

Bozulmuş Bir Gen Tekrar Onarılabilir Mi?

TEDAVİDE GEN NAKLİ

Kalıtıl bir hastalığı olan bir insana, doktoru şöyle diyecek: "Efendim, sizin DNA'nızda annenizden aldığımız KR-392 Ip geni görevini yapmıyor; hastaneye buyurun, bozuk geninizin yerine bir tane sağlamını takalım". Yapılacak gen nakli sonucu kalıtsal hastalığınızı iyileşeceği gibi, bu hastalığı artık çocuklarınıza da geçirmeyeceksiniz.

Dr. Cengiz AYBİRDİ*

İnsan hastalıklarından birçoğu, bir genin değişmesine bağlıdır. Örneğin, orak hücreli kansızlıkta (alyuvarların orak biçimini aldığı doğuştan kansızlık) alyuvar boyasının (hemoglobinin) yapılmasını sağlayan gende bir bozukluk vardır ve bunun sonucu kalıtsal olarak, anormal bir hemoglobin oluşmuş; bu da alyuvarların orak biçimi almasına neden olmuştur. Hemofili ise kanın normal pıhtılaşmasını sağlayan maddelerden birinin (faktör VIII) yapılmasını sağlayan gen normal değildir. Faktör VIII yapılamadığı için kan normal pıhtılaşmasını yapamaz; bunun sonucu kanamalar durdurulamaz, kalıtsal bir kanama eğilimi oluşur. Acaba bozuk olan genin yerine normal bir gen koyarak, bu hastalıkları tedavi edemez miyiz? Bugüne kadar hayvanlarda "gen tedavisi" olumlu bir sonuç vermemiştir. Bu başarısızlığın birçok nedeni varsa da, en önemlisi nakledilen normal genin, DNA molekülü üzerinde, tam bozuk genin olduğu noktaya yapışmasındaki zorluktur. Nakledilen genin tam hedefine varması, 1970'li yılların sonuna doğru ancak bira mayasında sağlanabilmektedir. Birkaç istisna dışında yüksek organizmalarda ve özellikle memelilerde, nakledilen genin DNA üzerinde istenen noktaya yapıştırılabilmesi mümkün olmamaktadır. Son zamanlarda ABD'de Utah Üniversitesi'nden M.Capocchi ve arkadaşları, yüksek organizmalarda nakledilen bir geni DNA üzerinde istenen noktaya yerleştirebilecek basit bir yöntem bulmuşlardır (Nature, 336:348, 1988).

Bu keşfin, büyük pratik ve teorik önemi vardır. Halen farelerde uygulanan bu yöntemin, insanlar



da başarılı olup olamayacağını zaman gösterecektir. 1989 Ocak ayında Amerikan Ulusal Kanser Enstitüsü'nden S.Rosenberg ve F.Anderson, kanser tedavisinde genetik olarak değişikliğe uğratılmış insan bağışıklık hücrelerini (lenfosit vb.) kullanmaya başlamışlardır.

GEN NAKLİ : BENZEYENLER BİRLEŞİR

Nakledilen bir genin hedefine varmasının neden zor olduğunu görelim. Bir memeli geni, DNA uzunluğunun milyonda biri kadardır; nakledilen bir genin kendi ait olduğu yere oturması olasılığı milyonda birdir. O halde yerini bulması için, gene yardım edilmesi gerekir. Fakat önce şu konuya açıklık getirelim: Nakledilen bir genin, DNA üzerinde tam kendi yerine oturması, neden bu kadar önemlidir? Bunun başlıca iki nedeni vardır: Bir kere kendi yerine oturmaması bir gen görev yapamaz; sonra yanlışlıkla bir başka gen üzerine oturmuş bir gen, o genin görev yapmasını da önler. Böylece gen naklederek tedavi denirken, eskisinden daha ağır, daha sakatlayıcı ve hatta daha öldürücü yeni bir hastalığa yol açılabilir! Bu tehlike küçük sayılamaz; çünkü laboratuvar koşullarında bir hayli sık görülmektedir.

