

Mikrobiyal Üreme ve Kontrolü

- **Bakteriyal Hücre Bölünmesi**
- **İkiye bölünerek çoğalma (binary fission)**
- Mikrobiyolojide üreme hücrelerin sayısındaki artış olarak tanımlanmaktadır. Eschericia coli gibi çubuk şeklindeki bir bakterinin üremekte olan kültüründe hücreler kendi orijinal uzunluklarının yaklaşık iki katına çıkana kadar uzarlar ve daha sonra hücreyi iki kardeş hücreye ayıracak olan bölmeyi oluştururlar. Bu işlem ikiye bölünme (binary fission) olarak adlandırılır. Bir septum oluşumu ile bölme gerçekleşir. Bir hücre nihayetinde iki hücre oluşturmak için bölündüğünde bir generasyon meydana geldi denir. Bölünme için gerekli zamana da generasyon zamanı adı verilir.

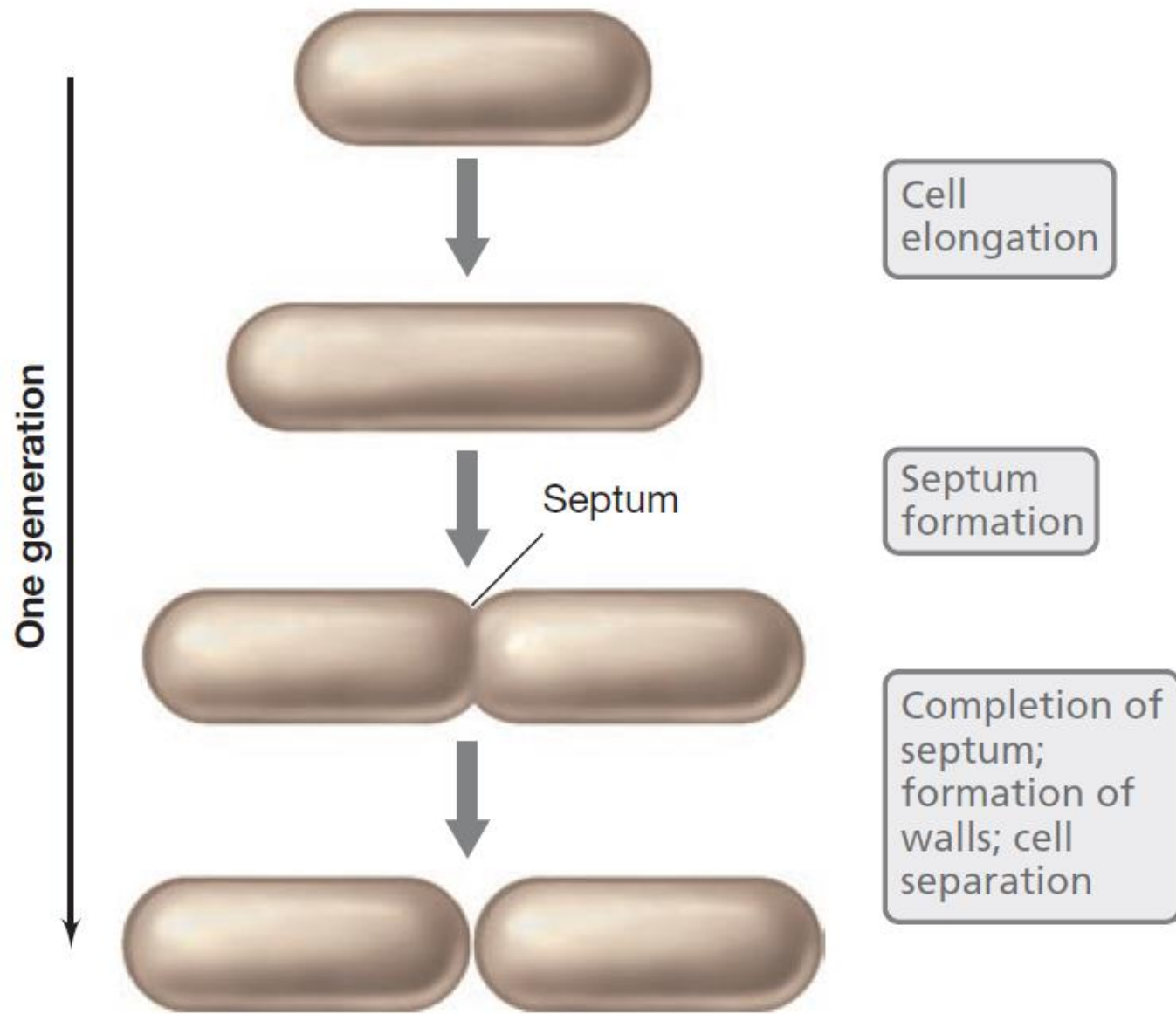


Figure 5.1 Binary fission in a rod-shaped prokaryote. Cell numbers double every generation.

- Bir generasyon sırasında hücresel bileşenlerin tümü doğrusal olarak artar ve hücrelerin dengeli büyüme durumunda olduğu ifade edilir. Her bir kardeş hücre bağımsız hücre şeklinde var olabilmek için kromozom ile ribozomlar, diğer bütün makromoleküler kompleksler, monomerler ve inorganik iyonlardan yeterli miktarda kopyalar almaktadır. Replikasyon olmuş DNA molekülünün iki kardeş hücre arasında paylaşılması bölünme sırasında membrana bağlı halde kalmış DNA'ya bağlıdır ve daralma kromozomların her bir kardeş hücreye bir tane gelecek şekilde ayrılmasına neden olur.

- Bakterilerde generasyonun ortaya çıkması için gereken zaman oldukça değişkendir ve hem beslenme, hem genetik faktörler hemde sıcaklığa bağlıdır.

