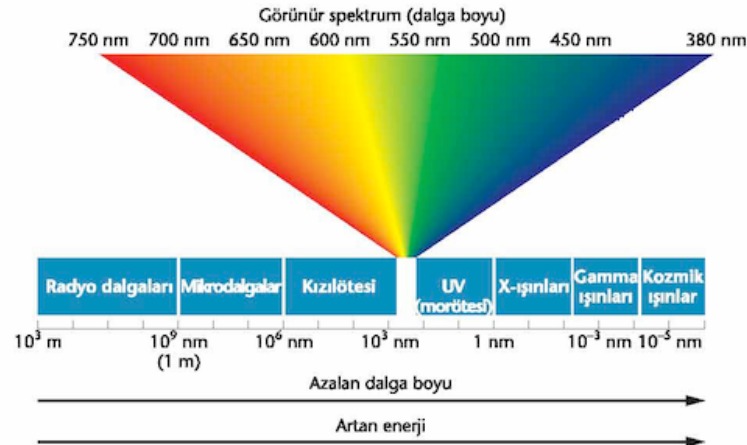
# Akridin boyaları

- Yaklaşık olarak bir azotlu baz çifti boyutlarındadırlar.
- DNA'nın tüm pürin ve pirimidinleri arasında sıkışarak girerler (intercalate).
- Bu olay DNA sarmalında genişlemeler oluşturur.
- Ayrıca delesyon, insersiyon ve çerçeve kayması mutasyonları meydana gelir.



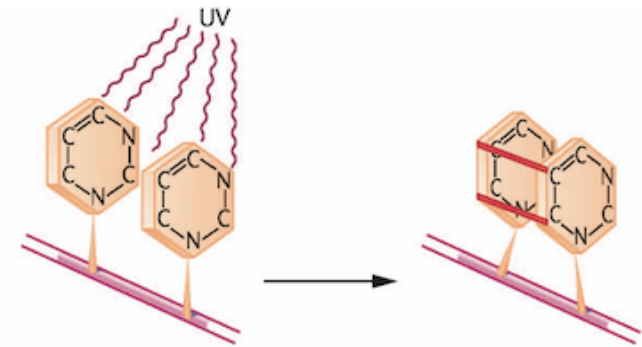
# UV ışınları ve timin dimerleri

- Dünyadaki tüm enerji, çeşitli dalga boylarında bir seri elektromanyetik bileşenden oluşur.
- Bu bileşenlerin tamamı elektromanyetik spektrum adını alır.
- Kısa dalga boylu ışınlar yüksek enerji taşıdıklarından organik moleküllere zarar verirler.



# UV ışınları ve timin dimerleri

- UV radyasyonu, yanyana duran iki timin bazı üzerinde pirimidin dimerleri oluşturur.
- T-T dimerlerinin yanı sıra, daha az sayıda da olsa C-C ve T-C dimerleri meydana gelebilir.
- Dimerler DNA konformasyonunu bozar ve normal replikasyonu durdurur.



Bir DNA zinciri boyunca komşu timidin birimleri arasında oluşan dimer

# İyonize radyasyon

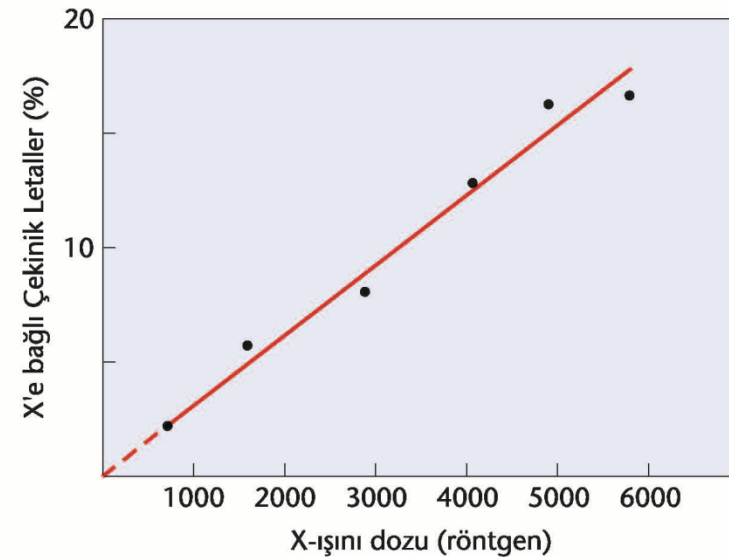
- X ışınları, gama ışınları ve kozmik ışınlar dokuların derinliklerine kadar girerler.
- Yolları boyunca karşılaştıkları moleküllerin iyonizasyonuna neden olurlar.
- X ışınları hücreye girdiğinde, radyasyonun karşılaştığı moleküllerin atomlarından elektron atılır.
- Böylece kararlı moleküller ve atomlar, serbest radikallere ve reaktif iyonlara dönüşür.

# İyonize radyasyon

- Bu reaksiyonlar genetik materyali etkileyerek nokta mutasyonlar oluşturabilir.
- Fosfodiester bağlarını kırarak kromozom bütünlüğünü bozar.
- Buna bağlı olarak delesyonlar, translokasyonlar ve kromozomal parçalanmalar (fragmentation) oluşabilir.

# İyonize radyasyon

- Aşağıdaki şekilde uygulanan X ışını dozu ile X'e bağılı çekinik letal mutasyonların yüzdesi verilmiştir.
- X ışını dozu ile mutasyon uyarımı arasında doğrusal bir ilişki vardır.





# Gen dizilemeye dayalı mutasyon tespiti alımları

- Bu kısımda, gen dizileme çalışmaları ile genetik temeli aydınlatılmış bazı hastalıklara göz atacağız:
  - ABO kan grupları
  - Muskular distrofi
  - Kırılgan (fragile) X sendromu
  - Myotonik distrofi
  - Huntington hastalığı

# ABO kan grupları

- ABO sistemi, erisositler üzerinde bulunan bir dizi antijenik belirleyiciye dayanır.
- Bu sistemde glikozil transferaz enzimi önemli rol oynar.
- Bu enzimi kodlayan tek bir genin üç farklı alleli vardır:
  - I<sup>A</sup>
  - I<sup>B</sup>
  - I<sup>O</sup>

# ABO kan grupları

- $I^A$  ve  $I^B$  allellerinin ürünleri, H maddesini sırsıyla A ve B antijenlerine dönüştürür.
- $I^0$  allelinin ürünü ise H maddesini modifiye edemez.
- Glikozil transferaz geni, farklı ABO statüsündeki 14 kişide dizilenmiştir.
- $I^A$  ve  $I^B$  allelleri arasında 4 nükleotitik değişiklik saptanmıştır.

# ABO kan grupları

- I<sup>0</sup> allelinde ise çerçeve kayması mutasyonuna yol açan bir nükleotitlik delesyon vardır.
- mRNA transkripsiyonu tam yapılır, fakat translasyon sırasında delesyonun olduğu noktada okuma çerçevesi kayar.
- Okuma, çerçeve dışı devam eder ve bir durdurucu kodonla karşılaşınca kadar yaklaşık 100 nükleotit ilerler.
- Polipeptit zinciri erken sonlanır ve işlevsel olmayan bir ürün oluşur.

# Muskular distrofi

- Muskular distrofiler, ilerleyen kas zayıflığı ve dejenerasyonu ile belirginleşen genetik bir hastalık grubudur.
- Çeşitli tipleri vardır.
- Duchenne muskular distrofi (DMD) ve Becker muskular distrofi (BMD) X'e bağlı çekinik hastalıklardır.
- DMD'de kas dejenerasyonu daha hızlı ilerler, kalp ve akciğerleri etkiler.

# Muskular distrofi

- DMD'li erkekler, 12 yaşına kadar yürüme yeteneklerini kaybederler ve 20'li yaşların başlarında hayatlarını kaybederler.
- Etkilenmiş erkekler genellikle üreyemeden ölürlere.
- Kadınlar nadiren etkilenir.
- BMD ise kalp ve akciğerleri kapsamaz.

# Muskular distrofi

- Erişkin dönemden 50 ya da daha yukarı yaşa doğru yavaş yavaş ilerler.
- Her iki hastalıktan da sorumlu gen distrofin' dir.
- Yaklaşık 2.5 milyon baz çifti içeren büyük bir gendir.
- DMD ve BMD'ye yol açan mutasyonların 2/3'ü delesyon ve duplikasyonlardır.
- Kalan 1/3'ü ise nokta mutasyonlardır.

# Muskular distrofi

- DNA mutasyonlarının çoğu translasyonun erken sonlanmasına yol açar.
- Sonuçta, uygun olmayan distrofin transkripti parçalanır.
- BMD mutasyonları ise distrofin transkriptinin i dizilerini değiştirebilir, fakat okuma çerçevesinin translasyonunu değiştirmez.



# Muskular distrofi

- Buradan řu önemli sonucu çıkarmak mümkündür:
  - Tek nükleotitik yer değiştirme sonucu oluşan mutasyonlar, çerçeve kaymasına neden olanlara göre daha az fenotipik yıkıcı etkiye sahiptir.

# Üçlü nükleotit tekrarları

- Aşağıda verilen hastalıklar üçlü nükleotit (trinükleotit) tekrar dizilerindeki artışa bağlı olarak ortaya çıkmaktadır:
  - Kırılgan (fragile) X sendromu
  - Miyotonik distrofi
  - Huntington hastalığı

# Genetik antisipasyon (beklenti)

- Mutant fenotiplerin görülme yaşı ile trinükleotit tekrar sayıları arasında bir ilişki vardır.
- Tekrar sayısı ne kadar fazla ise hastalık o kadar erken yaşta başlar.
- Bu duruma genetik antisipasyon (beklenti) adı verilir.

# Kırılgan (fragile) X sendromu

- Hastalıktan sorumlu gen FMR-1 'dir.
- Bu genin 5' translasyona uğramayan bölgesindeki CGG dizisi, birkaç yüzden birkaç bine kadar tekrar etmektedir.
- 54 kopyaya kadar bireyler normaldir.
- 54-230 kopya arası bireyler taşıyıcı kabul edilir.

# Kırılgan (fragile) X sendromu

- Bu kişilerin çocukları daha fazla kopya sayısına sahip olabilirler.
- CGG tekrarlarının fazla oluşu FMRP proteininin ifade edilememesine neden olur.
- Bu protein, beyin hücrelerinin işlevini etkileyen bir RNA bağlanma proteinidir.

