

Mutasyonel Değişimler ve Veteriner Virolojideki Önemi

Kadir YEŞİLBAĞ*

Geliş Tarihi: 19.06.02

Özet: DNA bir çok canlı türünde oldukça stabil bir yapı gösterir. Bu durum büyük oranda DNA polimerazın sahip olduğu eksonükleaz aktivitesiyle ilişkilidir. Oysa RNA viruslarında her 10^4 baz bağlanmasında bir yanlış eşleşmenin olabileceği bilinmektedir. Bu derlemede nükleik asit baz dizininde meydana gelen değişiklikler sebepleri, moleküler mekanizmaları ve sonuçlarıyla ele alınmış ve hayvan viruslarının epidemiyolojisi veya patogenezinde mutasyonların rollerine ilişkin çarpıcı örnekler verilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Mutasyon, Mutajenler, Mutasyon mekanizmaları, Mutant tipleri, Hayvan virusları

Mutational Changes and Veterinary Virology

Summary: As genetic material DNA is very stable in most of the species. This situation is highly related to exonuclease activity of DNA-polymerase. In the contrary, there is at least one mis-matching for 10^4 nucleotide base pair in viral RNA. The reasons, molecular mechanisms and results of changes in nucleic acid sequences are comprehensively reviewed here with special samples for veterinary virology.

Key Words: Mutation, Mutagens, Mechanism of mutations, Mutants, Animal viruses

Giriş

Viruslar kendi başlarına çoğalma yeteneğine sahip olmayan fakat enfekte ettikleri canlı hücrelerin enerji ve sentez mekanizmasını kullanarak kendilerini sentez ettiren böylece devamlılıklarını sağlayan en küçük enfeksiyöz ajanlar arasında yer alır. Bu yeteneği yapılarında taşıdıkları DNA veya RNA karakterindeki genomlarına borçludurlar.

Doğal konakçıları veya bunların dışındaki sistemlerde (deneme hayvanı, hücre kültürü, embriyolu tavuk yumurtası) çoğalmaları sırasında zaman zaman viral genomlardaki baz diziliminde değişimler şekillenebilir. Bu değişimlerin bir kısmı çoğalma siklusu sırasında doğal yollarla tamir edilir. Nükleotid dizininde veya nükleotidlerin yapısında meydana gelen, genetik şifrede değişime neden olan, dolayısıyla sentez edilecek polipeptidin yapısını ve/veya işlevini bozan kalıcı değişiklikler *mutasyon* olarak tanımlanır. Mutas-

yon sonucu oluşan yeni tip ise *mutant*'tir. Virusların doğal konakçıları dışında bir sistemde üretilmeleri, immunolojik ve çoğalma yetenekleri kaybolmaksızın, patojenik yeteneğinde (virulens) azalma ile sonlanabilir. *Attenüasyon* olarak bilinen bu durumun moleküler temelinde de spontan mutasyonlar yatmaktadır^{16,39}.

Mutasyonlar tüm mikroorganizma türlerinde benzer nedenler ve benzer mekanizmalarla oluşur. Bu derlemede konu özellikle viruslar açısından ele alınmakla birlikte, temel bilgilerin diğer mikroorganizma genomları için de geçerli olacağı değerlendirilmelidir.

1. Viruslarda Genetik Materyal ve Viral Protein Sentezi

Enfektif virus partikülü tek tip nükleik asit taşıyıcı (DNA veya RNA). Genetik materyalde ana yapıyı nükleotid bazları oluşturur. Bunlar A (adenin), G (guanin), C (sitozin), T (timin) ve U (urasil)'den ibarettir. İlk iki baz purin bazları, son

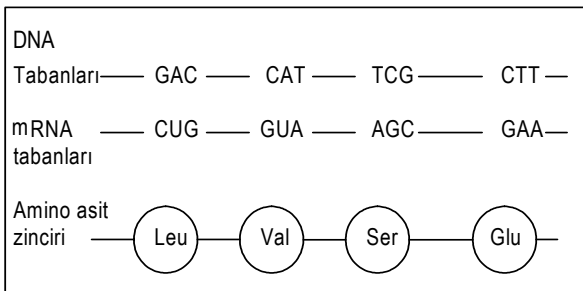
* Araş.Gör.Dr.: UÜ Vet Fak Mikrobiyoloji ABD Viroloji BD Bursa/ Türkiye

3 baz ise pirimidin bazları olarak bilinir. Çift iplikçikli DNA yapısında bir purin bazı ile karşı zincirdeki bir pirimidin bazı eşleşir (A—T, G—C). RNA da ise T 'nin yerini U almıştır.

