

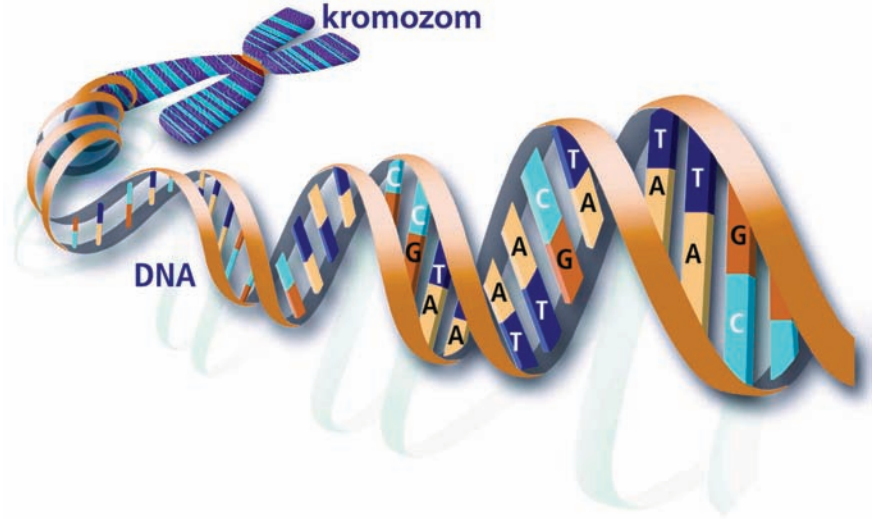
TEK DNA MOLEKÜLÜNÜN DİZİ ANALİZİ

ABD’de Cambridge’deki Helicos Bio Sciences ofisinin köşesindeki dev bir buzdolabına benzeyen makinenin ön yüzündeki ekranda şu geri sayım yapılıp sönüyor: İçerideki DNA’nın tamamının dizi analizinin bitmesine 10 gün, 5 saat ve 51 dakika kaldı. Tüpler, lazerler ve kimyasal maddelerin karmaşık bir konfigürasyonundan oluşan yüksek kapasiteli bu aygıtın, her birine 25 mikroakışkan kanal tutturulmuş iki levhası var. Her kanal ayrı bir DNA örneğini tutup ‘dizi analizi’ yapabiliyor. Makine, örneklerin dizi analizini aynı anda yürüterek yalnızca bir saat içinde 1,3 milyar baz (bir DNA iplikçisindeki basamakları oluşturan ve A, C, T ve G olarak bilinen bazlar) okuyabiliyor. HeliScope olarak adlandırılan makine, tek bir iplikçik dizisini daha önce görülmemiş bir hızda doğrudan okuyan ilk ticari aygıt. Stanford Üniversitesi’nde biyomühendis olarak görev yapan ve 2003’te kurulan şirketin kurucuların-

dan biri olan Stephen Quake “Aslında Helicos temel olarak dünyanın en hızlı dizi analizi yapan aygıtını üretti.” diyor. “Makinenin tüm bir diziyi rakip sistemlerden daha hızlı üretilip üretilmeyeceği daha çok kesin değil. Bununla birlikte (dizi analizi makinesinden elde edilen verilerin hâlâ analiz edilmesi ve birbirine eklenmesi gerekiyor -ki bu da hesaplama gerektiren yoğun bir iş) Quake bu aygıtın “tümüyle yeni araştırma alanları” açtığını söylüyor. Bu yılın başlarında tanıtılan HeliScope dizi analizinin daha hızlı ve daha ucuza yapılabilmesi için teknoloji üretme yarışına girdi. İnsan Genomu Projesi’nin ilk taslağı için harcanan para 300 milyon dolarken son yıllarda insan genomunun dizi analizinin fiyatı 100.000 dolardan daha aşağılara düştü. Dizi analizinin ucuza yapılabilmesi, hastalık teşhisinden tutun da, biyoyakıt ve ilaç yapımı için mikrop üretilmesine olanak verecek araştırmalara varıncaya kadar ne-