# Miyotonik distrofi

- Yüz, kol ve bacak kaslarında hafif miyotoni görülür.
- Katarakt, azalmış kavrama yeteneği, deri ve bağırsak tümörleri diğer semptomlardandır.
- Etkilenen gen MDPK'dır ve 19. kromozomun uzun kolunda yer alır.
- Hastalığın nedeni CTG'nin çoklu kopyalarıdır.

# Miyotonik distrofi

- 5-37 arası kopya taşıyan bireyler normaldir.
- Kopya sayısı 37'den fazla olan bireyler hafiften ağıra kadar değişen semptomlar gösterirler.
- Ağır şekilde etkilenen hastalar 1500'e varan kopya içerirler.
- En az etkilenen bireylerde 150'ye yakın kopya bulunur.

# Huntington hastalığı

- Ölümcül bir nörodejeneratif hastalıktır.
- Sorumlu gen 4. kromozomda bulunur.
- Normal bireylerde CAG trinükleotiti 10-35 kez tekrarlanır.
- CAG tekrarı, genin kodlama yapan bölgesinde yer alır ve poliglutamin dizisini kodlar.
- Tekrar sayısı hasta kişilerde 120'ye kadar çıkabilir.



## Spinobulbar muskular distrofi (Kennedy hastalığı)

- Bu hastalıkta da sorumlu gende CAG tekrar kopyaları bulunur.
- 35-60 arası kopya kişilerin hastalanmasına neden olur.

# Mutasyonların tanısı

- Mutasyonel süreçleri çalışabilmek için öncelikle mutasyonları tanılamak gerekmektedir.
- Bu kısımda, aşağıdaki organizma gruplarında mutasyon tanısına ilişkin örnekler verilecektir:
  - Bakteri ve mantarlarda tanı
  - Bitkilerde tanı
  - İnsanlarda tanı

# Bakteri ve mantarlarda tanı

- Mutasyonların tanısı haploit organizmalarda daha kolaydır.
- Mutant hücreleri mutant olmayanlardan ayırma için seçim (seleksiyon) yapılır.

# *Neurospora*' da mutasyon tanısı

- Ekmek üzerinde büyüyen pembe bir küftür.
- Normalde diploittir ama vejetatif evrede haploit olduğu için mutasyonlar daha kolay tanımlanabilir.
- Yabanıl tip, minimal kültür ortamında (glikoz, birkaç organik asit, tuzlar, amonyum nitrat, biotin) üreyebilir.
- Uyarılmış besinsel mutantlar ise bu ortamda üreyemezler.

# *Neurospora*' da mutasyon tanısı

- Bu mutantlar ancak; aminoasitler, vitaminler ve nükleik asit türevlerince desteklenmiş tam besi ortamında üreyebilirler.
- Yabanıl tip mikroorganizmalara prototroflar denilirken, mutant bireyler ise okzotrof olarak adlandırılırlar.
- Mutant suş, her biri tek bir bileşik ilave edilmiş minimal ortamlarda üremeye bırakılırsa, eksik olan bileşik tespit edilir.
- Bu yolla okzotrofik mutantlar tanımlanabilir.

# Bitkilerde tanı

- Bitkilerde genetik varyasyon çok yaygındır.
- Birçok genetik varyant gözlem yoluyla kolayca tanımlanabilir.
- Bitkilerde biyokimyasal mutasyonlar da belirlenebilir.

## Opaque 2

- Bu mutantın, biyokimyasal analizi sonucunda, yüksek lizin içeriğine sahip olduğu belirlenmiştir.
- Mısır proteini lizin açısından genelde fakirdir.
- Bu mutantın keşfi mısırın besinsel değerini önemli ölçüde artırmıştır.
- Bu mutantın keşfinden sonra pirinç, arpa, buğday ve akdarı gibi diğer tahılların aminoasit içeriği incelenmeye başlanmıştır.

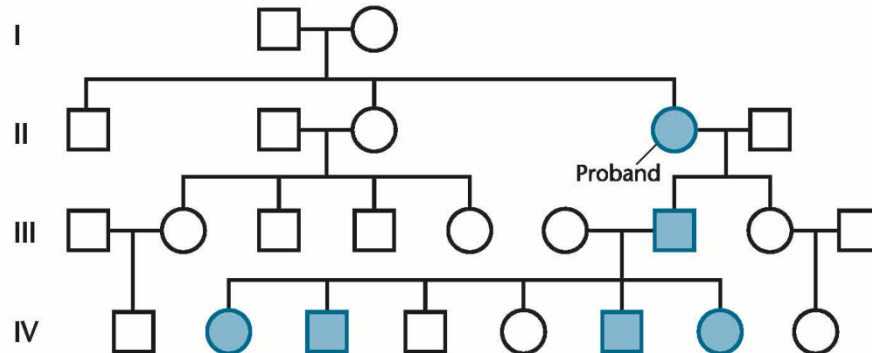
# Doku kültürü teknikleri

- Bitki hücrelerini, tanımlanmış besi ortamlarında yetiştirme tekniğidir.
- Böylelikle hücrelerin herbisitlere veya toksinlere karşı direnci, bu maddeler ortama ilave edilerek test edilebilir.



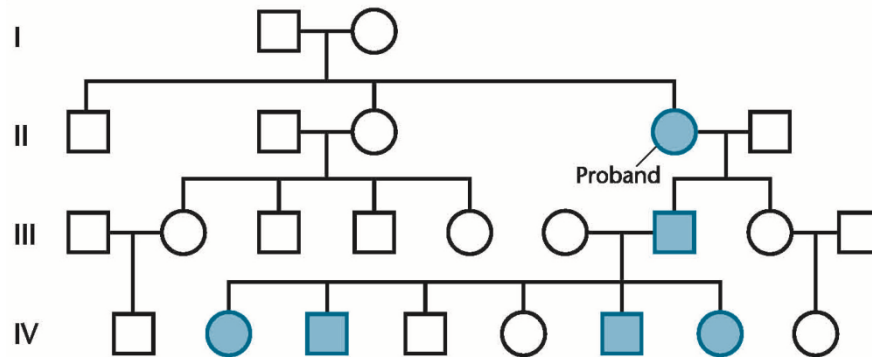
# İnsanlarda tanı

- İnsanlar uygun deneysel organizmalar değildir.
- Bakteriler ve bitkilerde mutasyonların tanısı için kullanılan teknikler insanlara uygun değildir.
- İnsanlarda mutasyona dayalı bir bozukluğun tespiti için öncelikle soyağacı (pedigri) analizi yapılır.



# İnsanlarda tanı

- Mutasyonun kalıtımla geçtiği belirlenebiliyorsa;
  - Mutant allelin dominant veya resesif olup olmadığı veya
  - X'e bağlı ya da otozomal olup olmadığı belirlenebilir.



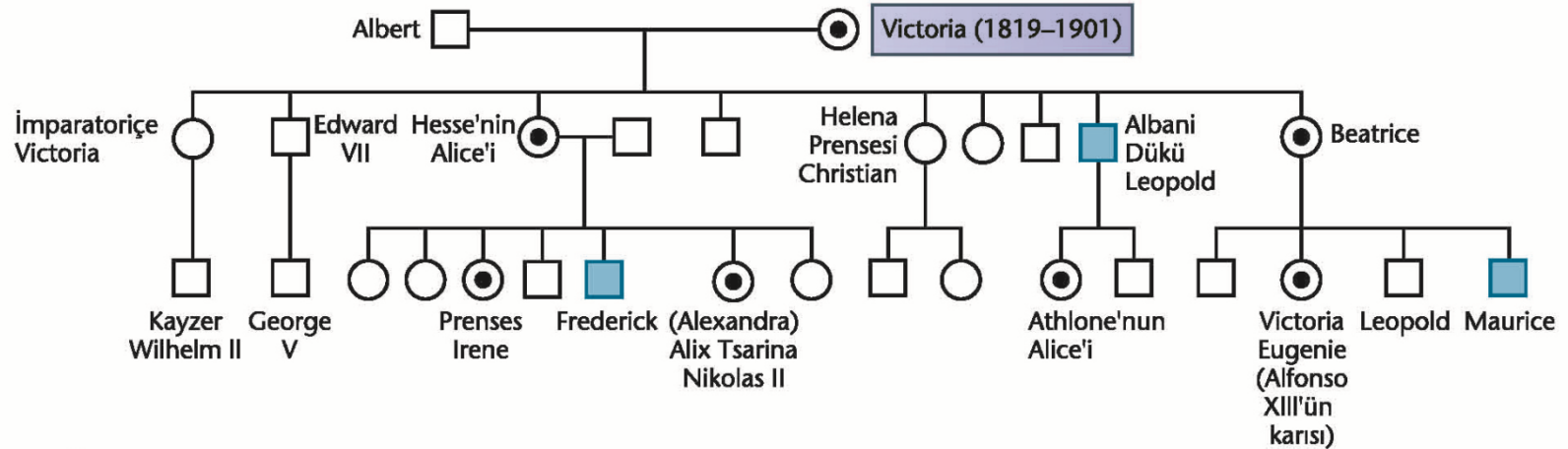
# Hemofili

- X'e bağlı çekinik mutasyonların en meşhur örneği, İngiltere Kraliçesi Victoria'nın soyunda bulunan hemofili'dir.
- Soyadıacı analizi sonucunda Victoria'nın bu hastalık açısınan heterozigot olduğu düşünölmüştür.

# Hemofili

- Babası bu hastalıktan etkilenmemiştir.
- Annesinin de taşıyıcı olduğuna dair kanıt yoktur.
- Ancak Victoria'nın iki kızı da taşıyıcıdır ve hastalığı Rus ve İspanyol kraliyet ailelerine aktarmışlardır.