Viral genomlar tek iplikçikli veya çift iplikçikli olabileceği gibi tek parçalı veya segmentli bir yapıya da sahip olabilir¹⁸. Viral çoğalma stratejilerinde asıl dikkat çeken ise genomun polaritesidir. Genetik materyalin özgün bir proteini kodlama yeteneğine sahip bölümüne **Gen** (sistron) adı verilir. Segmentli genomlarda her segment bir proteini kodlar^{3,16,39}. Viruslarda bulunan gen sayıları virus türüne göre önemli farklılıklar gösterir. Bazı viruslarda (parvo ve picornaviruslar) sadece birkaç gen bulunmasına karşın poxvirus ve herpesvirus genomlarının 150-400 kadar gen taşıdığı hesaplanmaktadır. Bunların büyük bir bölümü çoğalma ve olgunlaşmada görevli enzimleri kodlamaktadır³⁹.

Kodon (veya triplet) ise nükleik asit zincirinde ard arda gelen üç nükleotid bazın oluşturduğu yapıdır ve her kodon belli bir aminoasiti kodlar. Ancak UAG (amber), UAA (Ochre) ve UGA (Opal) kombinasyonundaki kodonlar herhangi bir bilgi kodlamazlar ve dizilime girdikleri noktada protein sentezi durur³. Bu kodonlar “stop kodon” veya “terminasyon kodonu” olarak adlandırılır.

Nükleik asitteki bazların dizilimi türe özeldir ve böylece genetik bilgi oluşur. Protein sentezi sırasında DNA üzerindeki bu bilgiler transkripsiyonla mRNA'ya aktarılır. Oluşan mRNA kodonları da DNA'dakilere benzer ancak homologu olan bazlardan oluşmuştur. mRNA'ların ribozomlarda translasyonu sonucu polipeptid zinciri sentez edilir⁶. RNA virüslerinde ise durum biraz daha farklıdır. Pozitif polariteli RNA virus genomları direkt olarak mRNA gibi görev yapar. Negatif polariteli RNA virus genomları ise öncelikle virion bağımlı RNA polimerazları kullanarak mRNA sentezlemek durumundadır¹⁶ (Şekil 1).



Şekil 1:
Protein sentez mekanizması

2. Mutasyonların Oluşum Şekilleri ve Oranları

Viral nükleik asit dizinlerinde meydana gelen en önemli ve geniş çaplı değişimler mutasyonlardan kaynaklanır ve bu değişikliklerin büyük bir kısmı letal niteliktedir^{16,23}. Bazı mutasyonlar ise fenotipik veya antijenik değişimle sonuçlanır. Genom üzerinde sürekli mutasyona uğrayan noktalar (hot spot) söz konusu olabilir. Şayet bu noktalar ajanın virülensi veya antijenik determinantlarını kodluyorsa bu özellikler sürekli değişim gösterebilir³⁸.

Mutasyonlar oluşan değişikliğin lokalizasyonu ve büyüklüğüne göre “nokta mutasyonlar” ve “kalıp değiştirme mutasyonları” olarak sınıflandırılır. *Nokta mutasyonlar* sadece bir veya birkaç baz çiftini kapsayan değişikliklerdir. Çoğunlukla baz değişimleri şeklinde ortaya çıkar ve moleküler ağırlıkta herhangi bir değişim oluşmaz^{11,16,21}. Bu tür mutasyonlar, sonuçta yapısal ve fonksiyonel olarak önemli değişimlere sebep olmaz. *Kalıp değiştirme mutasyonları* daha geniş çaplıdır ve baz dizinine bir veya bir kaç bazın girmesi veya çıkmasıyla şekillenir^{11,14}. Dolayısıyla mutasyon noktasını takip eden bölgede baz dizilimi değişir ve böylece oluşacak proteinin yapısı veya fonksiyonu değişmiş olur. Bu tür değişimlerde çoğunlukla mutasyon noktasına yakın bir noktada terminasyon kodonu oluşur ve normalden daha kısa zincire sahip anormal protein sentezi ile sonuçlanır²⁶.

Mutasyonları oluşum şekillerine göre ise doğal yaşamda kendiliğinden oluşan “spontan mutasyon” ve laboratuvar şartlarında uyarılmak suretiyle oluşturulan “indükte mutasyonlar” olarak iki gruba ayırmak mümkündür.

2.1. Spontan Mutasyon

Viral enfeksiyonlarda çok az sayıda virus partikülünden milyonlarca yeni virus partikülü oluşur. Böylesine büyük popülasyonlarda nükleik asitin kopyalanması sırasında hataların oluşması doğaldır, ki bu hatalar spontan mutasyon olarak tanımlanır^{1,16,23}. Bu durum tamamen tesadüfi olarak ortaya çıkar ve temelinde çoğunlukla baz yer değişimleri yatar¹⁴.

