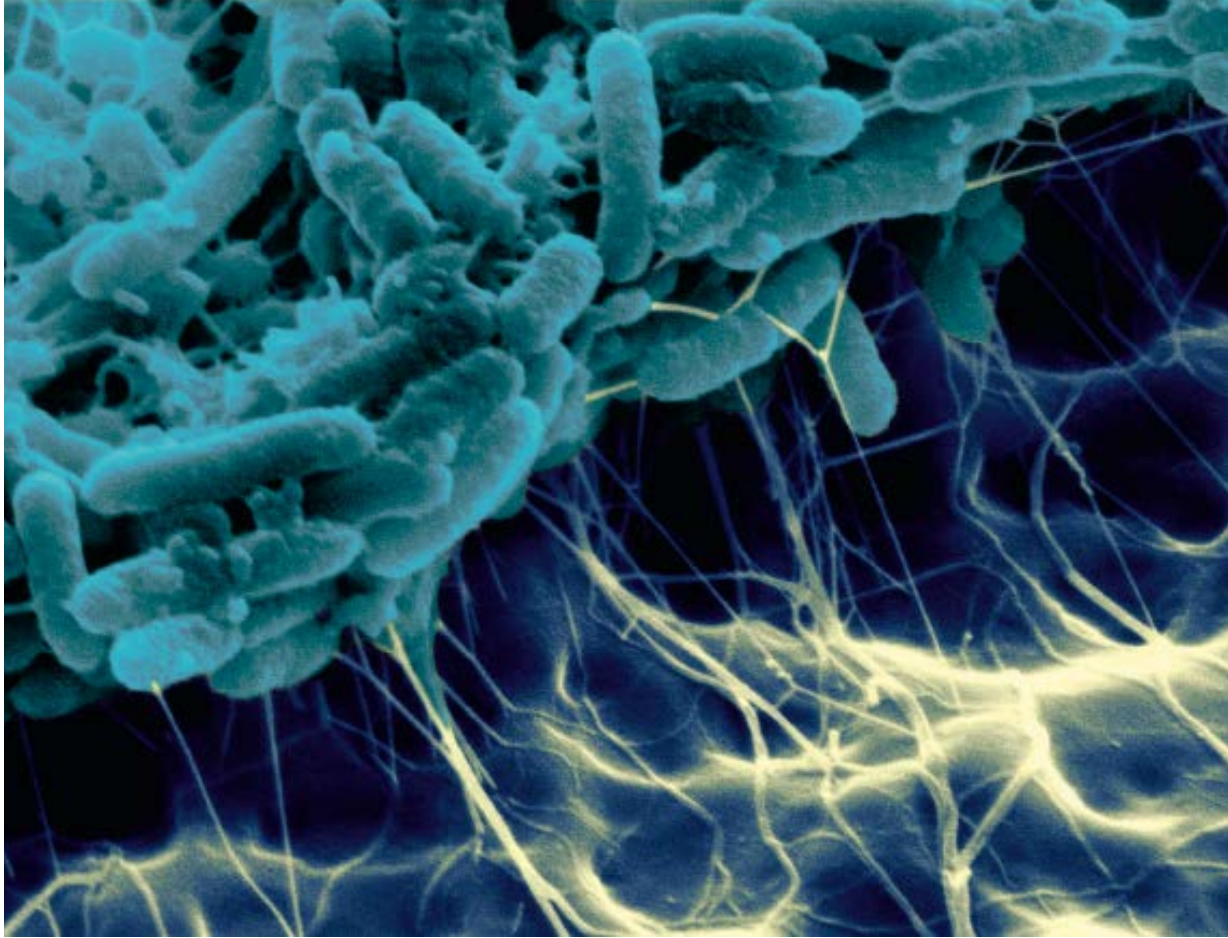


Yaşayan Nanomalzemeler Bakteri Biyofilmleri

Yaşayan bakteri hücreleri ürettikleri biyofilmlerle kendilerini korumaya alıyor. Bu biyofilm yapılar nanoteknoloji ve biyomalzeme araştırmaları için büyük bir potansiyel sunuyor.