# İngiltere Kraliyet Ailesinin hemofili profili



## Soyağacı ile resesif özelliklerin tespiti

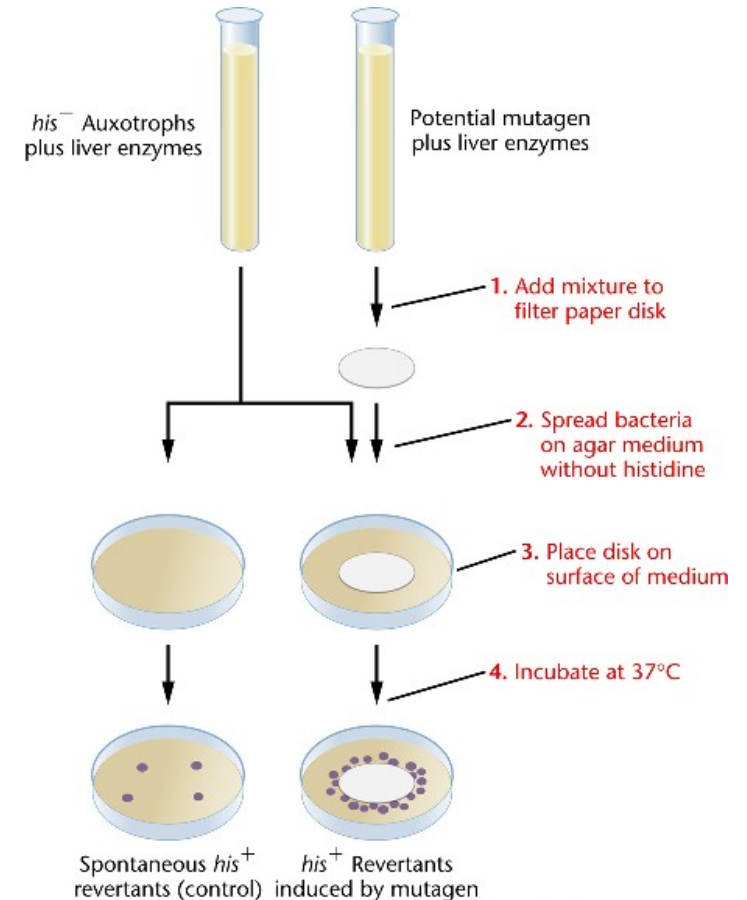
- Soyağacı analizleri ile resesif özellikler de tespit edilebilir.
- Bu mutasyonlar heterozigot durumda gizli kalmaktadır.
- Etkilenmiş bir birey ile homozigot normal bir bireyin evliliğinden, etkilenmemiş heterozigot taşıyıcı bireyler olacaktır.
- İki taşıyıcının evliliğinden ise 1/4 oranında hasta bireyler olacaktır.

## Diğer teknikler

- Enzim aktivitesi analizi
- Elektroforetik alanda protein hareketliliği
- Protein ve DNA'nın doğrudan analizi
- Genomiks
- Revers genetik

# Ames testi

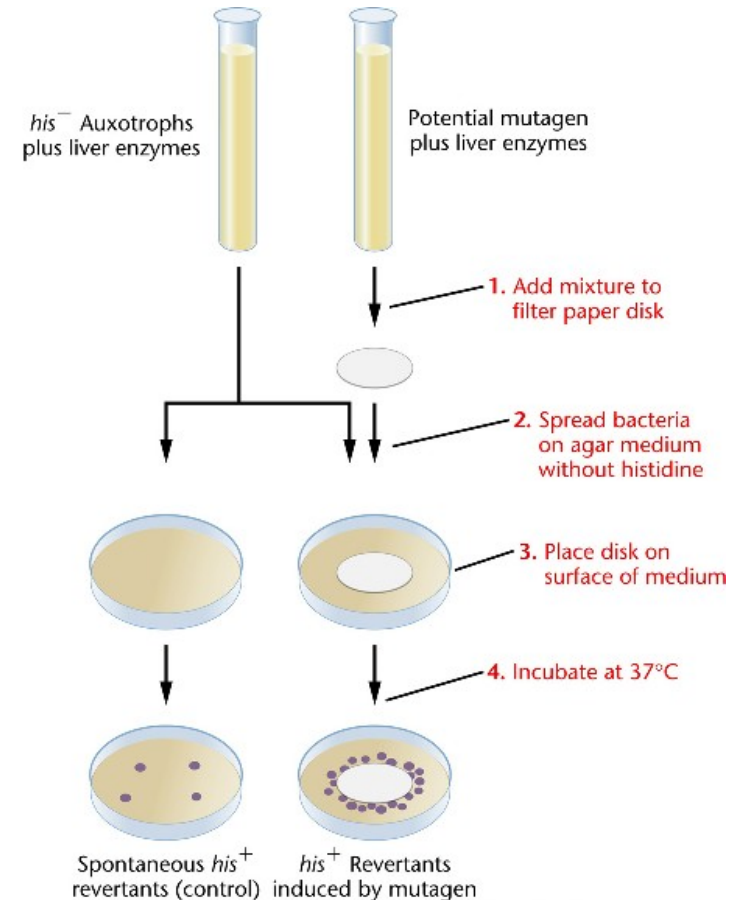
- Bruce Ames tarafından geliştirilen bu test, bileşiklerin organizmalar üzerindeki mutajenitesini saptamada kullanılır.
- Deneyde, özgün mutagenezis tipine duyarlılıklarından dolayı seçilmiş olan *Salmonella tyhimurium* bakterisinin birkaç suşundan herhangi biri kullanılır.





# Ames testi

- Örneğin; suşlardan biri baz çifti yer değiştirmelerini tanımada kullanılırken, diğer üçü çerçeve kayması mutasyonlarını tanır.
- Her mutant suş, histidini sentezleyemez ve üreme için histidine gerek duyar.
- Deney, yabancı bakteri oluşturan ( $his^+$  dönüşenler) ters mutasyon sıklığını ölçer.



# İnsan karaciğerinde durum

- İnsan vücuduna giren birçok madde metabolik yolla karaciğerde işlenir.
- Ürünün, karaciğerde kimyasal olarak daha reaktif bir ürüne dönüşene kadar genellikle zararsız olduğu kabul edilir.
- Ames testi, bu maddelerin mutajenite potansiyelinin araştırılmasında da kullanılır.

# İnsan karaciğerinde durum

- Denenen bileşik önce fareye enjekte edilerek karaciğer enzimlerince modifiye edilmesi sağlanır.
- Daha sonra da Ames testinde mutajenitesi tespit edilir.

## Ames testi ile elde edilen sonuçlar

- 1970'lerde, bilinen pek çok karsinojen denenmiş ve bunların % 80'inden fazlasının mutajenik olduğu bulunmuştur.
- Bu testte pozitif yanıt, bir bileşiğin karsinojen olduğunu kesin kanıtlamaz.
- Ancak Ames testi birinci basamak tarama testi olarak değerlendirilir.
- Endüstriyel ve farmasötik kimyasal bileşiklerin geliştirilmesi sırasında bu test yaygın olarak kullanılmaktadır.

# DNA onarım sistemleri

- Hata okuma (proofreading) ve yanlış eşleşme (mismatch) onarımı,
- Replikasyon sonrası (post-replication) onarım ve SOS onarım sistemleri,
- Fotoreaktivasyon onarımı (bakterilerde UV hasarının geri dönüşümü),
- Baz ve nükleotit kesip çıkarma onarımı (eskizyon),
- Ökaryotlarda çift zincir kırık onarımı

## Hata okuma (proofreading) ve yanlış eşleşme (mismatch) onarımı

- DNA polimeraz III yaklaşık olarak her 100.000 yerleştirmede bir hata yapar ( $10^{-5}$ 'lik hata hızı).
- Enzim her basamakta hata okuması (proofreading) yaparak hataların % 99'unu yakalar.
- Hatalı bazları tespit eder, kesip çıkararak doğrusu ile yer değiştirir.

## Hata okuma (proofreading) ve yanlış eşleşme (mismatch) onarımı

- Hata okuma sırasında kalan hataları gidermek için başka bir mekanizma olan yanlış eşleşme (mismatch) onarımı devreye girer.
- Bu sistemde de yanlış eşleşmeler tanınır, nükleotitler kesilip çıkarılarak yenileriyle yer değiştirilir.

# Yanlış eşleşme onarım sisteminde problem !

- Yanlış eşleşmesinin düzeltilmesi ile ilgili özel bir problem vardır.
- Onarım sistemi, hangi zincirin doğru hangisinin yanlış olduğunu nasıl tespit edecektir?
- Zincir seçimi işlevinin, zincir üzerindeki DNA metilasyonuna dayandığı tahmin edilmektedir.

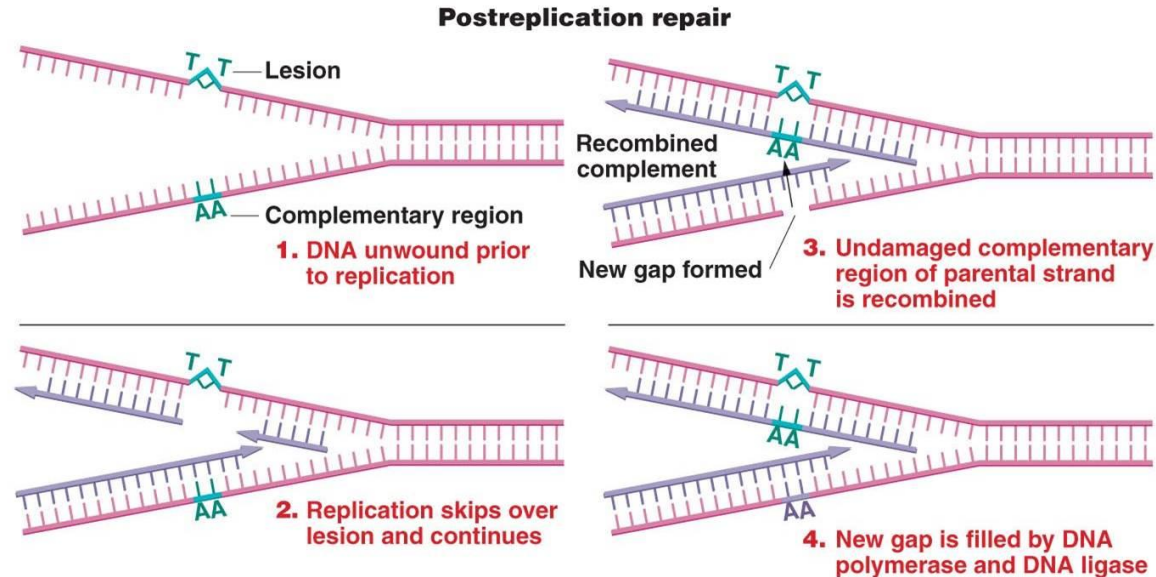


# Yanlış eşleşme onarım sisteminde problem !

- Yeni sentezlenmiş zincir geçici bir süre metillenmiş olarak kalır.
- Onarım enzimi bu zincire bağlanarak yanlış eşlemiş bazları değiştirir.
- Bakterilerde bu işlem olağanüstü etkilidir, hata sıklığı bin misli azaltılır (hataların % 99.99'u).