Spontan mutasyon oranları viral genom türüne göre değişiklik gösterir. Bu oran DNA genomları için 10^8-10^{11} , RNA genomları için ise 10^4-10^5 nükleotid bağlanmasında bir hata olarak hesaplanmıştır^{13,18}. Yani 10kb büyüklüğünde genoma sahip olan bir RNA virusunda her 10

progeni RNA'dan biri mutant olabilir. Bu farklılığın başlıca sebebi olarak DNA polimeraz enziminin bir tamir (proffreading) mekanizması gibi davranması, oysa RNA polimerazda böyle bir özelliğin bulunmaması gösterilmektedir^{16,23,30}. Buradan çok önemli iki sonuca varılabilir.

1. RNA viruslarında saha suşu (wild type) kavramı oldukça subjektiftir. Çünkü bu özelliklerini uzun süre koruyamazlar

2. Spontan mutasyonlar sebebiyle genetik olarak homojen ve yüksek titreli virus stokları oluşturmada problemlerle karşılaşılabilir.

Sonuç olarak RNA viruslarında klasik tür kavramının yetersiz kalabileceği düşünülebilir ve bu durum "quasispecies" (varsayılan tür) kavramı ile açıklanabilir^{9,18}.

2.2. İndükte mutasyon

Viruslarda veya izole edilmiş enfektif nükleik asitlerinde fiziksel veya kimyasal müdahalelerle uyarılmak suretiyle laboratuvar şartlarında oluşturulan mutasyonlardır^{15,23}.

3. Mutajenler

Mutasyon oluşumuna sebep olan veya başka bir deyişle popülasyonda mutasyon oranını artıran etkenler **mutajen** olarak tanımlanır^{14,21,30}. Mutajenler direkt olarak virus süspansiyonuna uygulanabileceği gibi hücre kültüründe virus çoğalması sırasında da uygulanabilir. Bu bölümde en yaygın kullanım alanı bulan mutajenler temel özellikleriyle ele alınmıştır.

3.1. Kimyasal Mutajenler

a) *Baz analogları*: Bunların moleküler yapıları nükleotid bazlara çok benzer ve DNA kopyası çıkarılırken bazların yerine girerek kimyasal yanılmalara neden olurlar³⁰. Bu grupta yer alan 5-bromourasil bir timin analogu iken 2- aminopurin adenin analogudur.

b) *DNA tabanlarını değiştiren ajanlar*: Çoğalma aşamasında olmayan genomlara etkiyen bu ajanlardan nitröz asiti bazları deamine ederken hidroksilamin, sitozin ile reaksiyona girer ve hidroksilaminositozin oluşumuna sebep olur¹⁴.

c) *Alkilleyici ajanlar*: Bu grupta yer alan nitrosoguanidin, etilmetan sulfonat ve nitrojen mustard gibi bileşikler bazlardaki azot molekülüne bir alkil grubu ekler^{4,17,21,30}.

d) *Asilleyici ajanlar*: Bu ajanlar amino ve karboksil gruplarını etkiler. Ancak nötral pH da

etkin değildirler. Asetik, süksinik ve maleik anhidrit örnek olarak verilebilir¹⁷.

e) *İnterkelasyon yapan ajanlar*: Bu grupta akrinin boyaları (akriflavin, proflavin, acridin orange) yer alır. Özellikle dsDNA üzerine etkili olan bu ajanlar çoğalma basamağında tek iplikcik halindeki DNA molekülünde baz dizinleri arasına girerler^{2,21}.

3.2. Fiziksel Mutajenler

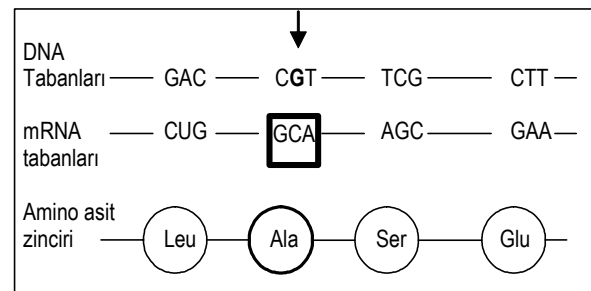
a) *Isı ve pH*: Bu etkenler depurinasyona (purin bazlarının giderilmesi) neden olurlar

b) *Işıklar*: İyonize ışınlar (x ve gama) DNA molekülünde delesyon veya inzersiyonlara neden olurken non-iyonize ışın (ultraviyole) DNA molekülünde yan yana bulunan pirimidin bazları arasında dimerleşmelere yola açar^{2,14,21,30}.

