

bilim damlaları

Doç. Dr. Selçuk ALSAN

GENLERİN MİKROPLARA AŞILANMASI

Doğalı daha ancak on yıl olan **gen mühendisliği**, bir genin ait olduğu hücrenin dışında görev yapmasını sağlayabiliyor; bir geni bir hücreden bir mikroba aktarabiliyor. Bu olayın tıpta ve endüstride büyük önem var: insan vücudunda çok az yapılan bazı maddeleri artık mikroplara yaptırmak mümkün olacak. Hücre nucleus'undaki bir DNA zincirini (kromozomu) bir inci dizisine benzetirsek incilerden her biri bir **GEN**'dir. Her gen, **adenin (A)**, **timin (T)**, **cytosine (C)** ve **guanin (G)** adlı 4 **nükleotid bazından** oluşan bir alfabe ile yazılmış bir şifre gibidir. Bu 4 nükleotid'in gen'de değişik dizilişleri sitoplazmada değişik aminoasit sıralarını, dolayısı ile değişik proteinlerin sentezini sağlar. Bu şöyle olur: önce gen DNA'sındaki baz sırasına uyan bir **mRNA (messenger RNA)** molekülü yapılır; bu mRNA sitoplazmaya geçer ve ribosom'larda uygun proteinin sentezini sağlar.

Bir gen şöyle elde edilir: 1 — Genin ve o gene karşılık olan mRNA'nın en bol olduğu organ aranır. 2 — Organın bir öz (ekstre) hazırlanarak birbirinden farklı birkaç bin mRNA'nın bir karışımı elde edilir. 3 — **Revers transkriptaz** denen enzim sayesinde (bu enzimin keşfi 1975'de H. Temin ve D. Baltimore'a Nobel Ödülü kazandırmıştır) her bir mRNA'ya karşılık olan DNA sentez edilir, bunlara **cDNA** denir (**complementary DNA**), 4 — cDNA, bakteri mini-kromozomlarına (halka biçimi **plasmid**'ler) dahil edilir. 5 — Plasmidler kolibasil denen bakterilerin içine sokulur. 6 — İstenen cDNA'yı içeren bakteriler özel tekniklerle diğer bakterilerden ayrılır.

Örneğin karaciğer özünden önce birkaç bin farklı mRNA ve sonra bunlara karşılık olan bir-

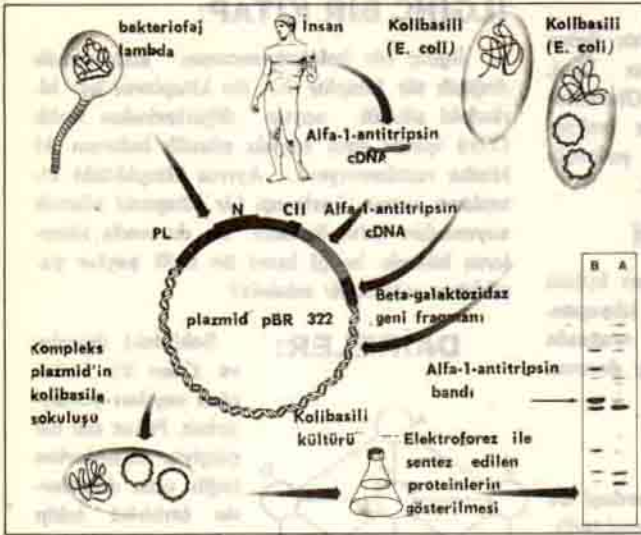
kaç bin cDNA'nın karışımı elde edilir (buna **cDNA Bankası** denmektedir). Bu karışımdan istediğimiz bir cDNA'yı ayırmada şu kuraldan yararlanırız: baz sıraları benzer olan cDNA zincirleri birbirlerine sarılırlar (**hibridizasyon veya melezleşme olayı**).

Aradığımız cDNA zincirinin baz sırasını (genetik kodu) bildiğimiz için, kimyacılar bu sıraya uyan 14—18 nükleotidlik zincir parçaları sentez ettirir ve bu parçaları cDNA karışımına ekleriz. Zincir parçaları, kendilerine uyan cDNA zincirini bulunca ona sarılır (melezleşme) ve radyoaktif fosfor içerdiklerinden buldukları yerlerde bir fotoğraf filmini karartırlar. Böylece aranan cDNA'yı içine almış bakteri kolonilerini diğerlerinden ayırt etmiş oluruz. İnsan cDNA'sını izole etmek için bir diğer memelinin örneğin farenin, cDNA'sından yararlanır. Memeli cDNA'ları birbirine çok benzediğinden insan ve fare cDNA'ları birbirine sarılır. Yapısı tam bilinmeyen bir cDNA'yı, ona karşı oluşturulan antikor ile tanımak da mümkündür, 1979'da W. Gilbert ve arkadaşları Harvard Üniversitesi'nde insan insülin cDNA'sını böyle ayırt ettiler. cDNA'nın tanınmasında bir diğer yöntem de cDNA'nın kendisine karşılık olan mRNA'ya sarılmasıdır bundan sonra bu mRNA ayrılır ve hücreli bir sistemde veya bir kurbağa yumurtası içinde kendine özgü proteini yapması sağlanır. Bu proteinin tanınması yolu ile cDNA tanınmış olur, bu yöntem 1980'de Cenevre'de Weissman ve Tokyo'da Taniguchi tarafından interferon alfa ve beta cDNA'larının bulunmasında kullanılmıştır.