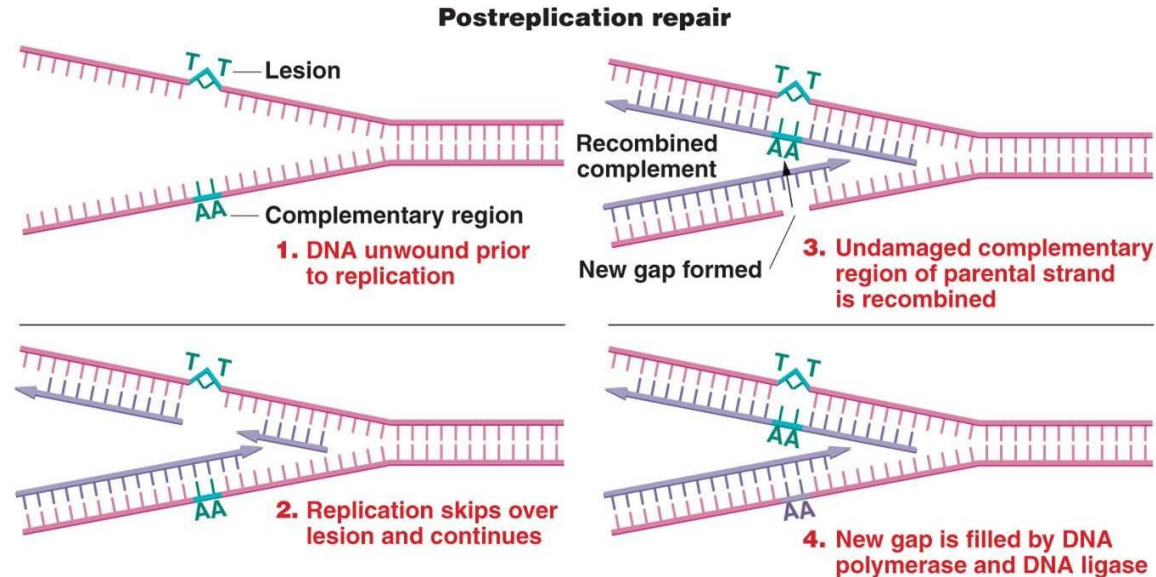
# Replikasyon sonrası (post-replication) onarım sistemi

- Bu sistem, hasarlı DNA onarımdan kaçtığında ve tam olarak replike edilemediğinde devreye girer.



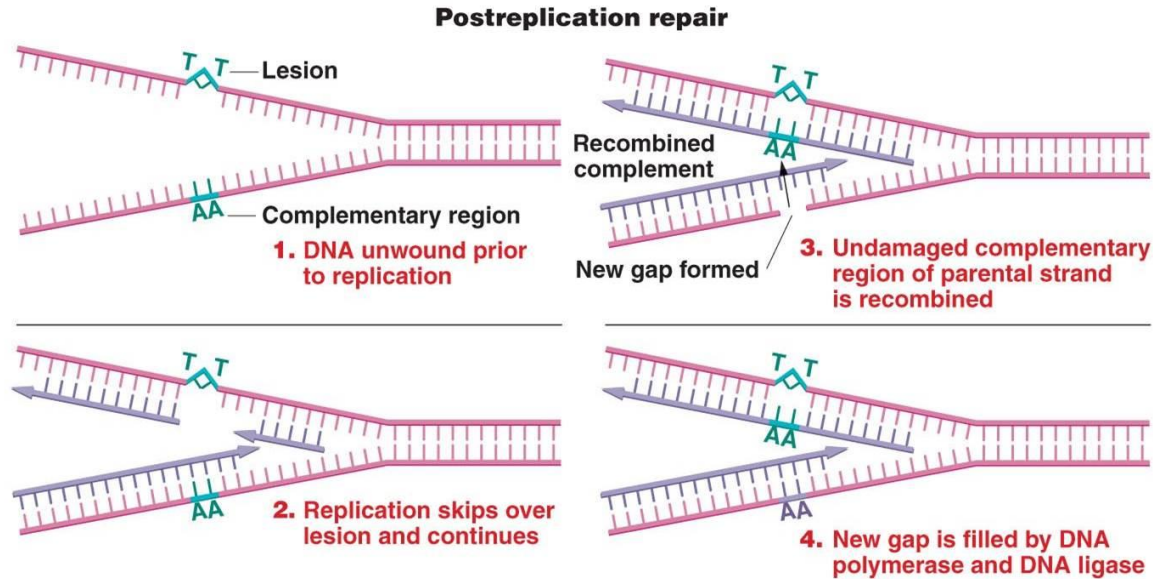
# Replikasyon sonrası (post-replication) onarım sistemi

- Herhangi bir lezyon (örn; pirimdin dimeri oluşumu) bulunduran DNA replike olurken, DNA polimeraz lezyonun bulunduğu kısımda duraklar.



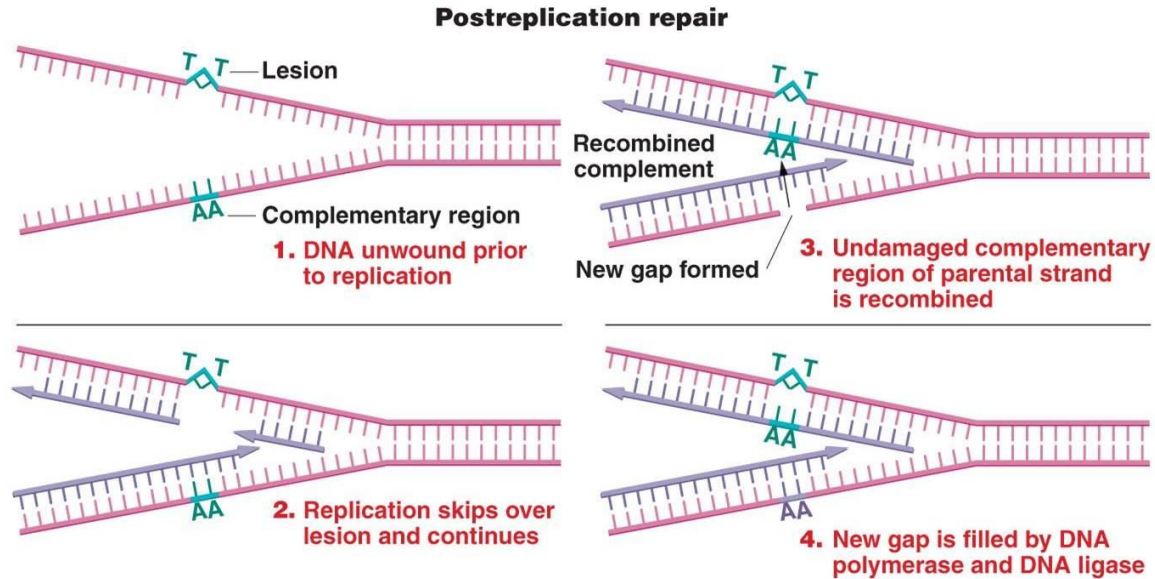
# Replikasyon sonrası (post-replication) onarım sistemi

- Yeni sentezlenen zincir üzerinde bir boşluk bırakarak atlar.



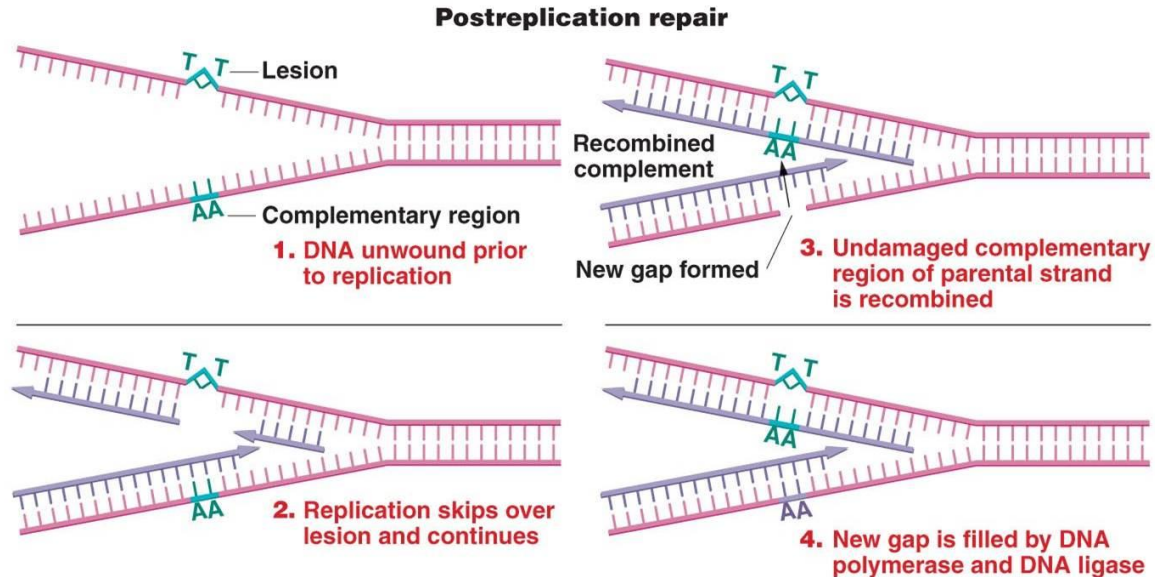
# Replikasyon sonrası (post-replication) onarım sistemi

- RecA proteini, aynı yöndeki hasarsız atasal zincir üzerindeki ilgili bölgeyle rekombinasyonel bir değiş-tokuş yapar.