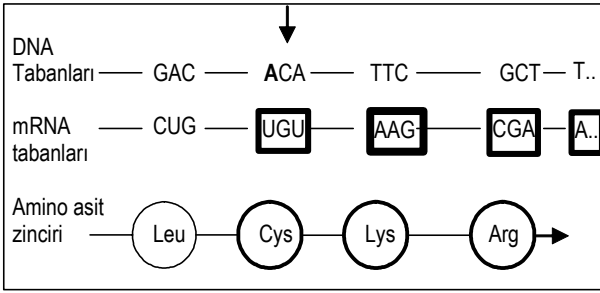
4. Mutasyon Mekanizmaları

Mutasyonlar moleküler düzeyde dört tip değişimden köken alır. Bunlar baz yer değişimleri, dizine bir veya birkaç baz çiftinin girmesi veya çıkması, bazlar arasında bağların oluşması ve intramoleküler bağların kopması şeklinde ortaya çıkar.

4.1. Bir baz çiftinin yerini başka bir baz çiftinin alması: Bu tip değişiklikler nokta mutasyonları oluşturur. Meydana gelecek baz değişimi sadece bir kodonu, dolayısıyla sadece bir amino asiti ilgilendirir (Şekil 2). Oysa bir baz dizini tarafından kodlanan polipeptid zincir yüzlerce amino asit içerdiğinden bu tip bir değişiklik ilgili proteinde önemli bir fonksiyonel bozukluğa yol açmaz^{2,6}. Purin bazları (A, G) veya pirimidin (C, T) bazları arasında meydana gelen yer değişimleri *transisyonel mutasyon*, purin ve pirimidin bazlarının karşılıklı yer değiştirmesi *transversiyonel mutasyon* olarak tanımlanır.



Şekil 2:
Baz değişim mekanizması



* Değişime uğrayan baz, kodon veya aminoasitler kalın karakterle gösterilmiştir

Şekil 3:

Baz inzersiyonuyla oluşan değişim

4.2. Baz dizinine bir veya birkaç baz çiftinin girmesi (inzersiyon) veya çıkması (delesyon): Genomdaki dizilime bir baz çiftinin girmesi ile oluşacak değişim Şekil 3'te gösterilmiştir. Görüldüğü gibi tek bazın inzersiyonu takip eden tüm dizilimi bozmuştur. Bunun sonucunda sentezlenecek amino asitlerin değişimine bağlı olarak ilgili proteinin fonksiyonları ya değişecek yada tamamen kaybolacaktır^{2,4,6,22,34}. Aynı mekanizma baz delesyonları için de söz konusudur. Genomdan birden fazla bazın hatta total olarak bir genin çıkması söz konusu olabilir. Doğaldır ki bu tip değişimlerin geri dönüşümü oldukça zordur.

4.3. Bazlar arasında bağların oluşması (dimerizasyon): Pirimidin bazları arasında kovalent bağ oluşumuna dayanan bu mekanizmada başlıca etken UV ışınlarıdır. Dimerizasyon nedeniyle DNA zincirinde yan yana veya karşılıklı yer alan pirimidin bazları arasındaki mesafe kısalmıştır. Buna bağlı olarak DNA'da yamulmalar ortaya çıkar ve bu bölgeler transkripsiyon sırasında atlanır^{2,4}.

4.4. Bazlarla şekerler ve şekerlerle fosfatlar arasındaki bağların kopması: Bu gibi durumlarda DNA'nın bütünlüğü bozulur.

5. Mutasyonların Fonksiyonel Sonuçları

Nokta mutasyonlar çoğunlukla baz yer değişimleri ile oluşur ve değişim bir kodonla sınırlıdır. Kodonun stop kodona dönüşmesi ile bu noktadan itibaren polipeptid sentezi durabilir. Çoğunlukla letal nitelikteki bu tip değişimler *nonsense mutasyon* olarak tanımlanır. Değişen kodonun stop kodona dönüşmemesi durumunda polipeptid zincirinde sadece bir amino asit değişir. Sentezlenecek proteinin fonksiyonu açısından fazla önemli olmayan bu durum *missense mutasyon* olarak tanımlanır. Kodonun üçüncü bazında meydana

gelen yer değiştirmeler çoğunlukla sentezlenen amino asiti de değiştirmez. Bu tip değişimler ise *belirsiz (silent) mutasyon* olarak adlandırılır^{16,26}. Kalıp değiştirme mutasyonlarında ise nihai protein fonksiyonu ya tamamen değişmekte yada kaybolmaktadır.