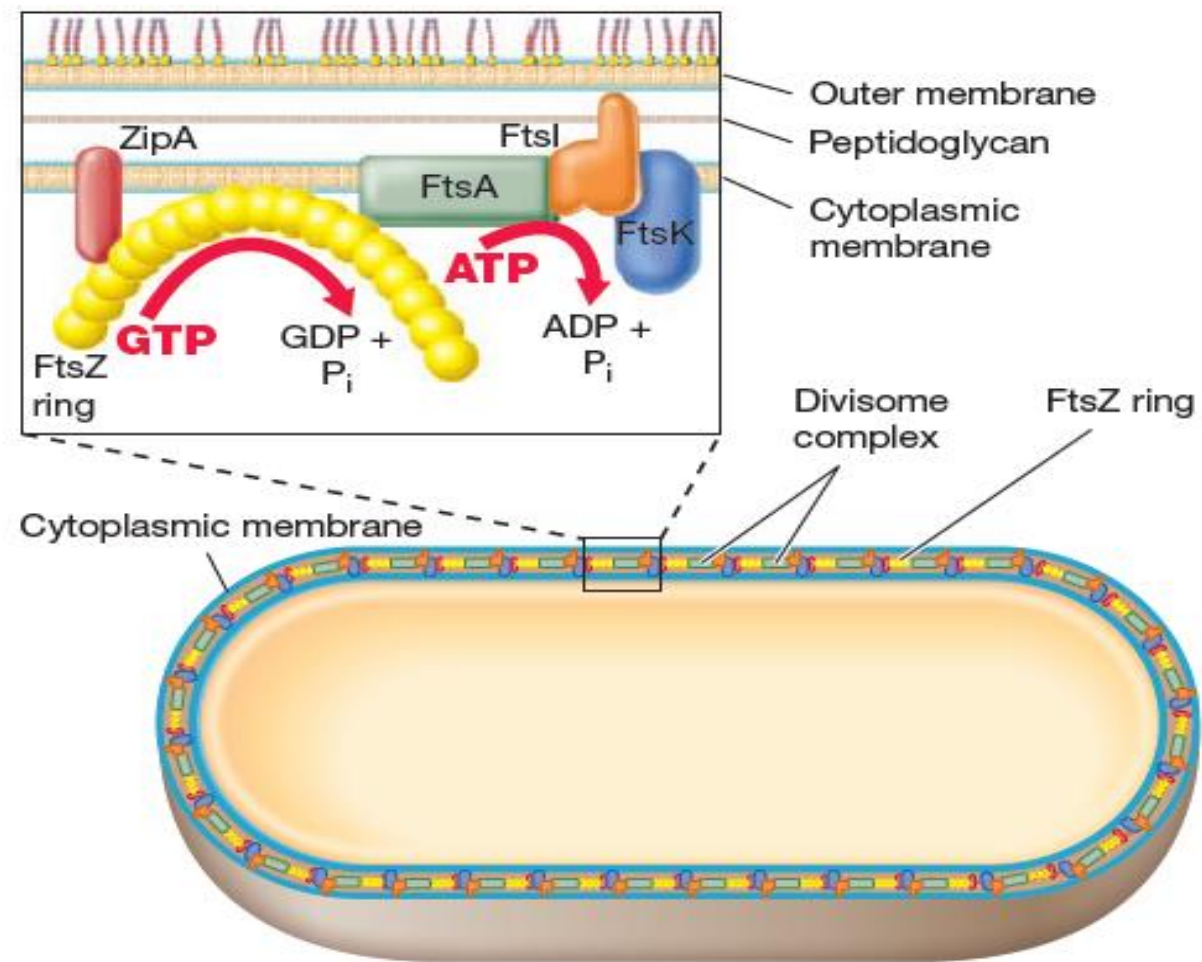
- **Fts proteinleri ve Hücre Bölünmesi**

- Bütün bakterialarda mevcut olan bir dizi protein hücre bölünmesi için gereklidir. Bu proteinler *FTS* proteinleri olarak adlandırılır ve en temeli olan **FtsZ** ikiye bölünerek çoğalma işlevinde önemli bir rol oynar.

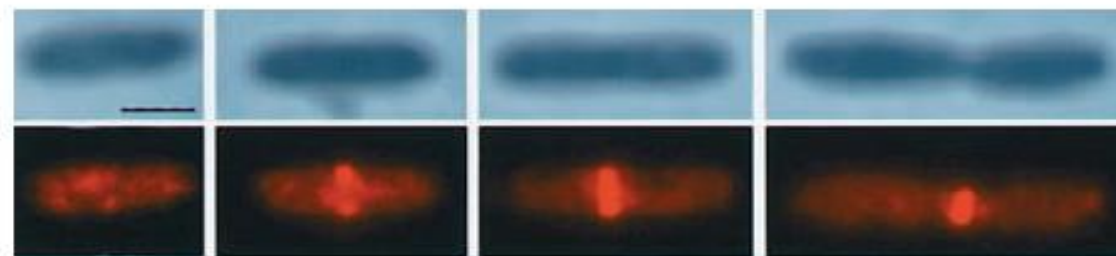
- **Divizom**

- Fts proteinleri hücrede birbiri ile etkileşime girerek divizom olarak adlandırılan bölünme aparatını oluştururlar. Çubuk şeklindeki hücrelerde divizom oluşumu FtsZ moleküllerinin tam hücrenin merkezin etrafındaki halkaya bağlanması ile başlar; bu halka hücre bölünme düzlemini oluşturacaktır.

- E.coli hücrelerinde yaklaşık 10000 FtsZ molekülü halka oluşturan şekilde polimerize olur ve daha sonra bu halka FtsA ve ZipA dahil olmak üzere diğer hücre bölünme proteinlerini çeker. Zip A, FtsZ halkasını sitoplazmik membrana bağlayan ve onu stabilize eden bir çapadır.
- Divizom FtsI gibi peptidoglikan sentezinde gerekli olan FTS proteinlerinin de içerir.
- Divizom, hücrenin uzunluğu orijinal boyunun iki misline çıkana kadar çubuk şeklindeki bir hücrenin merkezinde *divizom septum* olarak adlandırılan sitoplazmik membran ve hücre duvar materyal sentezini düzenler. Uzayan hücre daha sonra bölünerek iki kardeş hücre meydana getirir.