Pek çok canlının tıpkı insanlar gibi sosyal olarak bir arada bulunma içgüdüsüne sahip olduğu biliniyor. Yüksek yapılı organizmalar açısından hayli sıradan olan bu durum, bakteriler açısından çok ilginç. Bakterilerin sosyal olarak birbirlerine neden ihtiyaç duyduğu, yani neden bir arada yaşama ihtiyaçları olduğu ve bunun dönemsel mi

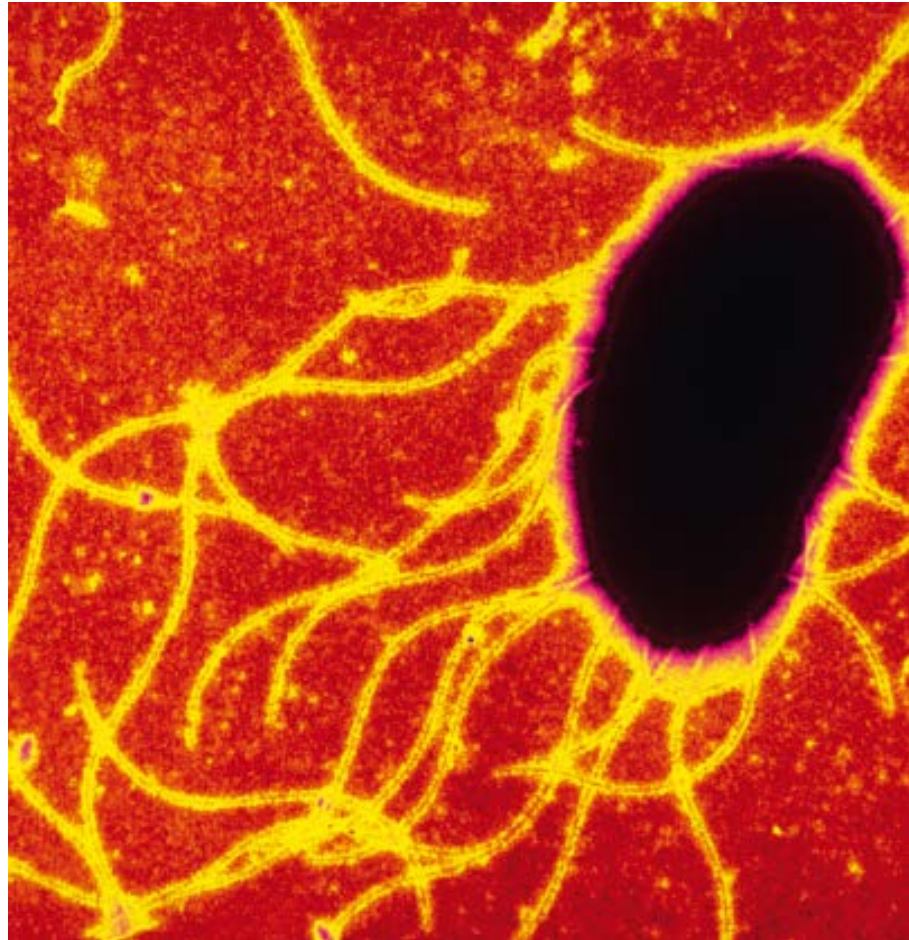
yoksa sürekli mi olduğu gibi soruların cevaplanması, insanlığın temel sorunlarından biri olan enfeksiyon hastalıklarının tedavi edilebilmesi açısından hayli önem taşıyor. Bakterilerin enfeksiyon yapma yeteneği, sosyalleşmeleri ve iletişim kurmaları sonrasında ortaya çıkıyor ve bakteriler üç boyutlu ve karmaşık biyofilm yapılar oluşturuyor.

