

DNA

üretmek için yeni bir yöntem

Dr. Mahir E. Ocak [TÜBİTAK Bilim ve Teknik Dergisi

DNA kısaca A, G, C ve T olarak adlandırılan dört tür nükleotid içeren bir ikili sarmaldır. Bilim insanlarının 1970'lerden beri DNA sentezlemek için kullandığı geleneksel yöntem, DNA'yı oluşturan nükleotidlerin oligonükleotid ya da kısaca oligo olarak adlandırılan bir zincire tek tek eklenmesine dayanıyor. Zehirli organik maddelerin kullanıldığı bu yöntem hem çok yavaş hem de hata oranı görece yüksek olduğu için ancak 200 ya da daha az nükleotid içeren DNA dizilerinin üretilmesine imkân veriyor. Binlerce nükleotid içeren genleri bu yöntemle üretmekse neredeyse imkânsız.

Canlı organizmalar, DNA'yı laboratuvar ortamında kullanılan geleneksel yöntemden çok daha farklı bir biçimde üretir. Polimeraz olarak adlandırılan enzimler, bir DNA iplikçisindeki bilgileri okur ve bu iplikçikle eşleşecek DNA dizisini sentezler.

Bilim insanları uzun yıllardır polimerazlar kullanarak DNA dizileri sentezlemek için çalışmalar yapıyor.

Araştırmacıların özellikle üzerine odaklandığı bir enzim var: TdT. Bu durumun sebebi, TdT'nin, di-

ğer polimerazların aksine, DNA'ya yeni nükleotidler eklemek için bir iplikçiğe ihtiyaç duymaması.

Doğal TdT enzimi, bağışıklık sisteminin önemli bir parçasıdır. Vücuda giren yabancı maddelerle savaşan antikorlar, TdT tarafından üretilen milyonlarca çeşit gen arasından en yararlılarını seçerler.

ABD'deki Lawrence Berkeley Ulusal Laboratuvarı'nda çalışan bir grup araştırmacı DNA dizileri üretmek için yeni bir yöntem geliştirdi. Dr. Sebastian Palluk, Dr. Daniel Arlow ve arkadaşlarının Prof. Dr. Jay Keasling önderliğinde yaptıkları araştırmanın sonuçları *Nature Biotechnology*'de yayımlandı.

TdT'nin laboratuvar ortamında DNA sentezlemek için kullanılmasının önünde önemli bir engel var. Araştırmacılar, belirli bir DNA dizisini üretmek isterler. TdT ise DNA dizilerine rastgele nükleotidler ekler. TdT kullanarak arzu edilen DNA dizilerini sentezleyebilmek için TdT'nin oligoya



her seferinde doğru türde sadece bir adet nükleotid eklemesini sağlamak gerekiyor. Prof. Dr. Jay Keasling'in laboratuvarında çalışan Dr. Sebastian Palluk, bu amaca ulaşmak için, ilk olarak nükleotidlere TdT'ye "dur emri" verecek kimyasal gruplar eklemiştir. Böylece oligoya bir modifiye nükleotid eklendikten sonra sentezin durması sağlanıyor. Daha sonra oligo ayrıştırılıyor, yıkanıyor ve TdT'ye dur emri veren kimyasal grup oligodan çıkarılıyor. Araştırmacılar bu yöntemin yeteri kadar iyi çalışmadığını söylüyorlar. Her bir modifiye nükleotidin oligoya eklenmesi yaklaşık bir saat sürüyor ki bu süre herhangi bir pratik uygulama için çok uzun.



Araştırmacılar, denedikleri ilk tekniğin yeteri kadar iyi sonuç vermemesi nedeniyle Dr. Daniel Arlow'un da katkılarıyla yeni bir teknik geliştirmişler. Bu teknikte, başlangıçta her bir nükleotid için ayrı bir havuz oluşturuluyor. Her bir havuzda TdT'ye bağlanmış halde A, G, C veya T nükleotidleri var. Oligoyu büyütmek için havuzların birinden nükleotid ekleniyor. TdT nükleotidi oligoya ekledikten sonra bağlanmış halde kaldığı için oligoya başka nükleotidler eklenmesini ve büyümesini engelliyor. Daha sonra oligo ayrıştırılıyor ve bağlı TdT koparılıp ortamdan uzaklaştırılıyor. Bu şekilde her seferinde sadece bir tane nükleotid eklenerek oligo büyütülebiliyor. Şu an için bu yöntemle sadece 10 nükleotid içeren oligolar sentezlenebilmiş. Binlerce nükleotid içeren DNA dizilerinin bu yöntemle sentezlenebilmesi içinse hâlâ aşılması gereken sorunlar olduğu belirtiliyor. Şu an için bu yöntem %98 doğrulukla arzu edilen DNA dizilerini sentezlemeye imkân veriyor.

Her ne kadar ilk bakışta hayli yüksek görünse de bu doğruluk değeri binlerce nükleotid içeren DNA dizileri sentezlemek için yeterli değil. Örneğin 1000 nükleotid içeren bir oligo sentezleyebilmek için en azından %99,9 doğruluk seviyesine ulaşılması gerekiyor. Bu yöntemde yeni nükleotidlerin oligoya eklenmesi 10-20 saniye kadar, bağlı TdT'lerin koparılıp ortamdan uzaklaştırılmasıysa bir dakika kadar sürüyor. Dolayısıyla arzu edilen doğruluk seviyesine ulaşılması durumunda 1000 nükleotid içeren bir genin sadece bir gün içinde üretilmesi mümkün hale gelebilir. ■

Kaynak

Service, R. F., "New technique could help scientist create a gene in just a day", *Science*, 18 Haziran 2018.