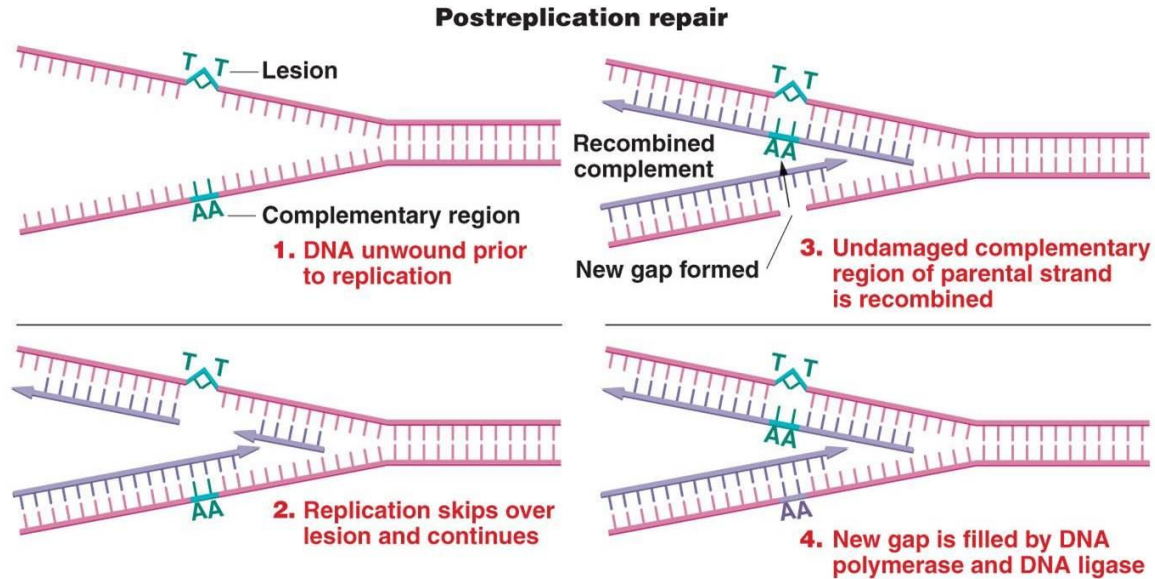
# Replikasyon sonrası (post-replication) onarım sistemi

- Hasarsız DNA segmenti yeni zincirdeki boşluğa aktarılmış olur.



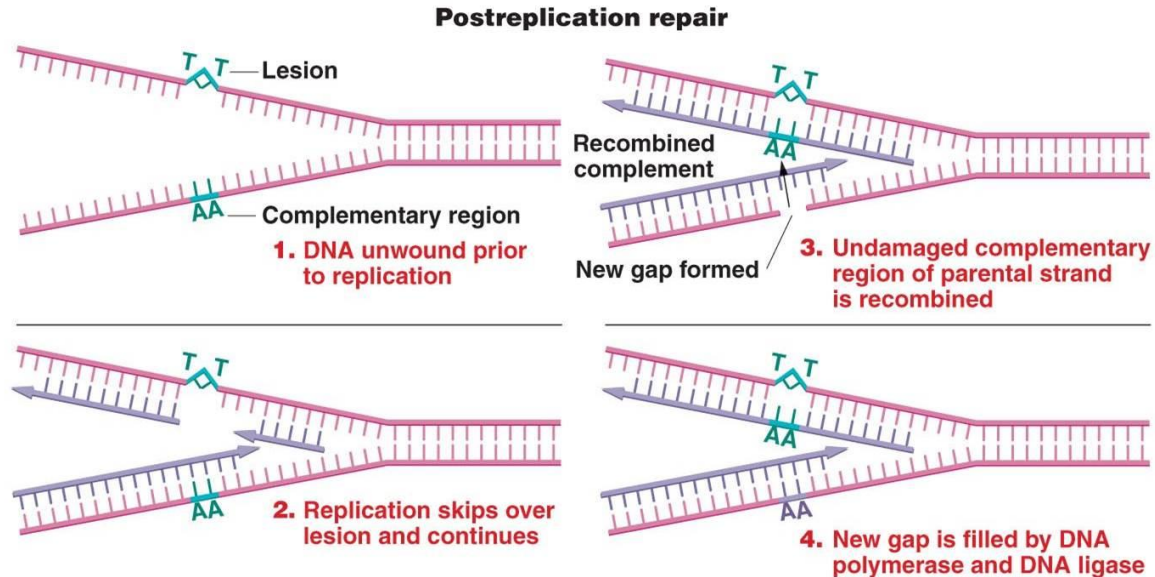
# Replikasyon sonrası (post-replication) onarım sistemi

- Hasarsız kalıp zincirdeki boşluk ise daha sonra onarım sentezi ile giderilir.



# Replikasyon sonrası (post-replication) onarım sistemi

- Bu onarım, rekombinasyonel bir değişiklik oluşturduğu için aynı zamanda homolog rekombinasyon onarımı olarak da bilinir.





# SOS onarım sistemi

- *E. coli*'de bulunan farklı bir onarım sistemidir.
- Bu tip onarım, DNA hasarına karşı son çare olduğundan SOS onarımı olarak bilinmektedir.
- Yanlış eşleşmelerin ve boşlukların bulunduğu kısımlara rastgele ve olasılıkla yanlış nükleotitler yerleştirilir.
- Bu nedenle SOS onarımı mutajeniktir.
- Bununla beraber, hücreye, aksi halde onu öldürecek olan DNA hasarıyla yaşama şansı verir.

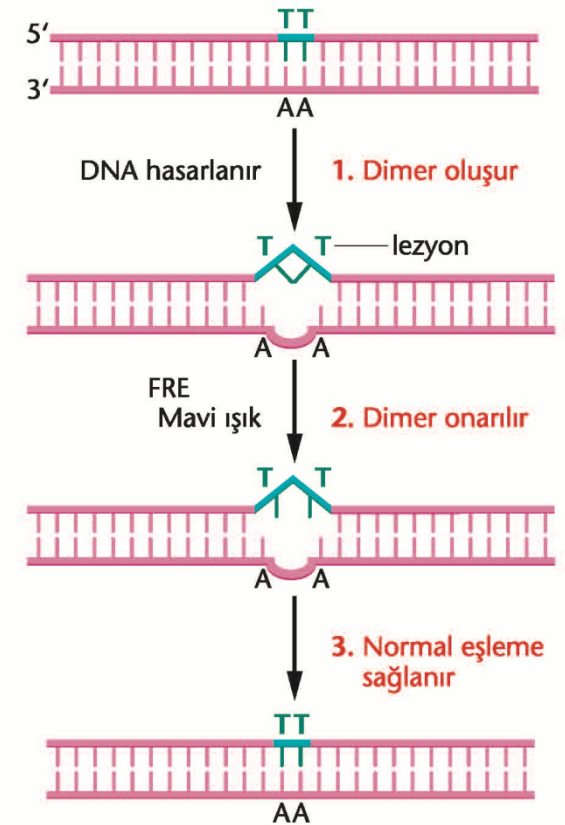
## Fotoreaktivasyon: Bakterilerde UV hasarının geri dönüşümü

- UV ışını, pirimidin dimerlerinin oluşumuna neden olduğu için mutajeniktir.
- *E. coli*'de UV'ye maruz kalma sonucunda oluşan hasarın, radyasyonu takiben, görünür ışık spektrumunun mavi bölgesindeki ışığa kısa süre maruz kalma ile giderilebileceği gösterilmiştir.
- Bu işlem aynı zamanda sıcaklığa da bağımlıdır.

# Fotoreaktivasyon: Bakterilerde UV hasarının geri dönüşümü

- Bu nedenle fotoreaktivasyonun enzimler tarafından kontrol edilen kimyasal bir reaksiyon olduğu düşünülmektedir.
- Sistem, fotoreaktivasyon enzimine (FRE) bağlı çalışmaktadır.
- Enzim, timin dimerleri arasındaki bağları kırmaktadır.

## Fotoreaktivasyon onarımı



## Baz ve nükleotit kesip çıkarma onarımı

- Tüm prokaryot ve ökaryotlarda bulunan ışıkta bağımsız onarım sistemleridir.
- Bozuk bölge veya hata tanınır ve enzimatik olarak bir nükleaz tarafından kesilip çıkarılır.
- Bu işlem sonrasında hatanın bulunduğu bölgedeki komşu birkaç nükleotit de birlikte kesilip çıkarılır.

## Baz ve nükleotit kesip çıkarma onarımı

- Kesilen zincirde oluşan boşluk, sağlam zincir kalıp olarak kullanılarak doldurulur.
- Bu işlem genellikle DNA polimeraz I tarafından gerçekleştirilir.
- DNA ligaz ise en son 3'-OH ucunda kalan çentiği yapıştırır ve boşluğu kapatır.

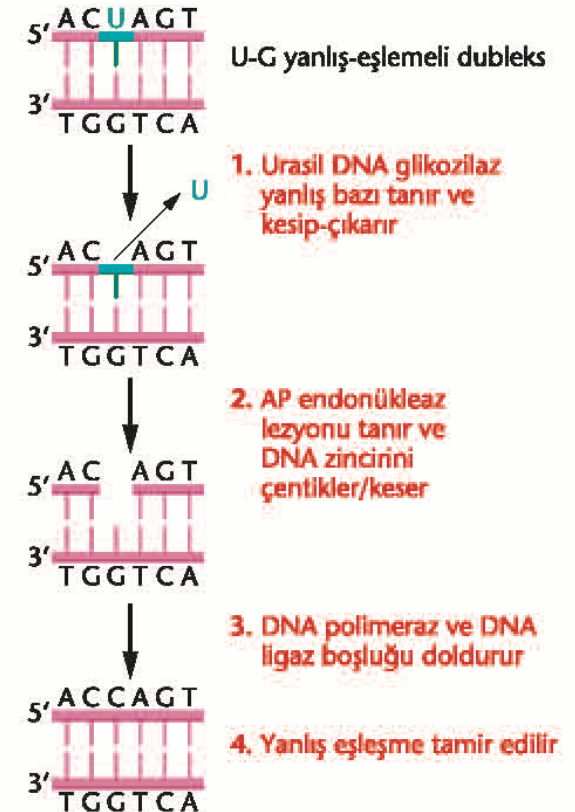
# Baz ve nükleotit kesip çıkarma onarımı

- İki tip kesip çıkarma onarımı vardır:
  - Baz kesip çıkarma onarımı (BKO)
  - Nükleotit kesip çıkarma onarımı (NKO)

# Baz kesip çıkarma onarımı (BKO)

- İlk olarak, kimyasal olarak değişmiş baz DNA glikozilazlar tarafından tanınır.
- Enzim, bazla şeker arasındaki bağı koparır ve apirimidinik bölge (AP) oluşur.
- Azotlu organik bazı çıkarılmış olan bu şeker daha sonra AP endonükleaz tarafından tanınır.