Bakterilerin sosyalleşmesini, salgıladıkları sinyal molekülleri sağlıyor. Bakteriler çoğalırken büyüdükleri besiyeri ortamına farklı pek çok molekül bırakır. İşte bu moleküllerden bazıları feromon bazıları da otoindükleyici olarak adlandırılır. Gram pozitif bakterilerde bu sinyal molekülleri oligopeptit olarak adlandırılan kısa aminoasit dizileridir. Gram negatif bakterilerde ise AHL (N-Açıl Homoserin Lakton) ve otoindükleyici 2 olarak adlandırılan küçük bazı moleküllerdir. Bu sinyal molekülleri, bakteriler tarafından hücre içine alındıklarında farklı genlerin açılıp çalışmasını sağlayan birer anahtar görevi görür. Açılan genlerden bazıları, bakterinin salgıladığı sinyal moleküllerinden daha fazla üretilmesini sağlar. Ancak bu işlemi ilginç kılan nokta bakterilerin kendilerinin salgıladığı sinyal moleküllerinin, yine kendileri tarafından algılanmasının çok düşük bir ihtimal olmasıdır. Bu durumda bakterilerin “konuşabilmek” için mutlaka başka bakterilerden gelecek, yoğun miktarda sinyal molekülüne ihtiyacı vardır. Bu sinyal moleküllerinin sayısının artışı ancak bakteri nüfustaki artışla doğru orantılı olabilir. Aksi halde küçük bir bakteri nüfusunun üreteceği sinyal molekülü besiyeri ortamında seyrelerek iyice etkisiz hale gelir. Ancak tersi durumda, yani bakteri nüfusunun hızla artışına bağlı olarak, salgılanacak sinyal molekülü sayısında belirgin bir artış olur, böylece bakteriler birbirleri ile sohbeti iyice koyulaştırmış olur. İşte o anda, bakterilerde çalışmaya başlayan genlerden bir kısmı, bizim biyofilm olarak adlandırdığımız üç boyutlu sosyal bakteri ağlarını oluşturmak için gerekli olan proteinleri ve karbonhidratları üretmeye başlar.

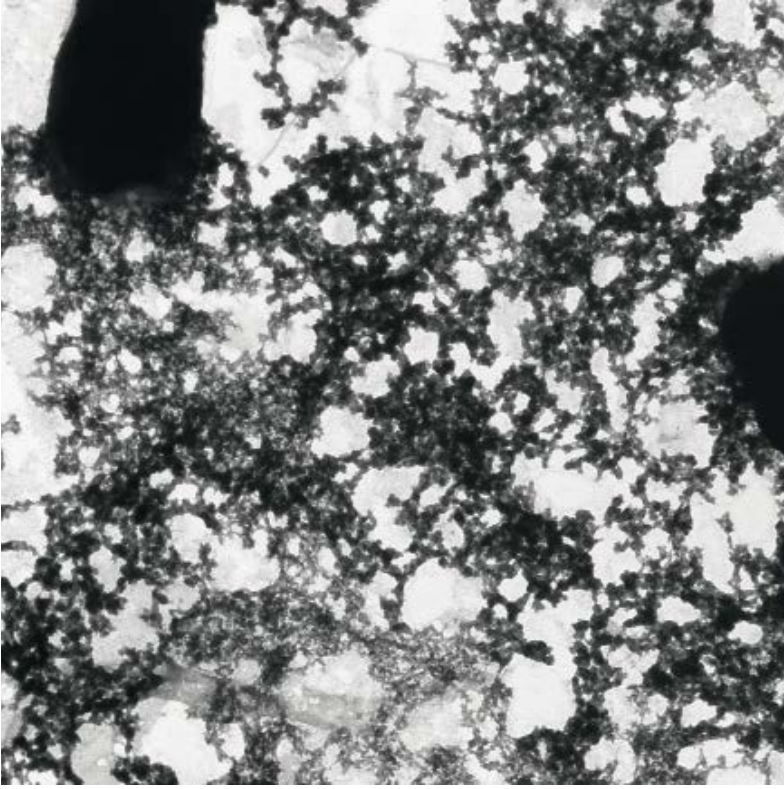
Bakteri biyo-film-leri aslında bakterilerin hem sosyal olarak bir arada yaşamasını hem de tasarruflu davranmasını hedefleyen sosyal ağlardır. Bakteriler birçok nedenden dolayı biyofilm oluşturur. Artan nüfusla beraber ortaya çıkan yiyecek problemi, artan nüfusun meydana getirdiği toksik madde miktarının zararlı hale gelmesi bu nedenlerden bazılarıdır. Bakteri biyo-film-leri sadece besiyerlerinde oluşmaz, enfeksiyon oluşumu sırasından farklı organlar ve dokularda da oluşabilir. Bu biyo-film-ler son derece güçlü duvarlarla çevrilmiş bir kale gibi düşünülebilir. Kalenin iç kısımlarında canlı hücreler metabolik etkinliklerine düşük düzeyde devam ederken, kalenin duvarlarından içeriye antibiyotikler başta olmak üzere farklı ilaçların girmesine izin verilmez. Hatta bakteriler bununla yani savunma yapmakla kalmayıp (özellikle gram negatif olanlar) endotoksin adı verilen toksinlerin üretimine başlayarak saldırıya da geçebilir. Bakterilerin organlar ve dokuların üzerinde oluşturduğu biyo-film-ler -özellikle de *Escherichia coli*