Bazen mutasyon sonucu bir proteinin değişmesi birden fazla özelliğin değişimine neden olabilir. *Pleiotropizm* olarak tanımlanan bu duruma en iyi örnek olarak influenza virus hemagglütinini verilebilir. Bu proteinde meydana gelen bir değişiklik virusun hemagglütinasyon, glikoprotein inhibitörlere duyarlılık, antijenite ve belli konakçılarda gelişme yetenekleri üzerine etkili olabilmektedir¹⁶.

6. Mutant Tipleri

Mutasyonlar sonucu oluşan viral mutant tipleri 8 grupta toplanabilir.

6.1. Kondisyonel (şarta bağlı) letal mutantlar: Bu tip mutantlar belli şartlar altında üreyebilirler. Bu grupta yer alan *Isıya duyarlı (Temperature sensitive-ts) mutantlar* düşük ısılarda (~ 31°C) aktifken optimum veya yüksek ısı derecelerinde (~ 37-40°C) inaktiftirler. Hayvan viruslarında en kullanışlı mutant tipi ts mutantlardır. Aşı araştırmaları ve üretimi^{1,16,24}, virusların (polio, sindbis, influenza, rabbit pox virüs vb) genetik analizi^{15,30}, ve çoğalma basamaklarının incelenmesinde²³ başarıyla kullanılabilirler. *Soğuğa adapte mutantlar* çoğalma siklusu incelemelerinde ts mutantlarla beraber kullanılsa da düşük ısıya ihtiyaç duymaları sebebiyle çok kullanışlı değildirler ve daha çok prokaryotik sistemlerde kullanılırlar³⁰. *Konak bağımlı mutantlar* ise supresör tRNA taşıyan konak hücrelerde çoğalabilirler. Bu mutantlar bakteriyofajlarda daha kullanışlıdır^{23,39}.

6.2. Plak morfoloji mutantları: Virus stoklarında küçük veya büyük plak morfolojilerinin ortaya çıkması ile karakterizedir. Temel olarak adsorpsiyonda görevli kapsit proteininin mutasyonundan köken alırlar²³. Ancak agar içerisinde yer alan sülfatlı polisakkaritlerin de küçük plak oluşumlarına yol açabileceğini unutmamak gerekir. Bu tip mutantlar Visna-Maedi virus, reoviruslar³⁰, western equine encephalitis, şap ve veziküler stomatitis¹⁵ viruslarında tespit edilmiştir.

6.3. İlaça dirençli mutantlar: Bazı virus soylarında virus çoğalmasını engelleyen ajanlara karşı direnç gelişebilmektedir. Bu tip mutantlar

HIV³⁷, polio, vaccinia^{1,23}, herpes³⁰ ve influenza³² viruslarında tespit edilmiştir.

6.4. Enzim kusurlu mutantlar: Virus çoğalması için zorunlu olmayan enzimlerin kaybıyla karakterize olan mutantlardır. Pox ve herpesviruslardaki timidin kinaz enziminin kaybı örnek olarak verilebilir²³.

6.5. Isı mutantları: Bu mutantlar saha virusuna göre daha yüksek ısılarda üreyebilirler. Dolayısıyla yüksek ateşle seyreden hastalık tablolarında orijinal virus çoğalması sınırlansa da ısı mutantları çoğalmaya devam etmektedir²³.

6.6. Nodül (pock) tipi mutantlar: Koriollantoik membranda normalde düzgün beyaz nodüller oluşturan poxvirusların oyuk kırmızı nodüller oluşturmalarıyla karakterize mutantlardır¹².

6.7. Delesyon mutantları: Belli bir genin veya gen bölümünün viral genomdan ayrılmasıyla karakterize mutantlardır. Söz konusu gen bölgele-ri veya ürünlerinin fonksiyonlarıyla ilgili araştırmalarda kullanılırlar^{5,20,31}.

6.8. Defektif interfere edici mutantlar: Bu tip mutantlar çoğalabilmek için orijinal virüs soyunun (saha suşu) varlığına ihtiyaç duyar, ancak orijinal virus soyunun çoğalmasını interfere ederler¹⁶.