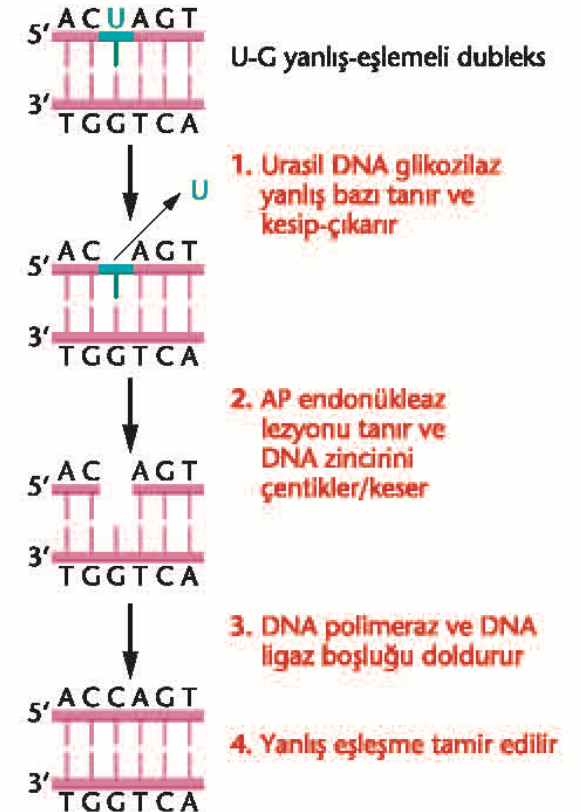
## Baz kesip-çıkarma onarımı



# Baz kesip çıkarma onarımı (BKO)

- Enzim, fosfodiester omurgayı AP bölgesinden keser.
- Açılan boşluğa, doğru nükleotitler yerleştirilir.
- Bu onarım sistemi, DNA'daki modifiye bazları tespit ederek onarım yapan bir yoldur.

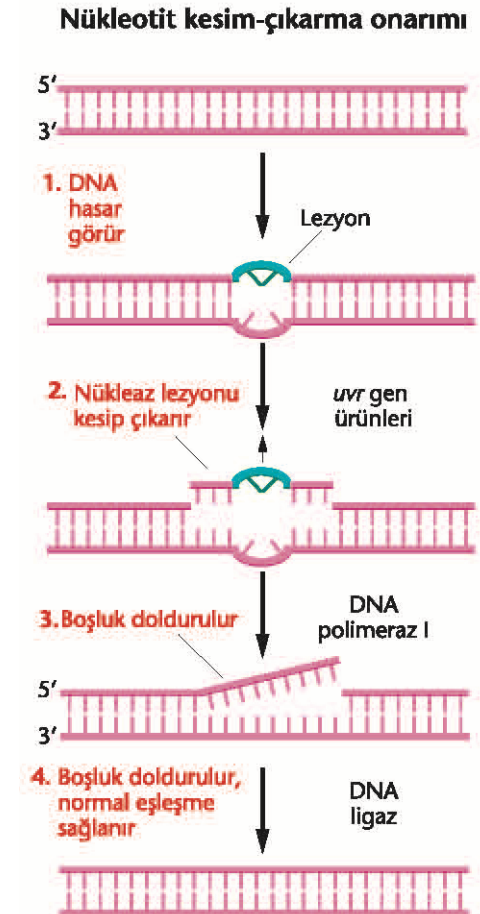
## Baz kesip-çıkarma onarımı





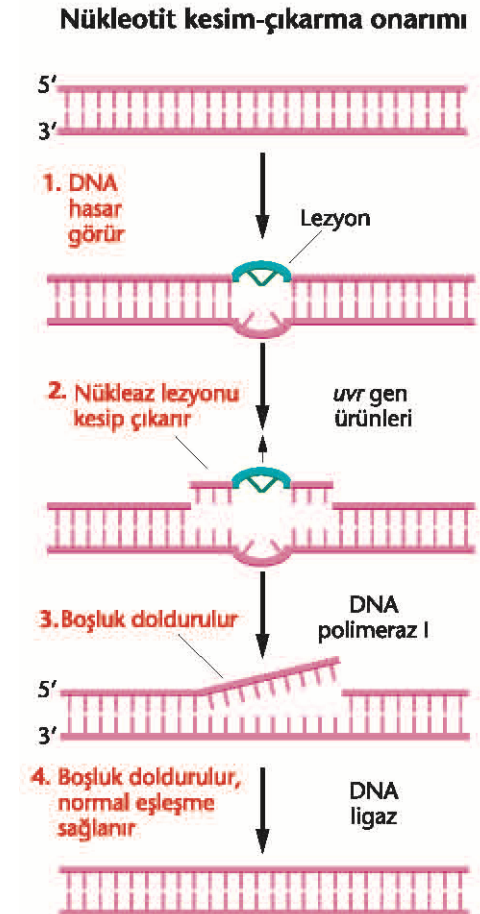
# Nükleotit kesip çıkarma onarımı (NKO)

- UV tarafından uyarılan pirimidin dimerlerini ve çift sarmaldaki büyük lezyonları onarır.
- uvr (ultraviyole onarımı) olarak tanımlanan bir grup gen bulunmaktadır (uvrA, uvrB ve uvrC).
- Bu genlerin ürünleri, DNA'daki lezyonları tanıyarak kesip-çıkarma yaparlar.



# Nükleotit kesip çıkarma onarımı (NKO)

- *E. coli*'de genellikle lezyon da dahil olmak üzere toplam 13 nükleotit kesilip çıkarılır.
- Daha son oluşan boşluk, DNA polimeraz I ve DNA ligaz tarafından tamamlanır.



# Xeroderma pigmentosum

- Bireylerde ağır deri anomalilerine yol açan nadir resesif bir bozukluktur.
- Bu bireyler nükleotit kesip çıkarma yeteneklerini yitirmişlerdir.
- Bu hastalıktan etkilenen bireyler, güneş ışığında bulunan UV radyasyonuna maruz kaldıklarında başlangıçta çillenme ve deri yaralanmaları görülür.

# Xeroderma pigmentosum

- Daha sonra deri kanserine kadar giden değişik reaksiyonlar ortaya çıkar.
- Hasta ve normal bireylerden elde edilen fibroblast kültürlerinde UV ile uyarılmış lezyonları onarma yeteneği araştırılmıştır.
- Hasta bireylerde birden fazla mutant genin olduğu tespit edilmiştir.

# Xeroderma pigmentosum



**ŐEKİL 15–18** Xeroderma pigmentosumlu (XP) iki birey. Solda, 4 yaşındaki erkek çocukta güneş işiği tarafından uyarılmış deri lezyonları görülmektedir. Benekli kırmızılık (eritem) ve hücresel yaralanmaya bir cevap olan düzensiz pigment değişiklikleri rahatça görülmektedir. Burnunda iki nodüler kanser bulunmaktadır. Sağda, 18 yaşındaki genç kız bebeklik döneminde konulan xeroderma pigmentosum tanısı nedeniyle güneş işiğinden dikkatlice korunmuştur. Birkaç kez kanserli yapılar çıkarılmış ve genç kız başarılı bir model olarak çalışmıştır.

# Programsız DNA sentezi hatası !

- Normal bireylerde UV radyasyonu sonucunda oluşan hatalar, programsız DNA sentezi yoluyla (kesip çıkarma) giderilebilmektedir.
- Hasta bireylerde ise bu süreç işletilemediğinden hatalı bölgelerde kesip çıkarma uygulanamamaktadır.

## Xeroderma pigmentosum' da komplementasyon analizi

- Akraba olmayan herhangi iki hastaya ait fibroblast hücreleri doku kültüründe füzyona (birleştirme) uğratılmıştır.
- Daha sonra bu hibrit hücrenin programsız DNA sentezi yeteneği ölçülmüştür.
- Eğer hibrit halen kesip çıkarma yapamıyorsa, ilgili gen başlangıçtaki her iki hücrede de mutant demektir.

## Xeroderma pigmentosum' da komplementasyon analizi

- Eğer hibrit, kesip çıkarma yeteneğini yeniden kazanmışsa, bu işlem en az iki gen tarafından kontrol edilmektedir.
- Genlerden birisi başlangıç hücrelerinin birinde, diğeri de diğer hücrede sağlamdır ve bir araya geldiklerinde tamamlama (komplementasyon) yaparlar.



## Xeroderma pigmentosum'da komplementasyon analizi

- Yapılan alışmalar sonucunda bu hastalar 7 komplementasyon grubuna ayrılmışlardır.
- Sonuçta insanlarda en az 7 farklı genin kesip çıkarma onarımıyla ilgili olduğu tespit edilmiştir (XPA'dan XPG'ye kadar).

# XP genlerinin görevleri

- XPC, XPE ve XPA: Ürünleri, hasarlı DNA'yı tanır.
- XPB ve XPB: Helikazları kodlar ve ürünleri temel transkripsiyon faktörü THIIH'nin de bileşenidirler.
- XPF ve XPG: Nükleazları kodlar ve ürünleri DNA zincirinden 28 nükleotit uzunluğunda bir parçayı kesip çıkarır.

# Cockayne sendromu

- Hem fiziksel hem de nörolojik bir gelişim bozukluğudur.
- Işığa yüksek derecede duyarlılık gösteren hastalardır.
- Bu hastalarda tümör oluşumuna yatkınlık gözlenmez.
- Bu hastalıkta rol alan beş genden üçü aynı zamanda Xeroderma pigmentosum ile de ilişkilidir (XPB, XPD ve XPG).

# Ökaryotlarda çift zincir kırık onarımı

- Buraya kadar olan kısımda DNA'nın sadece bir zincirindeki hasarla ilgilenen onarım yollarını tartıştık.
- Ancak iyonize radyasyona maruz kalma sonucunda DNA'nın her iki zincirinde de kırıklar meydana gelebilir.
- Bu durumda DNA çift zincir kırık onarımı (DÇK) aktive edilir.
- Bu süreç aynı zamanda homolog rekombinasyon onarımı olarak da adlandırılır.

# Ökaryotlarda çift zincir kırık onarımı

- Hasarlı DNA, hasarsız homoloğu ile rekombinasyon yapar ve yer değiştir.
- Bu işlem için çift zincir kırığını tanıyan bir enzime ihtiyaç vardır.
- Çıkarılan hasarlı çift zincir bölgesi, hasar görmemiş kardeş kromatit ile etkileşir.

# Ökaryotlarda çift zincir kırık onarımı

- Bu süreç sonucunda DNA polimeraz, hasarsız DNA dizilerini kullanarak hasarlı DNA'nın her iki zincirini de yeniden düzenler.
- Süreç genellikle replikasyondan sonraki S/G<sub>2</sub> fazı sonlarında gerçekleşir.