Hastalıkların bir bölümü, vücutta yapılması gerekli bir maddenin (hormon vb.) yapılamayışı sonucudur. **Gen Mühendisliği** tıpta yeni bir çığır açmış bulunuyor, bundan böyle vücutta eksik olan bir maddeyi laboratuvarında kolibasil'lere yaptırmak mümkün olacak, daha sonra bu madde hastaya enjekte edilecek. Bu yöntemle hazırlanan insülin kullanılmaya başlandı. Şu maddeler ise halen klinik deneme safhasındadır: büyüme hormonu (cücelik), interferon alfa, beta ve gama (virüs hastalıkları ve kanser), interlekin 2 (bağışıklık sistemi hastalıkları), plazminojen aktivatörleri (pıhtının eritilmesi), hepatit B'ye karşı aşı, siğirlarda aft ateşine karşı aşı, alfa-1-antitripsin (amfizem), faktör IX (hemofili B) faktör VIII (hemofili A). Örneğin alfa-1-antitripsin enzimi bir antiproteaz olup protein yıkıcı enzimlerin (proteaz) etkisini giderir.

Alfa-1-antitripsin'in kalıtsal eksikliğinde bağdokuda **elastin**'i parçalayan **elastaz** meydanı boş

KOLİBASİLİNE BİR İNSAN PROTEİNİ YAPTIRMAK



Bir Kolibasiline insan proteinini sentez ettirmek için yalnızca bakterinin içine gen (bu rada cDNA) sokmak yetmemektedir. Bakteriofajdan promotör (PL), protein kodlayıcı (N) ve ribosoma bağlayıcı (CII) parçaları elde edilerek insan cDNA'sına yapıştırılır. Daha sonra bu zincir kolibasili plazmid zincirine eklenerek bir halka oluşturulur, bu halkanın kapanması kolibasili beta-galaktosidaz geni sağlar. Plazmid kolibasile sokulur. Sağ alt köşede kolibasili tarafından elektroforezde cDNA varken (B) ve yokken (A) protein sentezi görülüyor. bakteriyeye cDNA eklenmesi sonucu bakteri okla gösterilen alfa-1-antitripsin proteinini çok fazla yapmaya başlamıştır.

bulur, akciğer dokusunda elastin tahrip olur, bunun sonucu akciğerlerin elastikliği azalır, **balonlaşmış akciğer (amfizem)** hastalığı oluşur. Bu gibi hastalara koli bakterilerine yaptırılmış alfa-1-antitripsin verilerek amfizem önenebilecektir. Kanın normal pıhtılaşması için gerekli **faktör VIII ve IX'un** kalıtsal eksikliği **hemofili** hastalığını yapar, hemofili'li hastalarda kanamalar durdurulamaz, bu gibi hastalara vermek üzere koli bakterilerine faktör VIII ve IX "ısırılabilircektir."

Kolibasili'nin halka biçimi plazmidlerine bir insan gen'ini (cDNA) eklerken bazı güçlüklerin yenilmesi gerekmektedir. Bu güçlükler insan ve bakteri DNA yapılarının farklı oluşundan doğmaktadır. Bakterinin insan gen'inin şifresini çözebilmesi ve istenen ürünü fazla miktarda yapabilmesi için, ortama özel DNA parçacıkları (**regülasyon fragmanları**) eklenmektedir. Lambda bakteriofajı'ndan elde edilen bu parçacıklar şunlardır: **öncü (promotör) parça (PL)**, protein sentez ettirici parça (N), ribosom'lara yapışma parçası (CII). Promotör, kolibasildeki bir **repressör gen** tarafından susturulmuş haldedir (repressör genler diğer bazı genlerin çalışmasını durduran genlerdir). Bu repressör gen ısıya duyarlıdır (thermo-sensibil); öyle ki 42°C'in üstünde repressör gen'in etkisi kaybolur ve öncü parça aktive olur. Böylece bakterilerin büyütüldüğü ısıyı 42°C'in altında veya üstünde tutmak yolu ise iste-

diğimiz maddenin sentezini durdurabilir veya başlatabiliriz. Protein sentez ettirici parça (N), bakterinin insan gen'ini deşifre edişindeki duraklamaları önler. CII parçası, insan cDNA'sının bakteri ribosomlarına bağlanmasını sağlar. cDNA'nın bir ucu CII'ye, bir ucu da bakterinin beta galaktosidaz gen'ine bağlanır. Artık hazırlık tamamdır. Bakteri ribosomları insan cDNA'sının şifresini çözerek bu cDNA'nın emrettiği proteini hızla sentez etmeye başlar. Koli bakterileri artık insan aklının emrindeki minik "sürü'lerdir". Görevleri insanın istediği proteinleri sentez etmektir. Çayırdan otlayan 'kocabaş'ların yerini, Petri kutularını "kod"layan "minibaş"lar almıştır. ■