7. Mutasyonların Tamiri

Bir gende oluşan mutasyonun sebep olduğu fenotipik yansımaların geri çevrilmesi 3 yolla mümkündür. Mutasyon noktasında meydana gelen ikinci bir değişiklikle baz diziliminin normale dönmesi *geriye mutasyon* olarak tanımlanır^{2,16,21}. Bu mekanizma daha çok baz yer değişimleri için geçerlidir. Aynı veya farklı bir gen içinde meydana gelen bir mutasyonun daha önce oluşmuş bir mutasyonun etkisini ortadan kaldırması ise *supresör mutasyon* olarak tanımlanır²⁶. Örneğin attenüe canlı aşı olarak geliştirilen influenza virüs ts mutantlarında supresör mutasyon etkisiyle virusun yeniden virulens kazandığı tespit edilmiştir¹⁶. Ayrıca DNA polimeraz sahip olduğu exonükleaz aktivitesi sayesinde transkripsiyon sırasında oluşan yanlış dizilimleri engeller³⁵. Bu sayede DNA karakterindeki genomlarda daha düşük oranlarda mutasyonel değişim gözlenir.

8. Mutasyonların Veteriner Virolojideki Önemi

Saha şartlarında özellikle RNA viruslarında oldukça yüksek düzeylerde mutasyon kökenli

değişim oluşmakta ve bunların büyük çoğunluğu saha suşlarının antijenik farklılaşması ile sonuçlanmaktadır. Bu değişimler genom düzeyinde baz dizini analizi ile⁷, antijenik düzeyde ise monoklonal antikorlar yardımı ile ortaya konabilir^{10,27,41}. Bu bölümde epidemiyolojisi veya patogeneğinde mutasyonların belirleyici rol oynadığı ve veteriner hekimliği ilgilendiren viral hastalıklara örnekler verilecektir.

- Lentiviruslar konakçıda çoğalma sırasında antijenik değişime uğrar ve böylece yeni jenerasyon virionlar bir önceki jenerasyona karşı oluşan nötralizan antikorlardan korunmuş olurlar¹⁶. Dolayısıyla oluşan yeni varyantlar sebebiyle enfeksiyon sürekli yinelenir. Bu olayın temelinde, zar bünyesinde yer alan ve nötralizan antikorların spesifite gösterdiği glikoproteinlerin mutasyonla değişimi yatmaktadır
- İnfluenza virus genomlarında küçük ve büyük çaplı antijenik değişimler söz konusudur. Büyük değişimler (antijenik shift) rekombinasyonlardan köken alırken; küçük değişimler (antijenik drift) mutasyonlardan köken alır. Burada hemaglütinin ve nöyraminidaz genlerinde mutasyon oluşmaktadır. Yeni varyantlar en az 2 epitopta farklılık gösterir ve dolayısıyla nötralizan antikorlardan korunur. Sonuç olarak sürekli yeni influenza virus soyları ortaya çıkar^{12,33,40}.
- Non-sitopatojen (ncp) BVD virus biyotipi ile persiste enfekte sığırlar antijenik olarak benzer (homolog) bir sitopatojen (cp) biyotiple süperenfekte olduklarında Mucosal Disease (MD) olarak adlandırılan ölümcül bir tablo ortaya çıkar. Buradaki cp biyotip için iki kaynak söz konusu olabilir; ya persiste enfekte hayvan cp virusu dışardan alır yada persiste enfekte hayvanın bünyesinde bulunan ncp virus mutasyonla cp hale geçer ve MD oluşur^{8,28}. Şayet dışarıdan alınan cp biyotip persiste enfeksiyonu oluşturan ncp biyotip ile homolog değilse beklenenden daha uzun bir inkübasyon periyodunu takiben MD gelişebilir (kronik MD). Son durumda moleküler olarak ncp ve cp biyotipleri arasında rekombinasyon şekillendiği tespit edilmiştir¹⁹.
- Feline panleukopeni virusunun mutasyona uğraması ile canine parvovirusun ortaya çıktığı görüşü benimsenmektedir²⁹.
- Mutant Aşılar: Bu tip aşılarda temel prensibi attenüasyondur. Pasteur'un kuduz virusunu

attenüe ederek başarıyla kullanması bu konudaki ilk örnektir³⁶. Halen kullanımda olan Kelev aşısı da bir attenüe canlı aşısıdır. At vebasısı virusu fare beyinde 105 kez pasajı yapıldıktan sonra attenüe olur ve aşı hazırlanmasında kullanılır. Sığır vebasısı virusu da doku kültürü, tavşan, ETY ve keçilerde üretilerek attenüe aşı elde edilebilir. Son yıllarda mutant aşılara ilgili çarpıcı gelişmeler olmaktadır. Belli bir genin genomdan çıkarılmasıyla elde edilen mutantların marker aşı olarak kullanılması bazı enfeksiyonların eradikasyonunda oldukça önemli katkılar sağlayacak gibi görünmektedir. Özellikle IBR/IPV enfeksiyonunda gE delesyonuyla elde edilen aşılarda pratikte aktarılmakta ve başarıyla kullanılmaktadır. Bu uygulamada, aşılanan hayvanlarda gE spesifik antikorlar saptanamazken doğal enfeksiyonlarda saptanabilmektedir. Böylece doğal enfekte hayvanların eradikasyona tabi tutulması mümkün olabilmektedir²⁵.