gibi farklı pek çok bakterinin tıbbi aletlerin yüzeylerinde ve gıda üretim tesislerindeki borularda ürettiği biyo-film-ler- ciddi sağlık problemlerine yol açabilir.

Buraya kadar anlatılanlardan, biyo-film-lerin tam bir baş belası olduğu sonucunu çıkarmak mümkün. Ancak bu yapılara mühendis gözüyle bakılırsa ne görülür? Göze ilk çarpan biyo-film-lerin çok dayanıklı ve yapışkan olduğu olur. Hatta biyo-film yapılar elektron mikroskopunda incelenirse içlerindeki uzun ve dallanmış fiber yapılar kolaylıkla fark edilebilir. Bugün nanoteknolojide ve biyomalzeme uygulamalarında ulaşılmak istenen hedeflerden en önemlisi, özellikleri yapısal olarak kontrol edilebilen malzemeler geliştirmektir. Nanoteknolojinin tanımlanmasında kullanılan olgulardan biri de, nano ölçekte üretim ve mü-



hendislik yapabilme yeteneğidir. Biyofilm yapılara bakıldığında, içlerindeki esas iskeleti oluşturan ve temel yapıyı meydana getiren kısmın, fiberleri meydana getiren polimerleşmiş proteinler olduğu söylenebilir. Özellikle *E. coli* tarafından üretilen biyofilm yapılarda proteinlerin amiloid olarak adlandırılan bir yapıda olduğu bilinir. Amiloid, özellikle nörodeje-