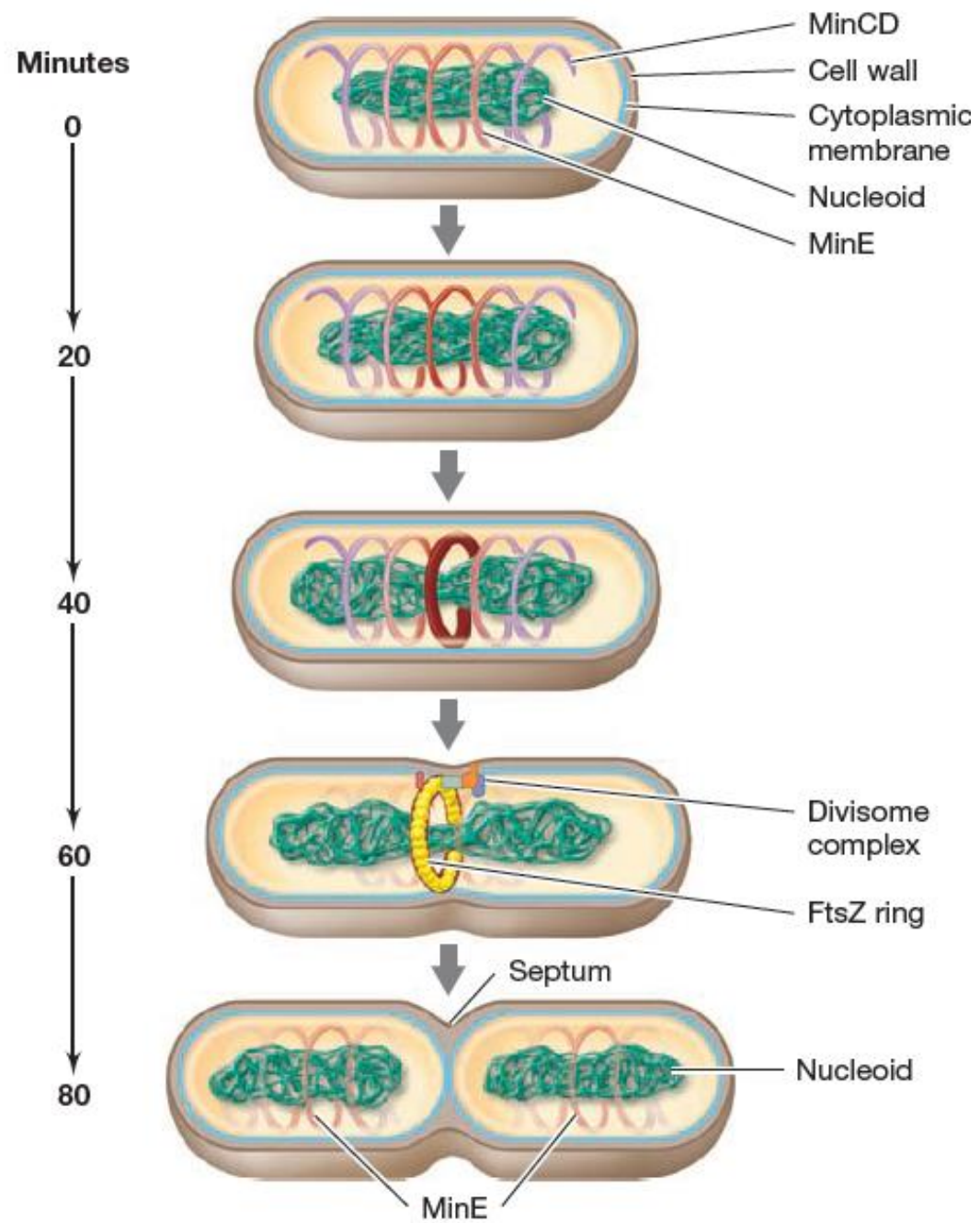
(a)



T. den Blaauwen & Nanne Nanninga, Univ. of Amsterdam

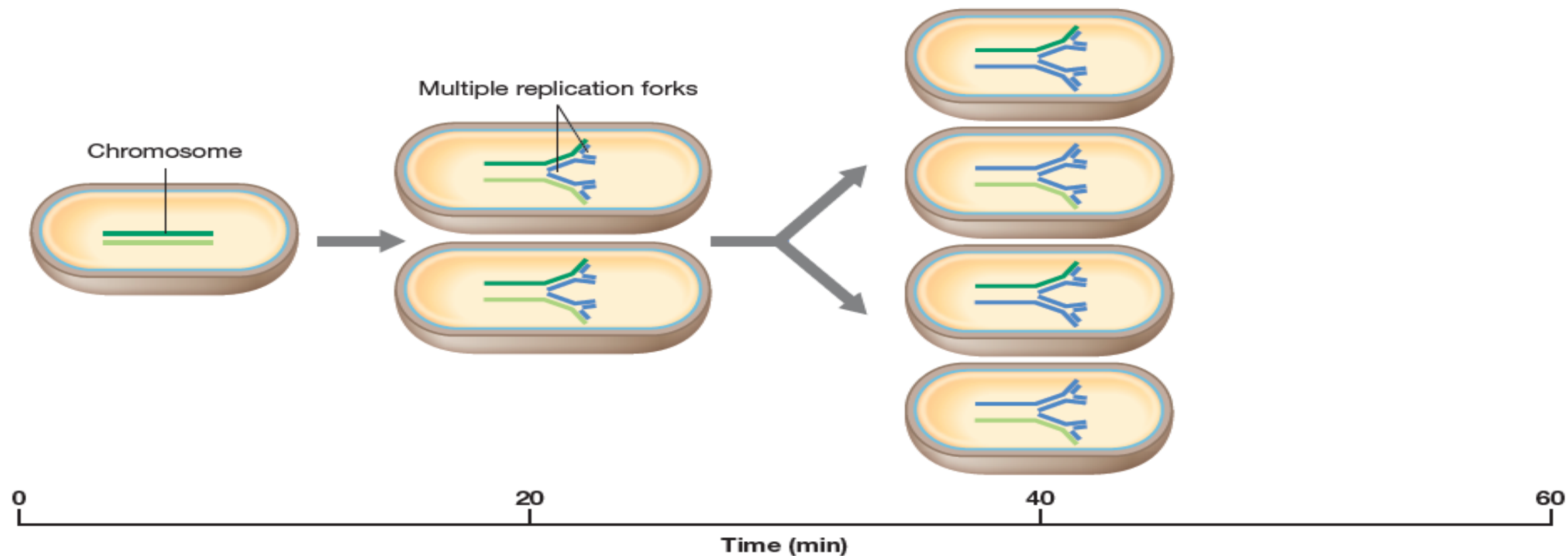
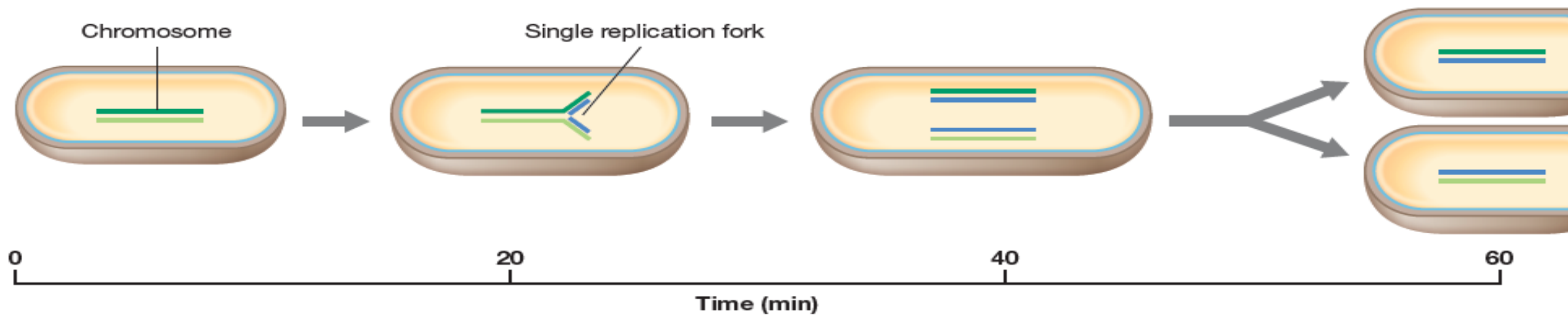
(b)

- **DNA replikasyonu, Min Proteinleri ve Hücre Bölünmesi**
- FtsZ halkası oluşmada önce DNA replike olur, çünkü halka duplike olmuş nükleoidler arasındaki boşlukta ortaya çıkar.
- MinC, MinD ve MinE proteinleri FtsZ'nin hücrenin tam ortasına yerleşmesine yardımcı olmak için birbirleri ile etkileşime girerler.
- MinD sitoplazmik membranın iç yüzeyinde sarmal bir yapı oluşturur. Bu protein yapıları hücre DNA'sı eşleştikten ve yeterli uzunluğa ulaştıktan sonra FtsZ proteinin (halkasının) replike olmuş DNA'nın tam ortasına bağlanmasına yardımcı olur.