Sonuç olarak mutasyon veya rekombinasyon kökenli genomik değişimler özellikle viruslarda evrimin devamlılığını sağlamakta ve yeni suşlar hatta türler ortaya çıkabilmektedir. Ancak unutulmamalıdır ki gen teknolojisi bu mekanizmaları insanlığın hizmetine sunmaktadır.

Kaynaklar

1. AKAN E. Genel ve Özel Viroloji. Saray Yayınları, İzmir, 1994.
2. AKMAN M. Bakteri Genetiği 2. baskı. Cumhuriyet Ün. Tıp Fak. Yay, Sivas, 1983.
3. ALTAN N. Biyokimya (çeviri) MONTGOMERY R, CONWAY TW, SPECTOR A, CHAPPELL D, Biochemistry 6th ed. Palme yayıncılık, Ankara, 2000.
4. ARDA M. Genel Bakterioloji. Ank. Ün. Vet. Fak. yayın no: 402., A.Ü. Basımevi, Ankara, 1985
5. BARON MD, BARRETT T. Rinderpest viruses lacking the C and V proteins show specific defects in growth and transcription of viral RNAs. J Virol 2000 Mar; 74: 2603-2611
6. BİLGEHAN H. Temel Mikrobiyoloji ve Bağışıklık Bilimi. Barış yayınları, İzmir, 1987.
7. BROWN EG, LIU H, CHANG KİT L, BAIRD S, NASRALLAH M. Pattern of mutation in the genome of influenza A viruson adaptation of incised virulence in the mouse lung: identification of functional themes. PNAS 2001; 98: 6883-6888.
8. BROWNLİE J. CLARKE MC, HOWARD CJ, POCOCK DH. Pathogenesis and Epidemiyoloji of Bovine Virus Diarrhoea Virus Infection of Cattle. Ann.Rech.Vet. 1987; 18: 157-166.
9. CARMEN M. RUIZ-JARABO, ARIAS A, BARANOWSKI E, ESCARMIS E, DOMINGO E. Memory in viral quasispecies. J Virol 2000; 74: 3543-3547.
10. CROWTHER JR. The use of monoclonal antibodies in the molecular typing of animal viruses. Rev sci tech Off Int Epiz 1993; 12: 369-383.
11. DAHLE J, FREY HR, HAAS L, KAADEN OR, LIËSS B, MOENİNG V. Virologie I und Virologie II. Institut für Virologie der Tierärztlichen Hochschule, Hannover, 1994.
12. DAVIS, B.D., DULBECCO, R., EISEN, H.N., GINSBERG, H.S. Microbiology 4th ed. J.B. Lippincott, Philadelphia, 1990.
13. DRAKE JW, HOLLAND JJ. Mutation rates among RNA viruses. PNAS 1999; 96: 13910-13913
14. ERSOY E, BAYŞU N. Biyokimya. A.Ü. Vet. Fak. yay no: 408 A.Ü. Basımevi, Ankara, 1986.
15. FENNER F. The Biology of Animal Viruses. Academic press, 1968.
16. FENNER F, BACHMAN PA, GIBBS EP, MURPHY FA, ROTT R, STUDDERT MJ, WHITE DO. Veterinary Virology. Academic press, San Diego, 1987.
17. FLİNT SJ, ENQUIST LW, KRUG RM, ROCANIËLLO UR, SKALKA AM. Principles of Virology. ASM Press, Washington, 2000.
18. FRENKEL-CONRAT H. The Chemistry and Biology of Viruses. Academic press, New York and London, 1969.
19. FRİTZEMEİER J, HAAS L, LİEBLER E, MOENNİG V, GRİESER-WİLKE I. The development of early vs. late onset mucosal disease is a consequence of two different pathogenic mechanisms. Arch. Virol., 1997; 142: 1335-1350.
20. GRANZOW H, KLUPP BG, FUCHS W, VEİTS J, OSTERRİEDER N, METTENLEİTER T C. Egress of Alphaherpesviruses: Comparative Ultrastructural Study. J Virol 2001; 75: 3675-3684.
21. GÜNALP A, AYTER Ş, LÜLECİ G, KART A, SAKIZLI M. Tıbbi Biyoloji. Meteksan yayınları, Ankara, 1986
22. INMAN M, LOVATO L, DOSTER A, JONES C. A mutation in the latency-related gene of bovine herpesvirus 1 disrupts the latency reactivation cycle in calves. J Virol 2002; 76: 6771-6779
23. JOKLİK WK Virology 2nd ed. Appleton Century Crofts, Connecticut, 1985.
24. JONES C, NEWBY TJ, HOLT T, DOSTER A, STONE M, CIACCİ-ZANELLA J, WEBSTER CJ, JACKWOOD MW. Analysis of latency in cattle