Nakledilen genin DNA üzerinde ait olduğu yeri bulması, bira mayasında "homolog rekombinezon" olayıyla gerçekleştirilmiştir. Bu olayda hücreye verilen bir DNA parçası (gen), yapıcı kendisine benzer olan DNA bölgesine gider. Bu iki DNA parçası yer değiştirirler; yeni gelen DNA parçası, DNA zinciriyle bütünleşir. Eski DNA parçasıyla DNA zincirin-

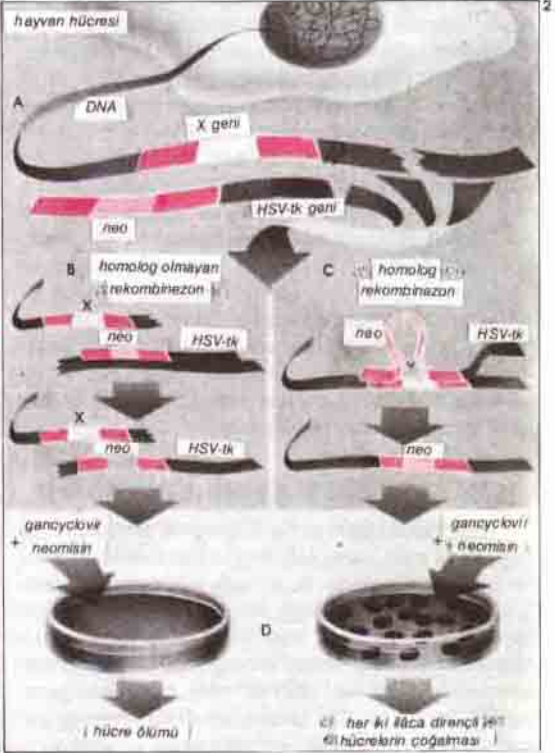
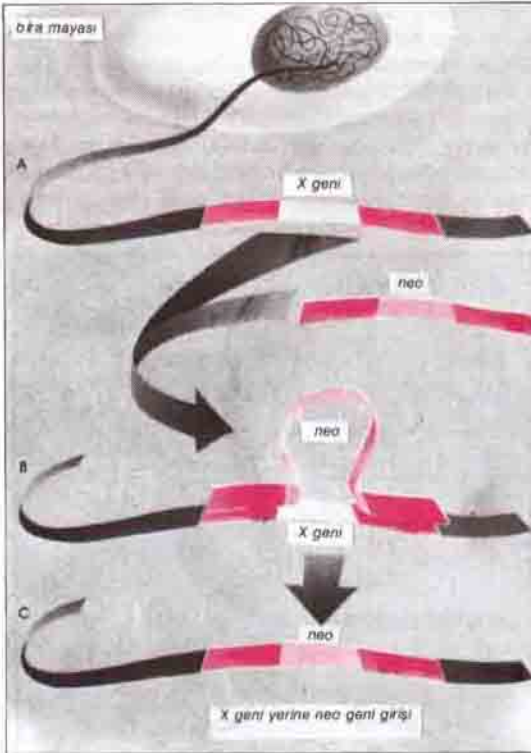
* Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Araştırma Görevlisi.

den atılır, böylece bozuk bir gen onarılabilir. Bu yöntem hücredeki bir geni susturmak, değiştirmek veya yenilemek için kullanılabilir. Hücredeki bir gen yerine yeni bir gen koymak istiyoruz diyelim. Bunun için yeni gene, eski genin iki yanındaki nükleotid sırasını aynen taklit eden iki kanat takılır. Bu kanatlar DNA zincirinden yapıcı kendisine özdeş nükleotid sırasını arayıp bulur; bu sırada yeni genle eski gen yer değiştirirler. Bütün yüksek organizmalarda ve özellikle memelilerde kardeş kromozomlar (= homolog kromozomlar) kendi aralarında madde değişimi yapar; buna "crossing over" denir. Hayvan hücrelerinde kromozomlar çift çift bulunur; bunlara kardeş veya homolog kromozomlar denir. Her çiftin bir kromozomu anneden, bir kromozomu da babadan gelmiştir. Bira mayasındaki "homolog rekombinezon"

olayı crossing over'a benzemektedir; bu nedenle yüksek organizmalarda da böyle bir rekombinezon (yeniden yapılanma) mümkün görülmüş ve memeli hayvan hücresi, mayaya göre 100 kat DNA içermesine rağmen bu husus deneylerle doğrulanmıştır.