- Hücre uzaması devam ederken ve septum oluşumu başlarken, kromozomun iki kopyası birbirinden uzaklaşır, her biri kendi kardeş hücrelerine geçer.
- **Hızlı-üreyen hücrelerde Genom replikasyonu**
- E.coli ve diğer bir çok prokaryot kromozomun halkasal yapısı DNA replikasyonunu hızlandırmak için bir fırsat yaratır. Bunun sebebi halksal genomlarda replikasyonun replikasyon orjininden *çift yönlü (bidirectional)* olmasıdır. Çift yönlü replikasyon esansında sentez bir kalıp zincir üzerinden meydana gelir ve bu DNA'nın mümkün olduğunca çabuk bir biçimde replike olmasına izin verir.

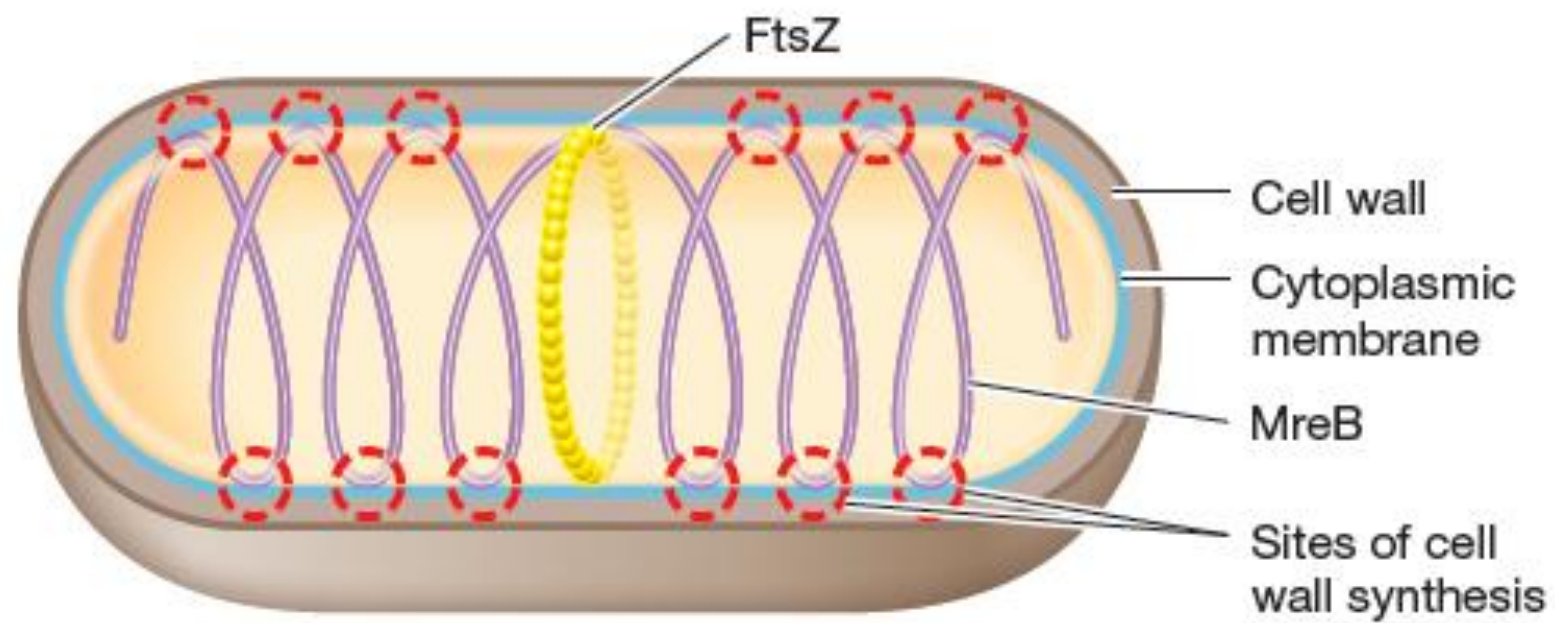
- Yapılan çalışmalarda E.colideki genom replikasyonu gerekli zamanı minimum 40 dakika olarak bulunmuştur. Ancak e.coli 20 dakıda bir bölünebildiğine göre bu sorunun üstesinden nasıl gelmiştir?
- Bu sorunun çözümü 40 dakikadan daha kısa bir ikilenme zamanında üreyen E.coli hücrelerinin *birden fazla DNA replikasyon çatalı* içermesidir. Yan DNA replikasyonun son turu tamamlanmadan önce DNA replikasyonunun yeni turu başlar ve dolayısıyla bazı genler birden fazla kopya halinde bulunur. Bu durum genomu replike etmek için gerekli olan zamandan daha kısa generasyon zamanlarında her bir kardeş hücrenin septum oluşum zamanında genomu ait bir kopyalama almasını sağlar.



- **MreB ve Hücre Morfolojisi**

- **Hücre şekli ve MreB**

- Bacteria'da en temel şekil belirleyen faktör MreB olarak adlandırılan bir proteindir. MreB bacterialarda basit bir hücre iskeleti oluşturur. MreB sitoplazmik membranın hemen altında hücrenin iççervresinde ipliklerden bir sarmal oluşturur. MreB hücre iskeleti, hücre duvarı büyümesinde görev yapan diğer proteinleri bir kalıp içerisinde toplayarak hücre şeklini belirler. Cubuk şeklindeki bakterilerde Mreb kodlayan genin in aktivasyonu hücrelerin kok şeklini almasına sebep olur.



(a)

- **Popülayon Üremesi**
- **Mikrobiyal Üremenin Kantitatif Yönleri**
- Hücre bölünmesi sırasında, tek bir hücreden iki hücre meydana gelir. Bunun gerçekleşmesi için gereken süre boyunca (generasyon zamanı) hem toplam hücre sayısı hemde kütle iki katına çıkar.
- **Üreme Döngüsü**
- Çeşitli nedenlerden dolayı kapalı kaplıta üretilen mikroorganizmalarda belli bir seviyeye kadar popülasyon artışı gözlenir. Daha sonra besin tükendikten sonra popülasyon çöküş aşamasına geçer.