- after inoculation with a temperature sensitive mutant of bovine herpesvirus 1 (RLB106). *Vaccine* 2000; 18: 3185-3195
25. KAASHOEK, M.J., MOERMAN, A., MADIC, J., WEERDMEESTER, K., MARIS-VELDHUIS, M.A., RIJSEWIJK, F.A.M., VON OIRSCHOT, J.T. An inactivated vaccine based on a glycoprotein E-negative strain of bovine herpes virus 1 induces protective immunity and allow serological differentiation. *Vaccine* 1995; 13: 342-346.
 26. KRAUZER NK. Genetic variation and exchange. In: Zinsser Microbiology eds. JOKLIK WF. Practici-Hall int., USA, 103-110, 1988.
 27. LEE J, BABIUK LA, YOO D. A neutralizing monoclonal antibody to bovine rotavirus VP8 neutralizes rotavirus infection without inhibiting virus attachment to MA-104 cells. *Can J Vet Res* 1998; 62: 63-67
 28. MOENING V. Pestiviruses: A Review. *Vet. Microbiol.* 1990; 23: 35-54.
 29. ÖZKUL A. Kedi ve Köpeklerin Parvovirusları. Seminer notları. A.Ü. Sağlık Bil Ens, 1989.
 30. RAMIG RF. Principles of Animal Virus Genetics. In: *Virology* 2nd eds. FIELDS, B.N., KNIPE, D.M. Raven press, London, 95-144, 1990.
 31. RUDOLPH J, SEYBOLDT C, GRANZOW H, OSTERRIEDER N. The Gene 10 (UL49.5) Product of Equine Herpesvirus 1 Is Necessary and Sufficient for Functional Processing of Glycoprotein M. *J. Virol.* 2002; 76: 2952-2963
 32. SAITO R, OSHITANI H, MASUDA H, SUZUKI H. Detection of amantadine-resistant influenza A virus strains in nursing homes by PCR-restriction fragment length polymorphism analysis with nasopharyngeal swabs. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 84-88.
 33. SCHOLTISSEK C. Influenza Virus Genetics. *Advances in Genetics* 1979; 20:1-36.
 34. SKRABAN R, MATTHÍASDÓTTIR S, TORSTEINSDOTTIR S, AGNARSDOTTIR G, GUDMUNDSSON B, GEORGSSON G, MELOEN RH, ANDRÉSSON OS, STASKUS KA, THORMAR H, ANDRESDOTTIR V. Naturally Occurring Mutations within 39 Amino Acids in the Envelope Glycoprotein of Maedi-Visna Virus Alter the Neutralization Phenotype. *J Virol* 1999; 73: 8064-8072.
 35. STRYER L, *Biochemistry* 3rd edition. W.H. Freeman Company. New York, 1988.
 36. SWANAPOEL. Rabies In. *Infectious Disease of Livestock.* eds. J.A.W. COETZER, G.R.THOMPSON, R.C.TUSTIN, Oxford Un.press, oxford,493-552, 1994.
 37. TASHIMA KT, FLANIGAN TP, KURPEWSKI J, MELANSON SM, SKOLNIK PR. Discordant Human Immunodeficiency Virus Type 1 Drug Resistance Mutations, Including K103N, Observed in Cerebrospinal Fluid and Plasma. *Clin Infect Dis* 2002; 35: 82-83
 38. THRUSFIELD M, *Veterinary Epidemiology.* Butterworth &Co. Ltd, 1986.
 39. USTAÇELEBİ Ş, Genel Viroloji. Hacettepe Taş kitapçılık, Ankara, 1992.
 40. WEBSTER RG, LAVER WG, AIR GM, SCHILD GC, Molecular mechanisms of variation in influenza viruses. *Nature* 1982; 296: 115-121.
 41. YEŞİLBAĞ K. Klonlama ile saflaştırılan bovine viral diarrhoea virus izolatlarının monoklonal antikorlar yardımıyla epitopik özelliklerinin belirlenmesi. Doktora tezi. Ankara Üniv Sağl Bil Ens, Ankara, 2000.