redeyse sınırsız uygulama alanı açıyor. Şu anda kullanımda olan öteki gelişmiş dizi analizi teknolojilerinde, örneğin Illumina, Applied Biosystems ve 454 Life Sciences’in aygıtlarında dizi analizi yapılacak DNA’nın çoğaltılması ya da birçok kez kopyalanması gerekiyor. Sonra kopyalar her bir DNA harfinin konumunu gösteren floresan sinyallerini saptamayı kolaylaştırmak için eş zamanlı olarak okunuyor. Tek molekülün dizi analizindeyse kopyalama aşaması atlanıyor; bu da tek bir dizi analizi deneyinde daha çok biricik örneğin incelenebileceği anlamına geliyor. Bunun yanı sıra tek molekül dizi analizi bize genomun daha bütünsel bir fotoğrafını verebilir. Çünkü DNA çoğaltıldığında bazı diziler öteki dizilerden daha başarılı bir şekilde kopyalanır. Bu nedenle de bunların son dizide yer alması olasılığı daha yüksektir. Aynı şekilde, kopyalanmadıkları için bazı az rastlanan genetik mutasyonlar da fark edilmeye-

bilir. St. Louis'de Washington Üniversitesi'ndeki Genome Center'ın müdür yardımcısı Elaine R. Mardis "Sonunda yalnızca tek bir DNA ipliğini alıp dizi analizini doğrudan yapabiliyorsanız, bu büyük bir avantajdır." diyor. Uykusuz Geceler HeliScope ile dizi analizi yapılacak DNA önce yaklaşık 200 baz uzunluğunda kısa parçalara bölünüyor ve özel bir cam plaka şeklindeki bir akış hücrelerine enjekte ediliyor. Akış hücresi, yüzen parçaları tutup sabitlemek için tasarlanmış küçük, ince DNA parçalarıyla kaplanıyor. Sabitlenip hareketsiz duruma getirilen DNA parçaları floresan işaretleme yöntemiyle etiketleniyor. Böylece floresan mikroskop altında konumları bir kamerayla kaydedilebiliyor. Tek dizi analizi deneyinde yaklaşık bir milyar DNA parçası analiz edilebilirken bu sayı başka aygıtlarda 400.000 ile 50 milyon arasında kalıyor. Sonra akış hücresi 181,5 kg ağırlığındaki Vermont granitinin içine yerleştirilmiş mikroskopun olduğu HeliScope'a konuyor. Bu ağırlık, aletin algılaması gereken sinyallerle karışabilecek her türlü titreşimi engelliyor. Mikroskopun çevresinde karmaşık bir optik sistem ve tüpler var. Bu haliyle aygıt içinde özel olarak üretilmiş kimyasal maddeler olan şişelerle dolu minyatür bir buzdolabına benziyor. Bilim insanlarından biri makineyi çalıştırdığında, sıvıların koreografisi hassasiyetle hazırlanmış dansı başlıyor. DNA polimeraz olarak adlandırılan bir enzim ve floresan işaretleme yöntemiyle işaretlenmiş tek bir baz tipi -diyelim ki A- hücrenin içine akıyor. Enzim, A'ların örneklerdeki iplikçiklerin tamamlayıcısı olarak büyüyen DNA iplikçiklerindeki yerlerini almasını sağlıyor. (Dört bazın her biri öteki bazlardan yalnızca biriyle eşleşebilir, bu nedenle iplikçiğe eklenen A'nın karşısında T, C'nin karşısında da G olmak zorundadır.) Floresan işaretleme yöntemiyle etiketlenmiş baz yeni bir iplikçiğe katıldığında HeliScope'un kamerası bu bazın yaydığı ışığı algılıyor. Helicos'un başkanı Steve Lombardi "Görüntüleyici, tek bir