- Bu yüzden popülasyon için tipik bir üreme eğrisi elde edilir. Üreme eğrisi; Lag fazı, üssel üreme, durgun faz ve ölüm fazını içeren üreme döngüsünün tümünü ifade eder.
- **Lag Fazı**
- Mikrobiyal kültür taze bir besi yerine inokule edildiğinde ürem *lag fazı* denilen bir sürecin ardından başlar. Bakteriler besi yerinde çoalmaya başlamadan önce çeşitli zorunlu bileşenleri sentezlemek zorundadır bunun içinde belirli bir zaman geçmelidir. Bu zaman lag fazı olarak adlandırılır.

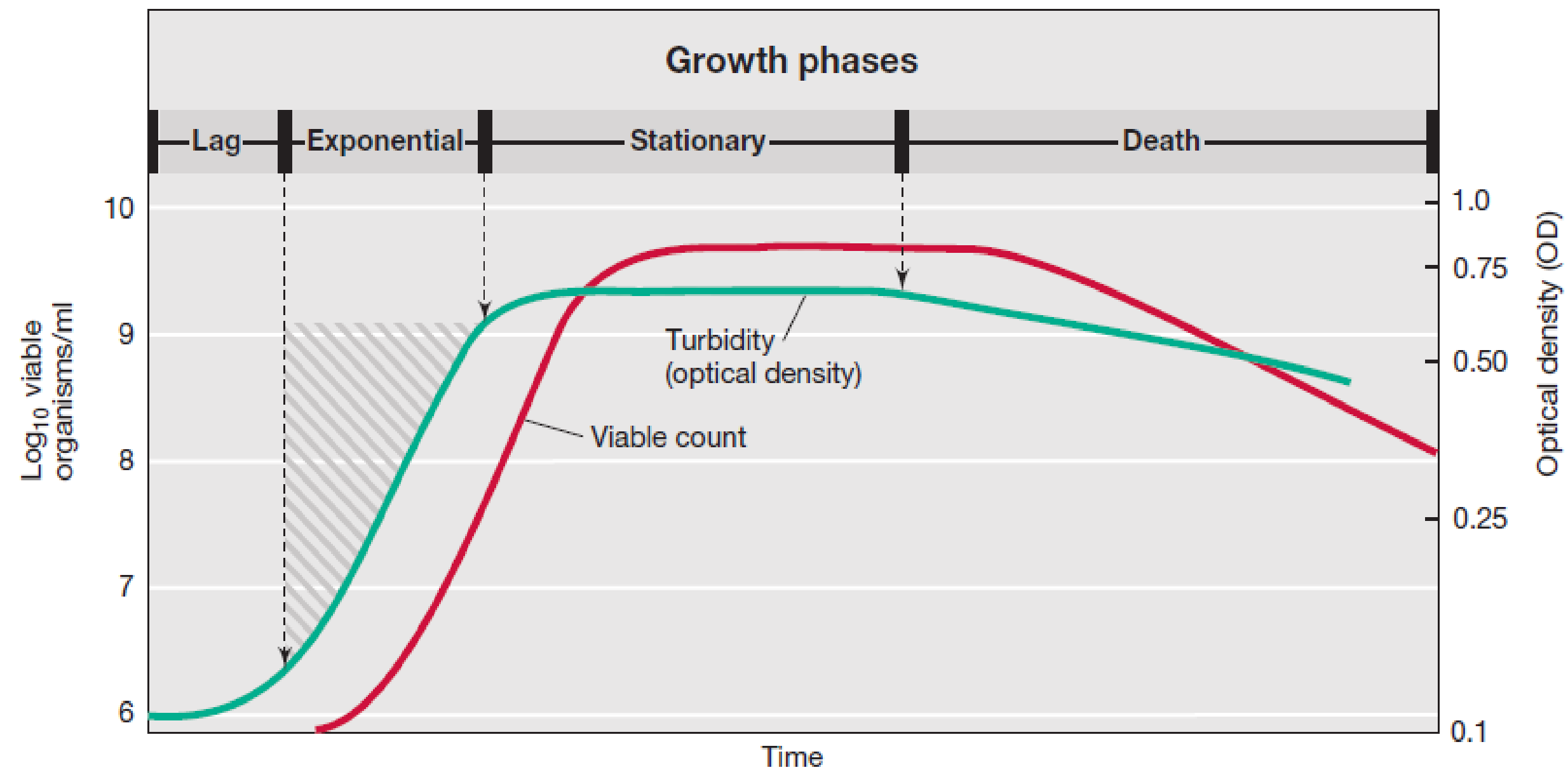
- **Üssel Üreme Fazı**

- Üssel üreme sırasında mevcut kaynaklar ve diğer faktörlere bağlı olarak hücre popülasyonu düzenli aralıklarla iki katına çıkar. Üssel olarak üreyen hücrelerin üremenin üssel fazında olduğu söylenir.
- Üssel üreme oranları büyük ölçüde farklılık gösterir. Üssel üreme hızı hem çevresel koşullardan (sıcaklık, besin yerinin bileşimi) hemde genetik özelliklerden etkilenir.

- **Durgun ve Ölüm Fazları**

- Kültür ortamındaki temel besinlerin tükenmesi veya üremiş olan mikroorganizmaların metabolik atıkları sonucu büyüme sınırlanır ve bir süre sonra durur. Bu sebeplerden logaritmik üreme sona erdiğinde popülasyon *durgun faza* girer.
- Durgun fazda hücre sayısında net bir artış yada azalış yoktur ve dolayısıyla popülasyonun üreme hızı sıfırdır.

- Bazı hücreler durgun fazda bölünebilirler ancak meydana gelen hücre sayısında net bir artış yoktur. Bunun nedeni popülasyondaki bazı hücrelerin çoğalmasına rağmen diğerlerinin ölmesidir. Bu iki işlem birbirini dengelemektedir (Kriptik üreme)
- Bununla birlikte er yada gec popülasyon logaritmik bir fonksiyon olarak meydana gelen üreme döngüsü ölüm fazına girecektir. Genelde hücre ölüm hızı üreme hızından çok daha yavaştır ve canlı hücreler popülasyonda günlerce hatta aylarca kalabilir.