## Çift zincir kırık onarımında ikinci yol: Homolog olmayan rekombinasyon

- Bu süreçte de çift zincir kırıkları onarılır.
- Onarım esnasında DNA'nın homolog bölgelerine gereksinim duyulmaz.
- Süreç, DNA'nın replikasyonu öncesinde G<sub>1</sub> evresinde aktifleştirilir.

## Çift zincir kırık onarımında ikinci yol: Homolog olmayan rekombinasyon

- Bu işlemde sorumlu proteinler, kırık DNA'nın serbest uçlarına bağlanırlar.
- Uçlar kırılır ve onarımdan sonra tekrar bileştirilir.
- Uç eklemede bazı nükleotitler kaybedilebildiğinden sistem hataya yatkın bir onarım sistemidir.



## Transpozonlar (yer değiştiren genetik elementler)

- Sıçrayan genler olarak da bilinirler.
- Koromozom içinde veya kromozomlar arasında çeşitli yerlere hareket ya da transpozisyon yapabilirler.
- Tüm organizmaların genomunda bulunurlar.
- Bazı ökaryotik genomların büyük bölümünü oluştururlar.
- İnsan genomunun neredeyse % 50'sinin transpozonlardan köken aldığı düşünölmektedir.

# Transpozonlar (yer değiştiren genetik elementler)

- İşlevleri çok iyi bilinmemektedir.
- İnsan genom dizileme çalıřmaları sonucunda bazı genlerin transpozonlardan evrimleřmiř olabileceęi dūřünülmektedir.
- Transpozonlar, genetikçiler tarafından, klonlama etiketleri ve model organizmalara yabancı DNA aktarma araçları olarak kullanılmaktadır.

## Transpozonlar (yer değiştiren genetik elementler)

- Diğer yandan transpozonlar, hareketli olmalarından dolayı, genleri bozarak mutasyona neden olma ve çift zincir kırıkları gibi kromozomal hasarlar oluşturma potansiyeline sahiptir.

# Bakterilerdeki transpozonlar

- Bakterilerde iki tip yer değiştirebilen element vardır:
  - İnsersiyon (katılım) dizileri (IS elementleri)
  - Bakteriyel transpozonlar (Tn elementleri)

## İnversiyon (katılım) dizileri (IS elementleri)

- İlk olarak *E. coli*'nin gal operonundaki mutasyon çalışmaları sırasında tanınmışlardır.
- Bu operondaki bazı mutasyonlar, operonun başlangıç kısmına giren birkaç yüz baz çiftlik DNA'dan kaynaklanmaktadır.
- Daha sonra bu DNA dizisi spontan (kendiliğinden) olarak bu bölgeden ayrılarak operonu eski (yabanıl) haline döndürmektedir.

## İnseriyon (katılım) dizileri (IS elementleri)

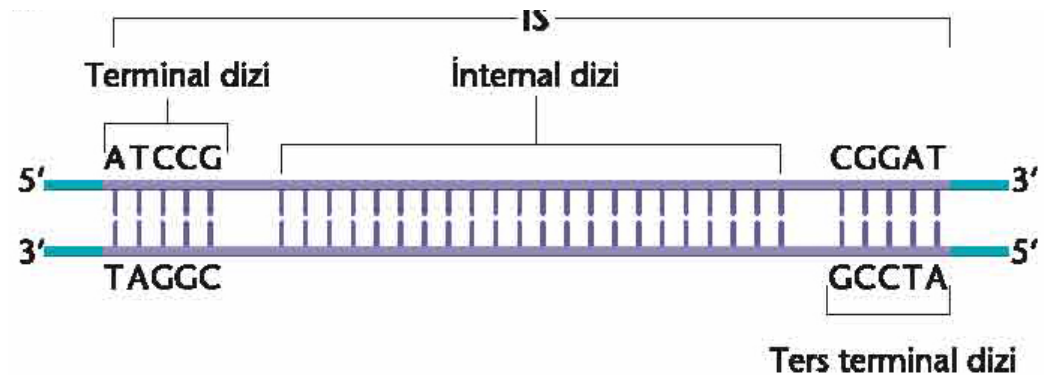
- Tüm IS elementleri, kendi hareketleri için gerekli iki temel özelliğe sahiptirler:
  - Transpozaz enzimi
  - Ters tekrar dizileri

# Transpozaz enzimi

- Tüm IS elementlerinde bu enzimi kodlayan genler bulunmaktadır.
- Bu enzim, DNA'da IS elementinin girip çıkabileceği çapraz kesimler yapar.

# Ters tekrar dizileri

- IS elementnin uçları ters tekrar dizileri içerir (inverted terminal repeats: ITRs).
- Bunlar kısa DNA segmentleri olup, karşıt yönde yerleşmiş, birbirinin aynı nükleotit dizileridir.
- Bu diziler, transpozaz enziminin bağlanma bölgeleri olarak görev yaparlar.



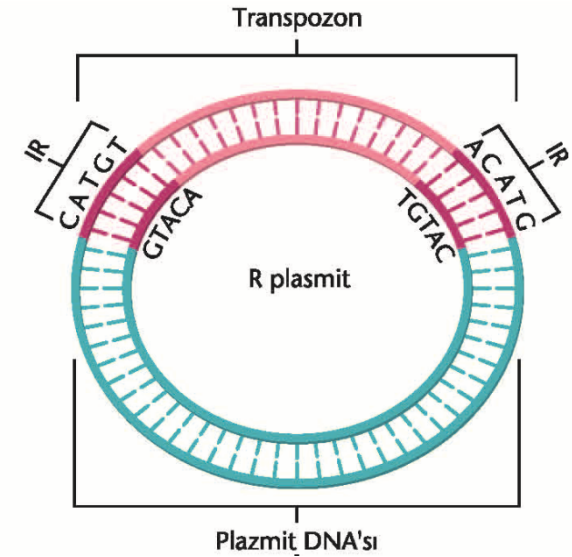


# Bakteriyel transpozonlar (Tn elementleri)

- IS elementlerinden büyükler.
- Transpozisyonla ilişkili olmayan protein kodlayan genler içerirler.
- İyi bilinen bir Tn elementi olan Tn10, zıt yönlerde yer alan iki IS elementi ile çevrilmiş bir ilaç dirençlilik geninden oluşur.
- Tn elementlerinin transpozisyonu için gerekli transpozaz enzimi IS elementleri tarafından kodlanır.

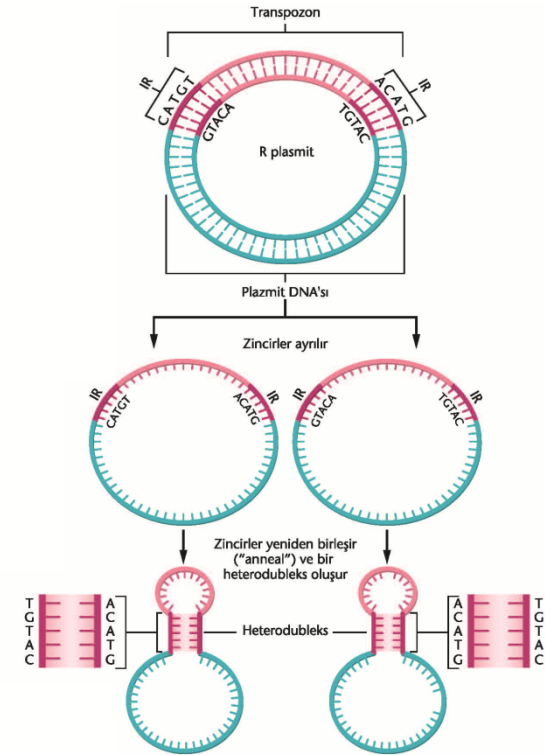
# Bakteriyel transpozonlar (Tn elementleri)

- Bazı Tn elementlerinin uçlarında (örn; Tn 3), kısa tekrar dizileri bulunur.
- Hem bakteriyel kromozom hem de plazmidler içerisinde hareket ederler.
- Genlerde ya da gen düzenleyici bölgelerde insersiyon yaptıklarında mutasyona neden olurlar.



# Tn elementlerinde heterodubleks yapı

- Tn elementi içeren çift zincirli plazmit DNA'sı tek zincirlere ayrıştırılıp, her bir zincirin ayrı ayrı sarmal oluşturması sağlanırsa, komplementer oldukları için heterodubleks yapı oluşur.



## Tn elementlerinin plazmitlere kazandırdığı avantajlar

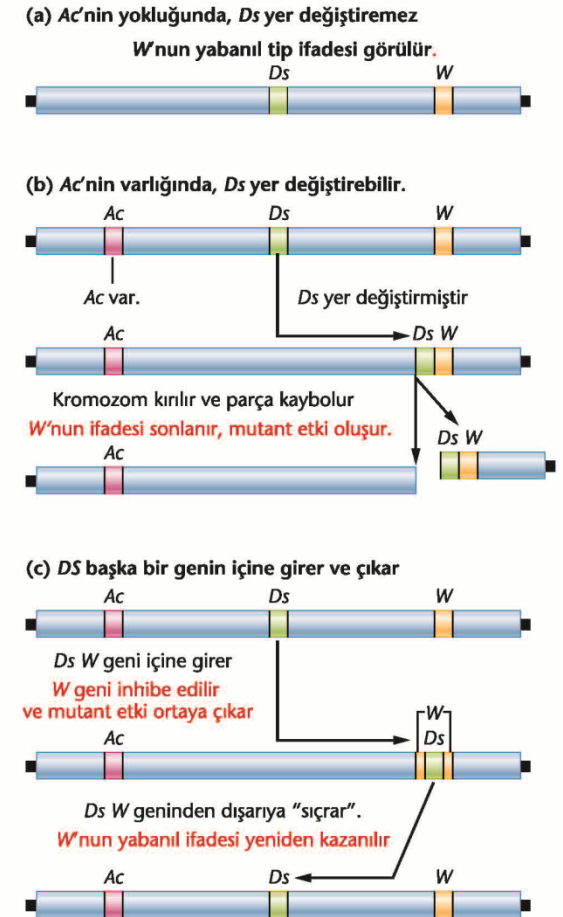
- Tn elementleri bakteriyel plazmitler üzerine çoklu ilaç direnci yerleştirebilmektedirler.
- R faktörü adını alan bu plazmitler ağır metallere, antibiyotiklere ve diğer ilaçlara eşzamanlı direnç oluşturan birçok Tn elementi içerebilirler.
- Bu elementler, plazmitlerden bakteriyel kromozomlara geçebilirler.
- Daha sonra farklı bakteri suşları arasında da çoklu ilaç direncini yayabilirler.