AKTİF ULUSLARARASI REKABET

Bu konu üzerinde 1984'ten beri ABD, Kanada ve B.Almanya çalışmaktadır. 1985'te ABD'den O. Smithies, homolog rekombinezon yöntemini kullanarak, bir memeli hücresinde bir hemoglobin geni yerine yenisini sokmayı başardı. Gerçi yeni gen DNA ile bütünleşmişti; ancak, bir milyon hücreden birinde yeni gen, eski genin yerini almıştı, yani hedefini tam bulabilmişti. Ne yapılacağı belliydi artık;



GEN NAKLİ

İnsan hastalıklarının birçoğu, bir genin değişmesine bağlıdır. Bozulmuş bir geni "onararak" mümkün mü? Bira mayasında böyle bir gen tedavisi çok kolaydır; homolog rekombinezon denen bir teknikle, bir genin yerine yenisini koymak mümkündür. Burada bira mayasındaki X geninin yerine, neomisin adlı antibiyotige direnç sağlayan neo geni konmak isteniyor. Görüldüğü gibi, X yerine nakledilmek istenen neo geninin (açık pembe) soluna ve sağına, X geninin solundaki ve sağındaki DNA parçalarına çok benzeyen kanatlar (koyu pembe) takılmıştır (A). Homolog rekombinezon olayı sırasında, homolog parçalar (koyu pembe) birbirini tanır; bu sayede naklettiğimiz DNA parçası yanlış yere gitmez; doğruca değiştirmek istediği-

miz genin üzerine gider (B). DNA zincirinden X geni çıkararak, yerine neo geni girer (C).

Memelilerde gen nakli, bira mayasına göre çok daha zordur. Araştırmacılar, neo genine X geni kanatlarına uyan homolog parçalar (koyu pembe) ekledikten sonra, bir de HSV-tk ile gösterilen uçuk virüsü geni eklediler (A). Bu gen, uçuk virüsünü gancyclovir denen ilaçla öldürülmesini sağlar. Sonuç: Verdiğimiz DNA parçası herhangi bir yere yapışırsa, her iki gen de etkisini gösterir, hücre neomisine dirençli, fakat gancyclovire duyarlı olur; bunun sonucu her iki ilacı içeren bir ortamda hücreler ölür (B). Buna karşı verdiğimiz DNA parçası X genine yapışırsa, HSV-tk geni açıkta kalır (C). Hücre her iki ilaca dirençlidir ve çoğalır. Böylece nakledilen genin doğru yere yapıştığı hücreleri ayırt etmek mümkün olur.

nakledilen genin tam hedefini bulduğu hücreleri ayırarak çoğaltmak ve bunları bu gene ihtiyacı olan hastalara nakletmek gerekiyordu.

1987 sonlarında ABD'den M.Capecci, farelerin HPRT (hypoxanthine phosphoribosyl transferase) enzimini yaptıran genin yerine yabancı bir gen koyabildi. Bu enzimin eksikliği, bebeklerde Lesch-Nyhan hastalığı denen kalıtsal bir hastalığa neden olmaktadır (kanda ürik asit artışı, zekâ geriliği ve garip bir şekilde kendi vücudunu ısırarak tahrip etme eğilimi). Smithies, bu hastalıkta da bozuk genin yerine yenisini DNA'ya sokmayı başardı. Hasta hücrelerin sağlamları gen kabul etme oranı, hemoglobinde olduğu gibi milyonda birdi.

Diğer araştırmacılar, fare embriyon hücreleri kültüründe benzer deneyler yaptılar. Embriyona gen nakli, hücreye gen naklinden farklıdır. Embriyon döl yatağından alınır; gen nakli gerçekleştirilir ve embriyon tekrar döl yatağına konulur. Bu durumda embriyonda iki türlü hücre karışık olarak bulunur: Grefi (nakledilen geni) kabul etmiş olanlar ve olmayanlar. Böyle genetik yapıları (DNA'ları), farklı hücrelerden oluşan canlılara "şimer" denmektedir (şimer, aslan, keçi ve insan karışımı mitolojik bir yaratıktır). Şimer bir farenin yavruları şimer olmayacaktır; seks hücreleri gen grefini ya taşıyacak, ya taşımayacak, buna göre de şimer yavrularının yarısı gen grefini almış, yarısı da almamış olacaktır. Smithies ve Capecci'nin laboratuvarlarında halen sonuçlar beklenmektedir. Eğer şimerlerden, nakledilen geni kabul etmiş yavrular doğarsa, dünyada ilk kez embriyonda gen nakli gerçekleştirilmiş olacaktır.