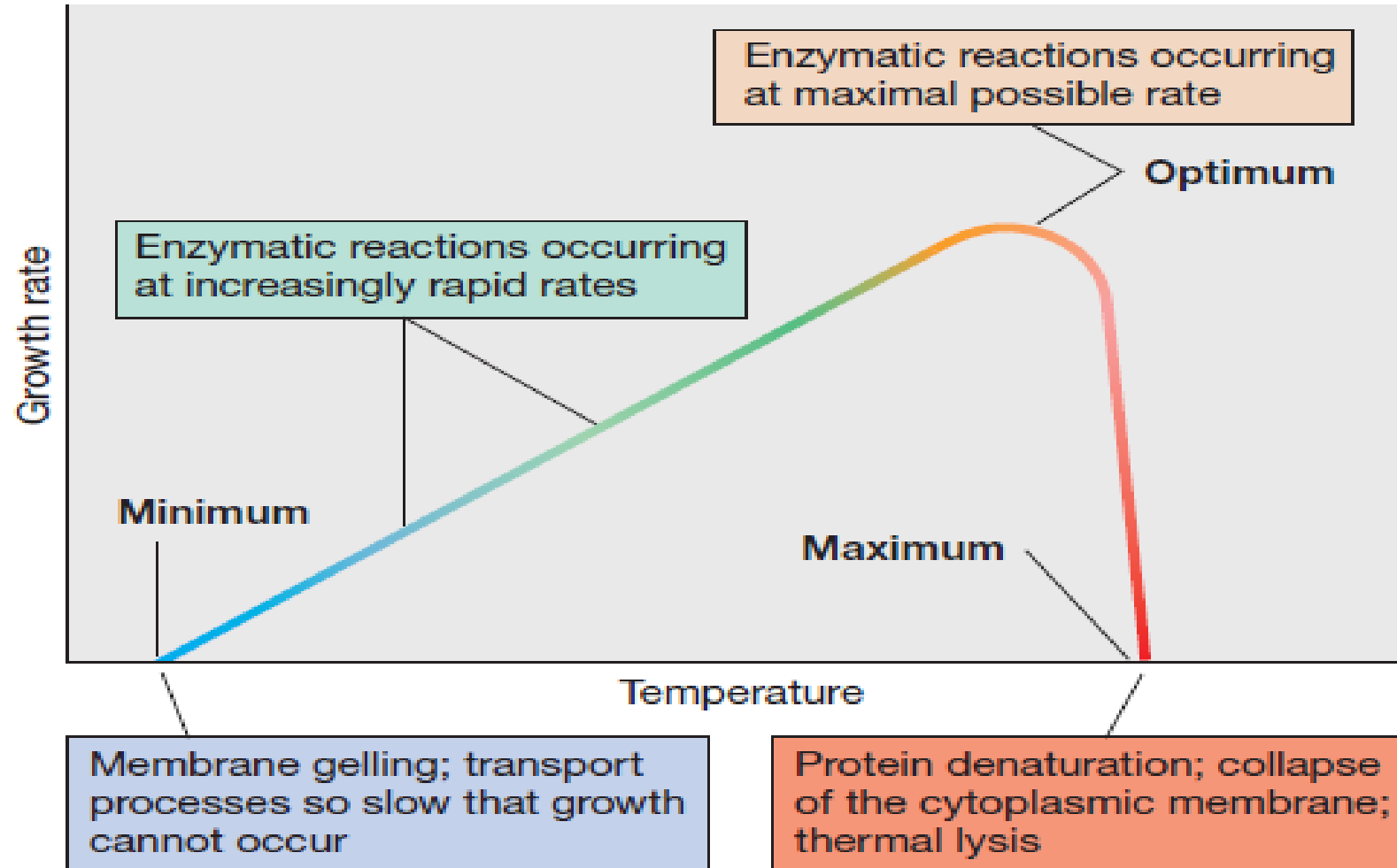


- **Sıcaklığın mikroorganizmalar üzerine etkisi**
- Mikroorganizmalar çevrelerinin kimyasal ve fiziksel durumundan büyük ölçüde etkilenirler ve dört faktör üremeyi büyük ölçüde kontrol eder.
- Sıcaklık,pH, suyun mevcudiyeti ve oksijen
- **Mikroorganizmaların sıcaklık sınıfları**
- Çok düşük yada çok yüksek sıcaklıklarda mikroorganizmalar üreyemez ve hatta ölebilirler. Üremeyi destekleyen minimum ve maksimum sıcaklıklar farklı organizmalar arasında büyük ölçüde değişir ve genellikle organizmanın yaşadığı çevrenin ortalama sıcaklığını ve sıcaklık aralığını yansıtır.

- **Kardinal sıcaklıklar**

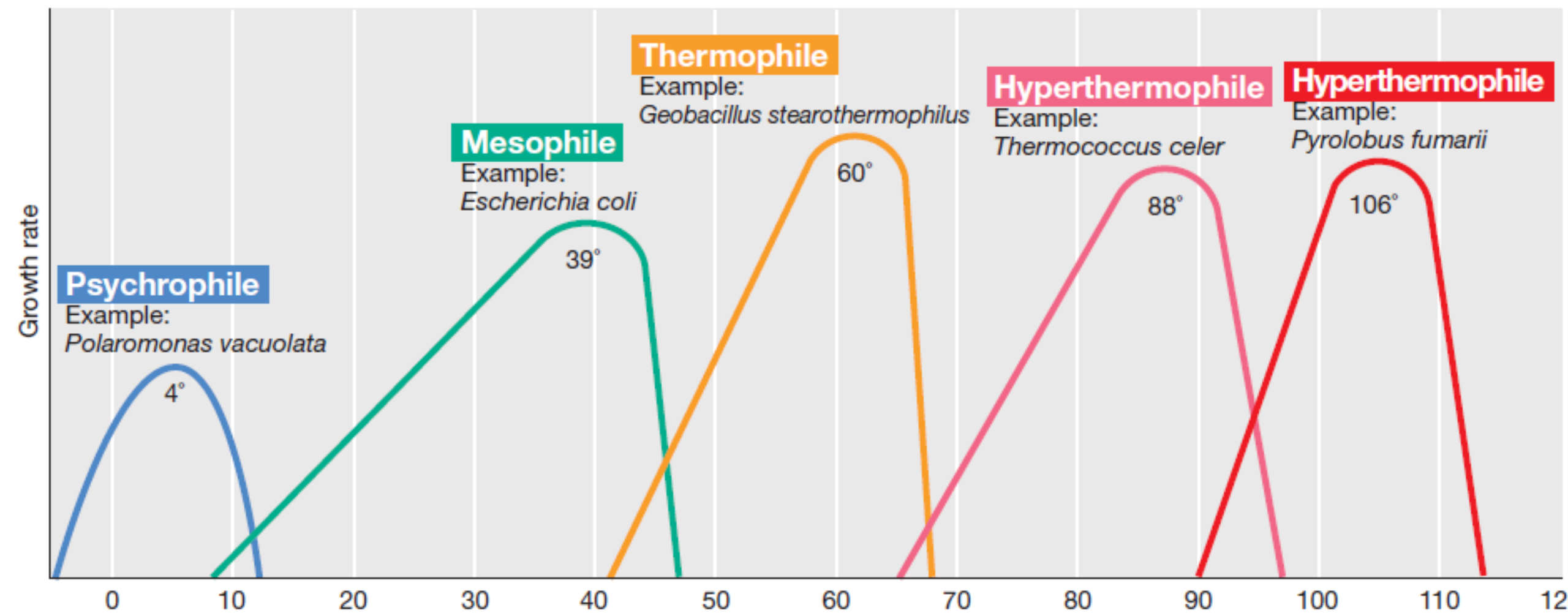
- Sıcaklık canlı organizmalarda iki karşıt şekilde etkiler. Sıcaklık arttıkça enzimatik tepkimelerin hızı artar ve üreme daha hızlı olur. Bununla beraber belirli bir sıcaklığın üstünde proteinler ve diğer hücre bileşenleri denature olabilir ve geri dönüşü olmayan bir şekilde zarar görebilir. Her mikroorganizma için altındaki değerlerde üremenin mümkün olmadığı minimum sıcaklık, en iyi üremenin olduğu optimum sıcaklık ve üzerindeki değerle üremenin mümkün olmadığı maksimum sıcaklıkları değerleri vardır.