# Mısırdaki Ac-Ds sistemi

- Transpozonların bakterilerdeki keşfinden yaklaşık 20 yıl önce mısır bitkisinde hareketli genetik elementler keşfedilmiştir.
- Bu olgu, mısırdaki ifade edilen iki mutasyonun genetik davranışı analiz edilerek ortaya konulmuştur:
  - Dissosiasyon (Ds)
  - Aktivatör (Ac)

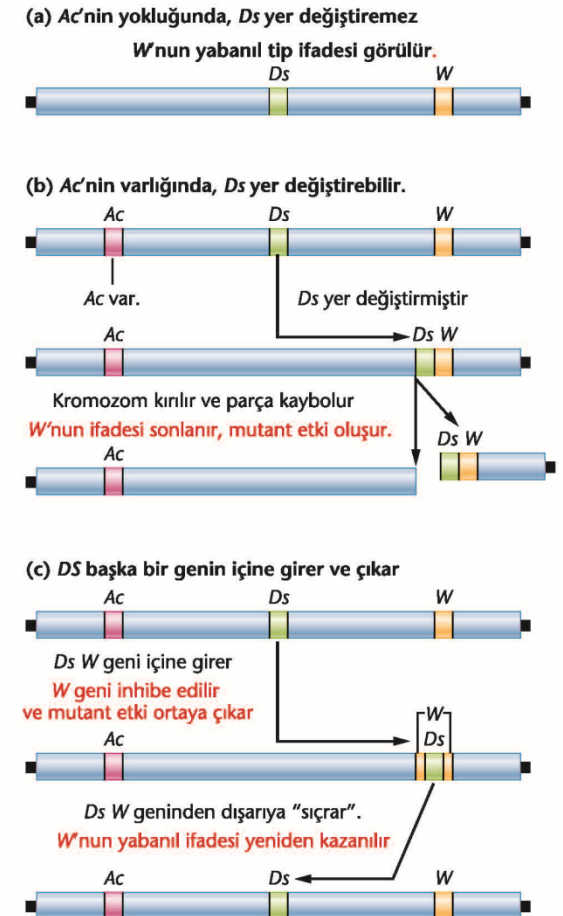
# Mısırdaki Ac-Ds sistemi

- Ds, yer değiştirebilen hareketli bir genetik elementtir.
- Ancak hareket edebilmesi için Ac geninin ürününe ihtiyaç duyar.



# Mısırdaki Ac-Ds sistemi

- Ac varlığında;
  - W geninin yanına transpoze olarak kromozomun uç kısmının kırılarak kopmasına veya
  - W geninin içine yerleşerek genin mutasyona uğramasına (genin yapısal bütünlüğü bozulduğu için) neden olabilir.
- Bu çalışma 1983 yılında Barbara McClintock'a Nobel Fizyoloji (Tıp) Ödülü kazandırmıştır.



## Hareketli genetik elementler ve buruşuk bezelyeler

- Bezelye şekilleri olan yuvarlak veya buruşuk fenotipler, rugosus geni tarafından oluşturulmaktadır.
- Bu olayda nişasta dallandıran enzim (SBEI) önemli rol oynadığı bilinmektedir.
- Enzim, nişasta moleküllerinin dallanmasını kontrol etmektedir.



# Hareketli genetik elementler ve buruşuk bezelyeler

- Buruşuk bezelyelerde enzim eksikliğine bağlı nişastanın yokluğu gelişmekte olan tohumda;
    - Sukroz birikimine
    - Yüksek su konsantrasyonuna ve
    - Ozmotik basınca
- Yol açar.

## Hareketli genetik elementler ve buruşuk bezelyeler

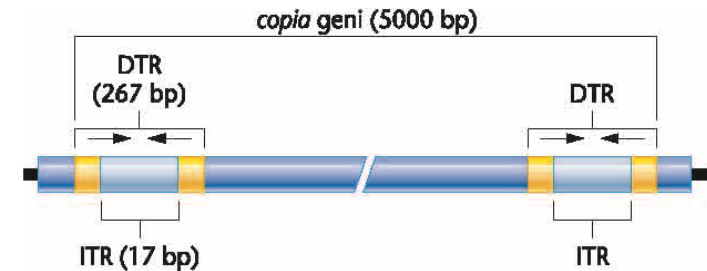
- Tohumlar olgunlaştikça buruşuk olanlar döz olanlardan daha fazla su kaybederek buruşuk fenotipi oluştururlar.
- Buruşuk fenotipte SBEI geni fonksiyonel değildir.
- Çünkü 0.8 kb'lik bir insersiyonla kesintiye uğramıştır.
- İnsersiyon yapan DNA, hareketli bir genetik elementtir.

# *Drosophila*'da copia elementleri

- Bu elementlerden çok miktarda (copious) RNA sentezlenmektedir.
- *Drosophila* hücrelerinde 10-100 arasında copia elementi bulunur.
- Her copia elementi 5000-8000 bç uzunluğunda bir DNA'dan oluşur.
- Her iki ucunda 276 bç'lik birer direk terminal tekrar dizisi (DTR) içerirler.

# *Drosophila*'da copia elementleri

- Her DTR içerisinde 17 bp'lik bir ters terminal tekrar dizisi (ITR) yer alır.
- Copia elementlerinin insersiyonu bu ITR dizilerinin varlığına bağlıdır.
- *Drosophila*'da göz rengi ve vücut segmentlerinin oluşumunu etkileyen mutasyonlar, ilgili genlere copia insersiyonu sonucunda oluşmaktadır.



# *Drosophila*'da copia elementleri

- Copia elementinin yerleştiği yerden tekrar ayrılması, ilgili geni tekrar normal haline çevirir.
- Yer değiştirebilen elementler, *Drosophila* genomunun yaklaşık % 5'ini oluşturmaktadır.
- Yapılan bir çalışmada, *Drosophila*'da gözlemlenebilen mutasyonların % 50'sinin bu tip transpozonlardan kaynaklandığı düşünülmektedir.

## *Drosophila*'da P elementi transpozonları

- *Drosophila*'daki yer değiştiren elementlerin en önemlilerindendir.
- Bu organizma ile yapılan hibrit disgenezi çalışmaları sonucunda keşfedilmişlerdir.
- Hibrit disgenezi, yavru bireylerde kısırlık, yüksek mutasyon hızı ve kromozom düzenlemeleri ile ortaya çıkan bir durumdur.

## *Drosophila*'da P elementi transpozonları

- Bu durum, P elementinin, genlerin içine veya yakınlarına insersiyon yaparak mutasyon oluşturmaları sonucunda meydana gelir.
- P elementleri 0.5-2.9 kb arasında uzunluğa sahip DNA parçalarıdır.
- En az iki proteini kodlarlar:
  - Transpozaz: Transpozisyon için gereklidir.
  - Baskılayıcı protein: Yer değiştirmeyi inhibe eder.

## *Drosophila*'da P elementi transpozonları

- Eğer bir P elementi, genin kodlama yapan bölgesine insersiyon yaparsa, transkripsiyonu durdurarak gen ifadesini bozabilir.
- Eğer bir genin promotör bölgesine yerleşecek olursa, ifade edilme düzeyini değiştirebilir.
- Intronlar içine yerleşmesi durumunda ise splays (splicing) işlemini etkileyebilir ya da transkripsiyonun erken sonlanmasına neden olabilir.



## P elementleri genetikçiler tarafından kullanılır

- Bu elementler, *Drosophila*'ya gen aktarımı için vektör (taşıyıcı) olarak kullanılmaktadır.
- Aynı zamanda mutasyon oluşturmada ve mutant genlerin klonlanmasında kullanılmaktadırlar.

# İnsanlarda yer değiştirebilen elementler

- Genomik dizileme teknikleri ile insan genomunun yaklaşık % 50'sinin yer değiştirebilen elementlerden oluştuğu gösterilmiştir.
- İnsan genomunun önemli transpozonları arasında;
  - Uzun serpiştirilmiş elementler (LINES) ve
  - Kısa serpiştirilmiş elementler (SINES)  
Bulunmaktadır.

# İnsanlarda yer değiştirebilen elementler

- LINE'lar yaklaşık 6 kb uzunluğundadır ve 850.000 kopyaya kadar bulunabilirler.
- İnsan genomunun % 21'ini kaplarlar.
- SINE'lar ise yaklaşık 100-500 bp uzunluğundadırlar.
- İnsan genomunda 1.5 milyon kopyaları bulunur.
- Genomun yaklaşık % 13'ünü oluştururlar.

# İnsanlarda yer değiştirebilen elementler

- Diğer transpozon aileleri ise insan genomunun yaklaşık % 11'ini oluşturur.
- Kodlama yapan diziler genomun sadece % 5'lik bir kısmını oluşturmaktadır.

## Hemofili' de yer değiştiren elementler

- X'e bağlı bir genin ürünü olan kan pıhtılaşma faktörü VIII'in bozuk olduğu bir hastalıktır.
- Haig Kazazian ve meslektaşları, bu genin iki farklı bölgesine LINE'ların insersiyon yaptığını tespit etmişlerdir.

## LINE'ların distrofin genine insersiyonu

- LINE'lar distrofin geni içerisine de insersiyon yapabilirler.
- Sonuçta gende ereve kayması mutasyonu ve distrofin proteini translasyonunun erken sonlanması meydana gelir.

# SINE'lerin insersiyonu ve kanser

- SINE'ler (örn: Alu elementi), BRCA2 geni içersine insersiyon yapabilir.
- Sonuçta tümör baskılayıcı olan bu gen işlevsiz hale gelir.
- Hastalarda meme kanserine yatkınlık artar.

## Alu insertiyonuyla mutasyona uğratılan diğer genler

- Faktör IX geni (hemofili B'ye yol açar)
- ChE geni (akolinesterazemi'ye yol açar)
- NF1 geni (nörofibromatoz'a yol açar)



# TEŞEKKÜR

Bu sunumun hazırlanmasındaki katkılarından dolayı aŐağıda isimleri verilen öğrencilerime teşekkür ederim.

FATMA NUR KARABACAK

SEVGİ BALA

ALİ KARA

ESMA ALTUN