HÜCRELERİN AYIRT EDİLMESİ

Nakledilen geni almış hücrelerle almamış hücreler nasıl ayirt edilecek? Bugün bu, Capecci yöntemiyle yapılmaktadır. Bu amaçla embriyon doku kültürü hücrelerine bir değil, iki gen nakledilmektedir. Genlerden birinin adı "neo" olup, doku kültürü hücrelerinin neomisin denen antibiyotige dirençli olmasını sağlar; diğeri ise "HSV-tk" olup, hücrelerin gancyclovir denen bir ilaç tarafından öldürülmesini garantiler (HSV = herpes simplex virus = uçuk virüsü. HSV-tk, uçuk virüsünün gancyclovir denen antiviral ilaçla öldürülmesini sağlayan gendir). "Neo" geninin iki kanadı, hücrede ulaşmak istediğimiz genin iki kanadına uygun seçilmiştir; "HSV-tk" genine ise böyle kanatlar konmamıştır. İki gen taşıyan bu DNA parçası, embriyon DNA'sının herhangi bir yerine yapışarsa, her iki gen görevini yapar; embriyon hücresi neomisine dirençli ve gancyclovire duyarlı olur. Buna karşı "neo" geninin iki yanındaki kanatlar, DNA üzerinde kendilerine uygun bölgeye gelebilirse, "neo" geni homolog rekombinezon yapar; yani benzer kanatlar arasında bulunan eski ve yeni gen yer değiştirirler; "neo" geni hücre DNA'sı ile bütünleşir, eski gen ise DNA'yı terkettiğinden etkisini yitir.

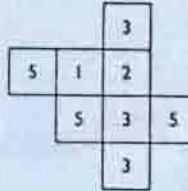
Buna karşı uygun kanatlar içermediğinden, "HSV-tk" geni DNA yapısına giremez; dolayısıyla etkisini gösteremez. Bu durumda hücre neomisine dirençlidir ("neo" genini almıştır); ayrıca gancyclovire de dirençlidir ("HSV-tk" genini almamıştır). Kısacası, gen aşısının başarılı olduğu hücreler, hem neomisine, hem de gancyclovire dirençli, gen aşısının başarısız olduğu hücreler neomisine dirençli; fakat gancyclovire duyarlı olacaktır. Artık gen grefini almış ve almamış hücreleri birbirinden ayırmak mümkündür. Embriyon hücreleri hem neomisin, hem gancyclovir içeren bir besi ortamına konulduğunda, gen aşısını kabul etmemiş hücreler ölecek (gancyclovir nedeniyle), gen aşısını kabul etmiş hücrelerse hayatta kalacaktır.

İnsanlar gelecekte apandisit, safra kesesi operasyonuna gider gibi, gen operasyonlarına gidecek. Kalıtsal bir hastalığı olan bir insana doktoru şöyle diyecek: "Efendim, sizin DNA'nızda annenizden aldığınız KR-392 lp geni görevini yapmıyor; hastaneye buyurun, bozuk geninizin yerine bir tane sağlamları takalım". Yapılacak gen nakli sonucu kalıtsal hastalığınız iyileşeceği gibi, bu hastalığı artık çocuklarınıza da geçirmeyeceksiniz. Gen nakli sayesinde kalıtsal hastalıklar tarihe karışacak.

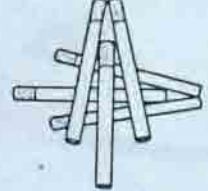
ZEKÂSAYAR

(Geçen sayıda yayınladığımız soruların cevapları)

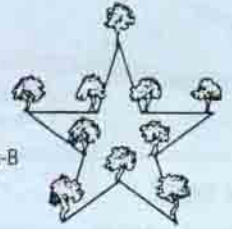
ZARLAR :



SİGARALAR :



AĞAÇ YERLEŞTİRME :



ÜÇ BOYUTLU DİZİ : Cevap-B

3 boyutlu düzen şu şekilde kurulmuştur :

- 1) Büyük/küçük
- 2) Daire/kare
- 3) Beyaz/siyah

**İKİYÜZLÜLÜĞÜ, DALKAVUKLUĞU
BECEREN, İFTİRAYI DA BECERİR.**

Napolyon