- **Kardinal Sıcaklıklar** olarak adlandırılan bu üç sıcaklık her organizma için tipiktir ve türler arasında önemli ölçüde farklılık göstermektedir.



- Bir organizmanın maksimum üreme sıcaklığı daha yukarısında temel bir enzim gibi zorunlu hücre bileşenlerinden bir veya daha fazlasının denature olduğu sıcaklığı yansıtır. Bir organizmanın minimum üreme sıcaklığını kontrol eden faktörler net değildir. Bununla beraber besin transportunun ve biyoenerjik fonksiyonların gerçekleşebilmesi için sitoplazmik membranın yarı-akışkan durumda kalması gerekmektedir. Yani eğer organizmanın sitoplazmik membranı transport işlemlerini düzgün bir şekilde yerine getiremeyecek kadar artık proton motive gücü oluşturamayacak noktaya gelirse organizma üreyemez. Optimum sıcaklık ise hücresel bileşenlerin tamamının kendi maksimum hızlarında fonksiyon gösterdiği durumu yansıtmaktadır.

- **Organizmaların sıcaklık farkları**
- Organizmalar arasında çok düşük optimumlardan çok yüksek optimumlara uzanan bir devamlılık olsa da, sıcaklık optimumlarındaki üremelerine göre mikroorganizmaları dört geniş sınıfa ayırmak mümkündür: düşük optimum sıcaklığa sahip psikrofiller, orta aralıkta sıcaklığa sahip mezofiller, yüksek sıcaklığa sahip termofiller ve oldukça yüksek sıcaklığa sahip hipertermofiller.



- **Mikrobiyal üreme üzerinde diğer çevresel etkenler**
- **pH Etkisi**
- pH değeri 7 den küçük olanlar asidik 7 den büyük olanlar ise baziktir. Sıcaklık aralığına benzer şekilde her mikroorganizmanın 2-3 pH ünitelik pH aralığına sahiptir ve bu aralıkta üreme mümkündür. Ayrıca her bir organizma üremenin en iyi şekilde gerçekleştiği optimum bir pH değerine sahiptir.

Table 5.2 Relationships of microorganisms to pH

<i>Physiological class (optima range)</i>	<i>Approximate pH optimum for growth</i>	<i>Example organism^a</i>
Neutrophile (pH > 5.5 and <8)	7	<i>Escherichia coli</i>
Acidophile (pH < 5.5)	5	<i>Rhodospila globiformis</i>
	3	<i>Acidithiobacillus ferrooxidans</i>
	1	<i>Picrophilus oshimae</i>
Alkaliphile (pH $\geq$ 8)	8	<i>Chloroflexus aurantiacus</i>
	9	<i>Bacillus firmus</i>
	10	<i>Natronobacterium gregoryi</i>

^a*Picrophilus* and *Natronobacterium* are Archaea; all others are Bacteria.

- **Asidofiller**

- Ph 5.5 in altında en iyi şekilde üreme gösteren organizmalar asidofil olarak adlandırılır.
- Asidofil olmayı belirleyen kritik etmen sitoplazmik membranın stabilitesidir. pH nötrallik sınırlarına yükseldiğinde ekstrem asidofilik olan bakterilerin sitoplazmik membranları tahrip olur ve hücreler erir. Bu durum bu organizmaların sadece asidi tolere eden organizmalar olmadığını ve sitoplazmik membranın stabilitesi için yüksek konsantrasyonlarda protonların aslında gerekli olduğunu göstermektedir.

- **Alkalifil**

- 8 veya daha fazla pH optimumunda üreme gösteren bakteriler **alkalifiller** olarak adlandırılır. Bazı alkalifilik bakteriler aynı zamanda halofiliktir.
- Sitoplazmik membranın dış yüzeyi oldukça bazik olduğundan hücre proton motif gücü üretmekte zorlanmaktadır. Bu sorunu gidermek için transport tepkimeleri ve hareketi desteklemek için H⁺ den ziyade sodyum (Na⁺) kullanımıdır. Yani proton motive gücüne yerine sodium motive eder.

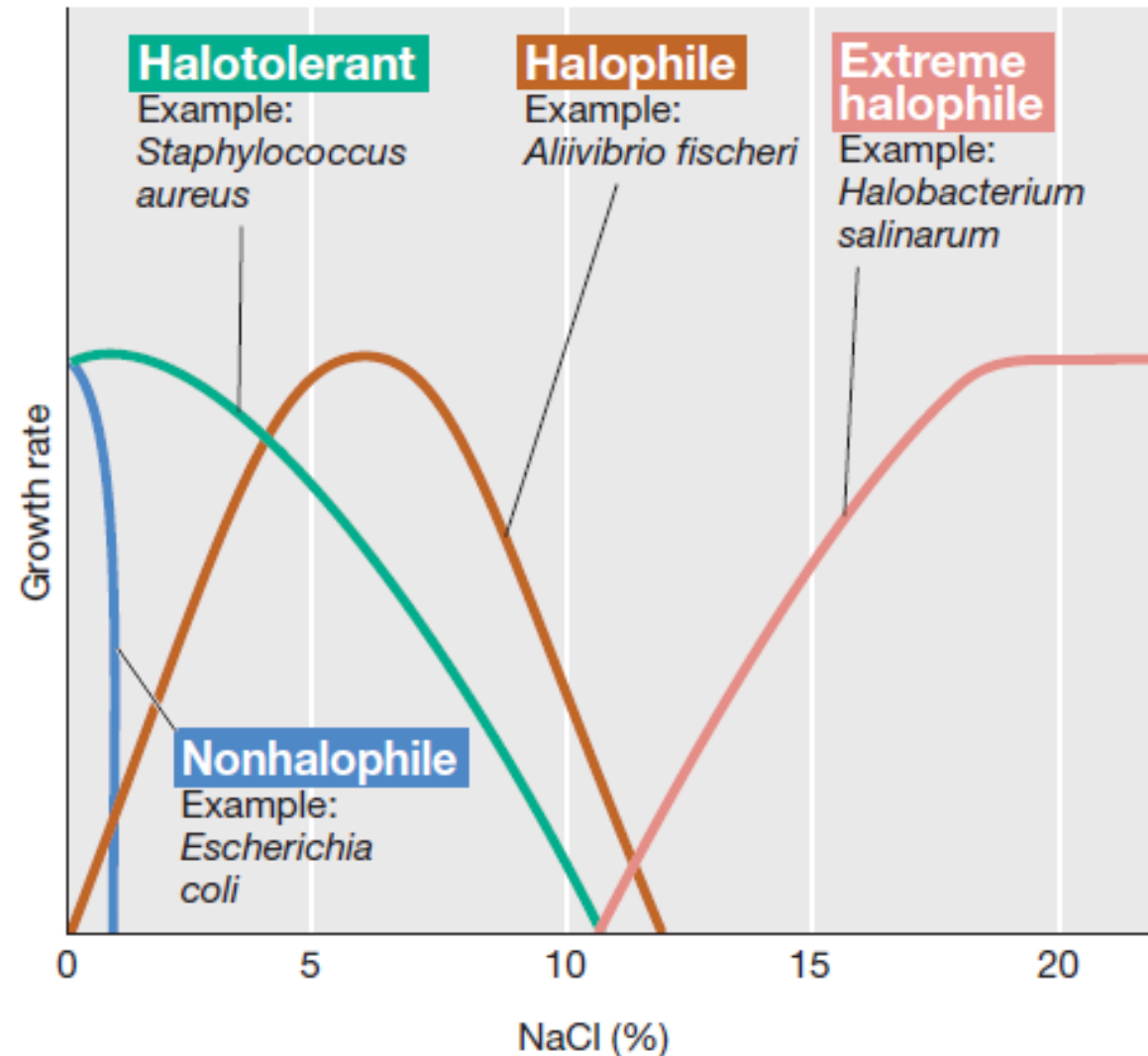
- **Sitoplazmik pH ve tamponlar**
- Organizma üremesi gerekli optimal pH sadece hücre dışı ortamı ifade eder; makromoleküllerin tahribatını engellemek için hücre için pH nötr olmalıdır.
- Kesikli kültürlerde mikrobiyal üreme sırasında pH daki büyük değişiklikleri engellemek için kültür ortamına üreme için gerekli besinlerle beraber cogunlukla tamponlar eklenir.