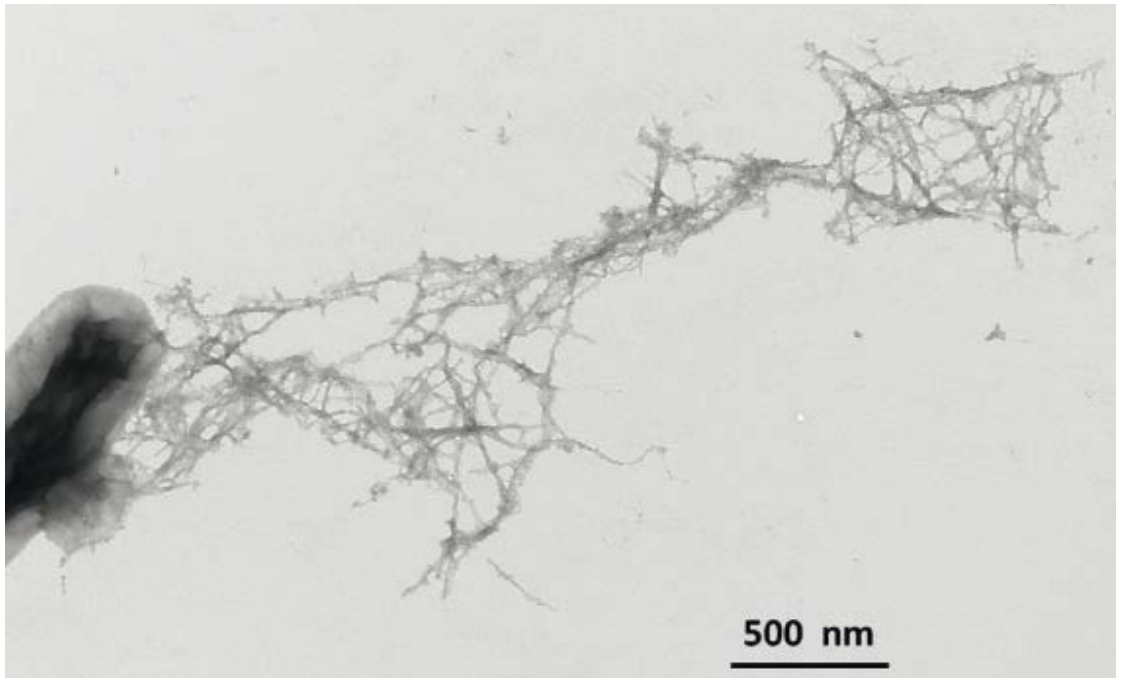


E. coli bakterileri tarafından oluşturulmuş biyofilme ait, geçirmeli elektron mikroskobu görüntüsü

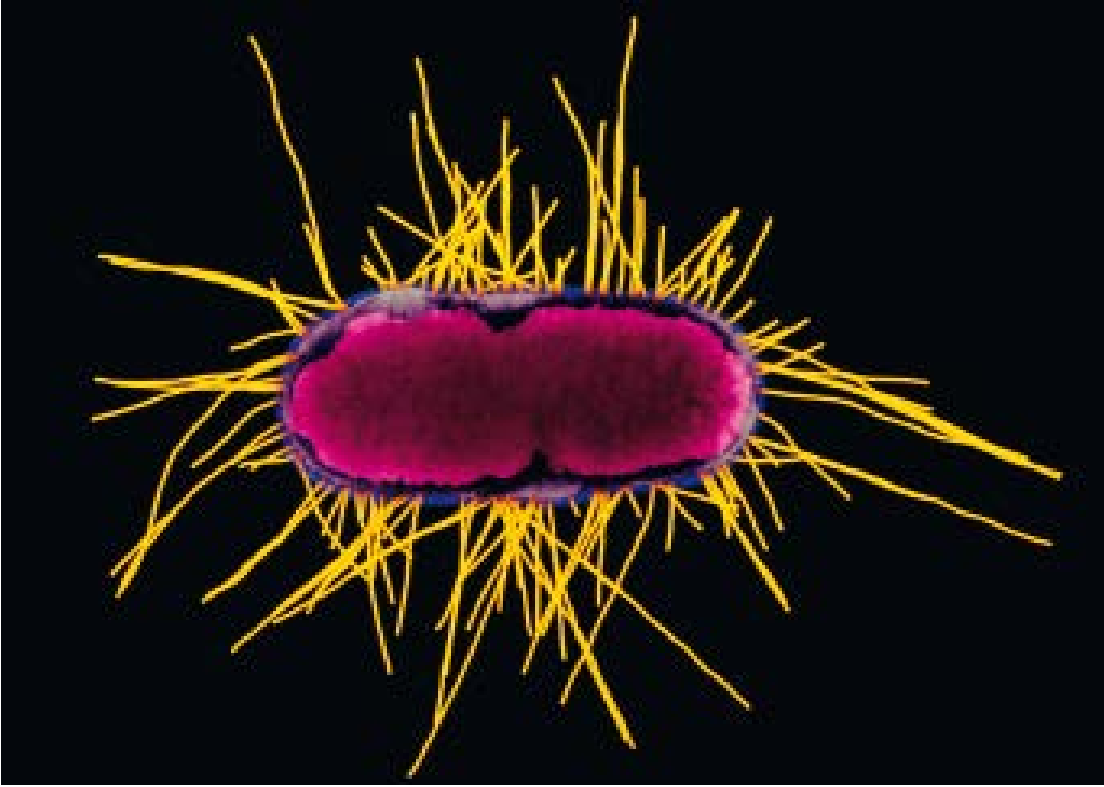
neratif hastalıklarda (Alzheimer ve Huntington hastalığı gibi) meydana gelen ve proteinlerin çözünmez bir halde birikerek agregatlar oluşturduğu yapı olarak tanımlanabilir. Bu konuyla ilgili çalışmalar sonucunda *E. coli* tarafından üretilen bu yapılara işlevsel amiloidler deniyor. Çünkü bilinen diğer amiloid proteinlerden farklı olarak, bu proteinler bulundu-