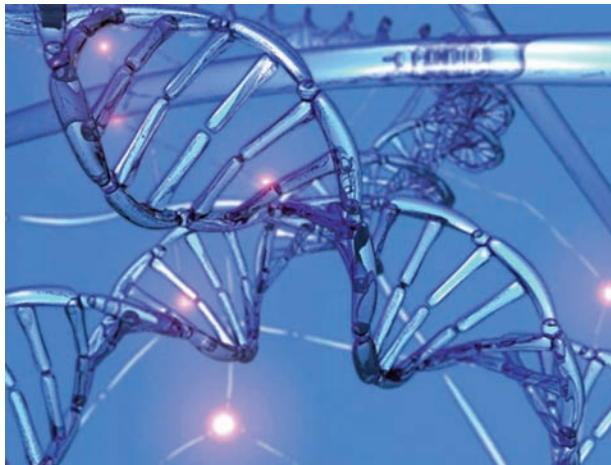


DNA iplikçiğine tek bir bazın katılmasından kaynaklanan 200 nanometrelilik bir ışık konisinden oluşan bir izi bulur." diyor. Öteki gelişmiş dizi analizi yöntemleri de sentez yoluyla dizi analizi olarak bilinen benzer bir yaklaşım kullanır. Ama bu teknolojileri kullanan aygıtlardan farklı olarak HeliScope büyüyen DNA iplikçiğinin üzerindeki yerini alan büyütülmemiş tek bir bazın floresan sinyalini ayırt edebiliyor. HeliScope her saniye çok büyük miktarda ham veri üretiyor. İki akış hücresine yüklenebilecek DNA'nın tamamının okunması ve kullanılmaya değer bir dizinin 20 milyar bazını üretebilecek bir dizi analizi -hücre başına 400 milyon DNA iplikçiği- beş ile on gün arasında bir süre alıyor. Bilim insanları makineyi yüklüyor, üzerindeki bir düğmeye basıyor ve ofisten çıkıyor. Ama akılları dizi analizi işlemine takılanlar makinenin ilerleme durumunu kontrol etmek için gecenin bir yarısı İnternet'i kullanabiliyor -ki bu da Helicos'ta sık görülen bir olay. HeliScope floresan fotoğrafları oluşturduktan sonra bir veri işleme

merkezi bunları harflerden oluşan ipliklere dönüştürüyor. Daha uzun bir dizi elde etmek için yazılım bu parçaları birbirine ekliyor.

Kayıp Mutasyonlar Science'ta bu yılın başlarında yayımlanan bir makalede, bilim insanları M13 virüsünün genom dizi analizini yapmak için HeliScope'u kullandıklarını bildirmişlerdi. Bu, bütün bir genom dizisinin okunması ve bir araya getirilmesi için tek bir molekülün kullanılabilmesini gösteren önemli bir kanıttır. (M13 virüsünün genomu küçüktür -yaklaşık 7000 baz çifti uzunluğunda- yani insan genomunun milyonda biri büyüklüğündedir.) Bu teknoloji o kadar yeni ki hangi uygulamalara uygun olduğu daha net değil. Ama bazı bilim insanları tek molekülün dizi analizinin, genetik varyasyonların hastalıklara nasıl bir katkıda bulunduğu anlaşılması açısından özellikle önemli olduğunu düşünüyor. Ne de olsa, hastalıkla ilişkili az rastlanan bazı mutasyonlar daha önceki genom çalışmalarında büyütme aşamasında kopyalanmadıkları için gözden kaçmış olabilir. Dizi analizi tepkimelerinin hızını artıracak ve bir akış hücresine daha çok DNA parçasının sabitlenmesine olanak sağlayacak kimyasal gelişmelerin yapılabilmesi için Helicos hâlâ geliştirdiği yöntem üzerinde çalışıyor. Şirket bu alandaki öteki büyük oyuncularla birlikte 1000 dolara bütün bir genom dizisi elde etmeyi ümit ediyor. Bu başarı tıpta tümüyle yeni bir başlangıç olacak: Herkesin kendi genom bilgisine ulaşma olanağı olacak.

Esra Tok



<http://www.technologyreview.com/Biotech/20947/?a=f>