- **Ozmolarite ve Mikrobiyal üreme**

- Su yaşam için çözücüdür ve suyun kullanabilirliği mikroorganizmaların üremesini etkileyen önemli bir faktördür.
- Suyun kullanılabilirliği, **su aktivitesi** olarak adlandırılır. Ozmozda su yüksek konsantrasyona sahip olduğu bölgeden (düşük çözünen konsantrasyonu) düşük su konsantrasyonu (yüksek çözünen konsantrasyonu) olduğu bölgeye doğru hareket etme eğilimindedir. Bir hücrenin sitoplazması tipik olarak ortama göre yogundur ve suyun eğilimi hücreye girme yönündedir. Bu durum *pozitif su dengesi* olarak ifade edilir ve bu durum normaldir.

- Ancak hücreden daha yoğun ortamda hücre içindeki su dışarı çıkmak isteyecektir. Hücre bununla başa çıkacak bir stratejisi yoksa dehidre olacak ve üremesi mümkün olmayacaktır.
- **Halofiller ve bunlarla ilişkili mikroorganizmalar**
- Deniz suyu gibi yüksek tuz konsantrasyonunun olduğu ortamlarda üreyebilen bakteriler halofiller olarak adlandırılır.
- Halofillerin aksine organizmalar belirli bir seviyeye kadar olan çözeltiyi tolere edebilir konsantrasyon artarsa üremeleri durur bu organizmalara **halotolerant** adı verilmektedir.

- Oldukca tuzlu ortamlarda üreme yeteneği gösteren halofiller ekstrem halofiller olarak adlandırılır.



- **Oksijen ve mikrobiyal üreme**
- **Mikroorganizmaların Oksijen sınıfları**
- Mikroorganizmalar oksijen ihtiyaçlarına göre gruplandırılır. **Aeroplalar** tam oksijen derişiminde üreyebilir. **Mikroaerofiller**, sadece havada mevcut olandan daha az seviyede mevcut olan oksijen kullanan aeroplardır.
- Pek çok aerop **fakültatif** tir yani uygun besin ortamında O₂ yokluğunda bile üreyebilirler.

- Bazı organizmalar oksijenli solunum yapmazlar ve **anaerop** olarak adlandırılırlar. İki tip anaerop vardır: O₂ yi tolere eden kullanmasada varlığında üreyebilen aerotolerant anaeroblar ve O₂ varlığında inhibe olan hatta olen zorunlu anaeroblar. Anoksik mikrobial habitat doğada oldukça yaygındır.

Table 5.5 Oxygen relationships of microorganisms

<i>Group</i>	<i>Relationship to O₂</i>	<i>Type of metabolism</i>	<i>Example^a</i>	<i>Habitat^b</i>
Aerobes				
Obligate	Required	Aerobic respiration	<i>Micrococcus luteus</i> (B)	Skin, dust
Facultative	Not required, but growth better with O ₂	Aerobic respiration, anaerobic respiration, fermentation	<i>Escherichia coli</i> (B)	Mammalian large intestine
Microaerophilic	Required but at levels lower than atmospheric	Aerobic respiration	<i>Spirillum volutans</i> (B)	Lake water
Anaerobes				
Aerotolerant	Not required, and growth no better when O ₂ present	Fermentation	<i>Streptococcus pyogenes</i> (B)	Upper respiratory tract
Obligate	Harmful or lethal	Fermentation or anaerobic respiration	<i>Methanobacterium formicicum</i> (A)	Sewage sludge, anoxic lake sediments

- **Aeroblar ve Anaeroblar için Kültür Teknikleri**
- Aerobların üremesi için yoğun bir seklide havaladırmaya ihtiyaç vardır. O yüzden ekim yapılmış besi ortam sürekli bir calkalayıcı ile karıştırılmalı yada özel düzenekler ile ortama sürekli oksijen girmesi sağlanmalıdır.
- Anerob kültürü için sorun O₂ sağlamak değil oksijeni uzaklaştırmaktır. Besi yerlerine ayrıca oksijen bağlayan ajanlar koymak bu yöntemin en önde gelen yapısıdır. Tiyoglykat adı verilen besi ortamı ortamdaki O₂ yi bağlayarak suya dönüştürür.

- Tiyoqlikat t p boyunca O₂ ile reaksiyona girdikten sonra O₂ sadece besinin hava ile temas ettiği bölgede bulunur. Zorunlu aeroplara bu tip tüplerin yalnızca üst kısmında bulunur. Fakültatif organizmalar t p boyunca  rerler ancak üreme üst kısma yakın bölgelerde daha iyidir. Mikroaerofiller  st kısma yakın b lgerde ama doğrudan üst bölge olmyan yerde  rerler. Anaeroblar ise oksijenin ulaşamayacağı sadece dibe yakın kısımlarda  rerler.