ları organizma için olumlu bir işlev görüyor. Her ne kadar biyofilmler olumsuz bir anlam ifade etse de, bu özelliklerinden yola çıkılarak genetik mühendisliği uygulamaları ile birleştirildiklerinde işe yarar malzemeler haline gelme yönünde bir potansiyele sahip oldukları söylenebilir. *E. coli* tarafından üretilen biyofilm yapısında iki temel protein vardır: CsgA ve CsgB. Yapılan çalışmalar sonrasında CsgB proteinin *E. coli*'nin içinde üretildikten sonra hücre dışına taşındığı ve hücre duvarına yapışarak CsgA proteininin gelip bağlanabileceği bir alan oluşturduğu anlaşılmış. Hücre tarafından her iki protein de üretilir ve bu proteinlerin birbirleri ile etkileşimi sonrasında amiloid nanofiber yapılar oluşturulur. Bu nanofiber yapıların genişlikleri yaklaşık 20 nm'dir, ancak bu değer çevresel koşullara bağlı olarak değişebilir. Uzunlukları mikrometre olarak ifade edilen bu yapılar nanofiber olarak kullanılabilirse, elektronik ve optik uygulamalar açısından büyük potansiyel taşır. Ancak canlı nanomalzemelerin üretilebilmesi ve kullanılabilmesi için öncelikle bu yapıların oluşumlarını kontrol eden genetik mekanizmaların kontrol edilebilmesi gerekir. Yıllarca biyofilmlerin oluşum mekanizmalarını inceleyen mikrobiyologlar bu mekanizmaları ve ilgili genleri büyük oranda belirledi. Kontrollü olarak, sadece istenilen anda ve istenilen miktarda nanofiber üretmek amacıyla gerçekleştirilen çalışmalar sonucunda canlı nanomalzeme olarak adlandırılan bir hücre sistemi geliştirildi. Araştırmacılar kontrolün eksiksiz olabilmesi için öncelikle hücredeki biyofilm üretmeye yarayan temel genleri hü-

Genetik özellikleri kontrol altına alınmış bakteriye nanofiber üretilmesi sonucunda elde edilen yapıya ait, geçirmeli elektron mikroskobu görüntüsü



500 nm



renin genom bilgisinden sildi. Böylece hücre artık biyofilm yapamayacak duruma geldi. Daha sonra, üzerinde istenilen zamanda açılıp kapanabilecek bir kilit sistemi bulunan dairesel DNA parçacıklarının üzerine biyofilm yapmaya yarayan genler yerleştirildi. Dairesel DNA parçacıkları, elektrik alan uygulanarak bakterilerin hücre gözeneklerinin açılması sayesinde hücrenin içine sokuldu. Sistemin çalışıp çalışmadığı sınıandığında ise, kilit sistemini açmak için kullanılan moleküllerin ve biyofilm oluşturmaktan sorumlu genlerin çalıştığı görüldü. Dışarıdan eklenen ve kontrol edilebilen bu genetik sistem sayesinde, biyofilm yapma özelliğini kaybetmiş olan bakterilerin bir süre sonunda yeniden biyofilm oluşturduğu gözlemlendi. Bundan sonrası biyofilm yapıları meydana getiren bakterilerin sosyal yaşamının taklit edilmesine dayanıyordu. Ancak bu sefer bakterilerin kendi kendilerine konuşması da engellenerek sadece istenilen anda birbirleri ile haberleşerek biyofilm nanofiber yapılar meydana getirmelerine izin verildi. Bu sayede sohbetleri kontrol edilebilen iki bakterinin, hangi anda hangi proteini üreteceği kontrol edilerek nanofiberlerin belirli desenlerde oluşması sağlandı. İşin daha heyecan verici kısmı ise bu nanofiber yapıların, nanomalzeme üretiminde kullanılmak üzere yeniden tasarlanmasıydı. Protein mühendisliği olarak adlandırılan çalışmalarda nanofiber yapılar bazı kimyasal gruplar eklenerek, nanofiberler üzerinde

yarı iletken ve metal nanotaniciklerin büyümesi sağlandı. Genetik bir anahtar sayesinde, nanofiber üretimi kontrol altına alındı. Bu anahtar kullanılarak istenildiği anda bakteri biyofilm yapısı oluşturulabilirdi. Oluşturulan biyofilmlerin nanofiberleri üzerine altın nanotanicikler eklenerek bu yapıların iletken olması sağlandı. Bakteri biyofilmlerinin oluşumu bakteriler tarafından kontrollü olarak sürekli yenilenebildiği için, üretilen yapay biyofilm sistemi yaralandığı ya da bozulduğunda kendi kendini hemen tamir edebiliyor. Bakterilerin bunu yapabilmek için ihtiyaç duyduğu tek şey de onlara biraz besin verilmesi.

Doğadaki birbirinden etkileyici mühendislik harikaları, her gün her saniye canlılar tarafından yeniden üretiliyor. Birçoğunu bugün bile en gelişmiş teknolojik yöntemlerle oluşturmak mümkün değil. Ancak bugün artık doğanın harikalarını yeniden düzenleyerek işimize yarar hale getirmek mümkün. DNA'nın yapısının 1953'te anlaşılması ile hızlanan doğayı keşif ve taklit sürecimiz, bugün bize doğanın sırlarını sadece sağlık alanında değil, malzeme biliminden nanoteknolojiye kadar birçok alanda kullanabilmemiz için olanaklar sunmaya devam ediyor.

Kaynaklar

- Chen, A. Y., Z. Deng, M., Billings, A., Seker, U. O. S., Lu, M., Citorik, R., Zakeri, B. ve Lu, T. K., "Synthesis and patterning of tunable multiscale materials with engineered cells", *Nature Materials*, 23 Mart 2014.
- Chen, A. Y., Seker, U. O. S., Lu, M., Citorik, R. ve Lu, T. K., "Synthesizing and Patterning Tunable Multiscale Materials with Engineered Biofilms", *bioRxiv*, 14 Şubat 2014. <http://biorxiv.org/content/early/2014/02/13/002659>
- Chapman, M. R., Robinson, L. S., Pinkner, J. S., Roth, R., Heuser, J., Hammar, M., Normark, S., Hultgren, S. J., "Role of *Escherichia coli* curli operons in directing amyloid fiber formation", *Science*, 1 Şubat 2002; 295(5556):851-5.
- Barnhart, M. M. ve Chapman, M. R., "Curli Biogenesis and Function", *Annual Reviews of Microbiology*, 15 Mart 2010.