

İlk Sentetik Genom “Dünyaya Geldi”

Bitkilerde, hayvanlarda ya da mikroorganizmalarda genetik değişiklikler yapılması gerek biyoteknoloji endüstrisinin gerekse temel genetik ve moleküler biyoloji araştırmalarının sıradan işlemlerinden biri haline geldi. Mevcut canlıların genomlarında değişiklikler yapmak yerine tamamen yeni tasarlanmış genomlara sahip canlılar oluşturmayı amaçlayan sentetik biyoloji yaklaşımları ise henüz pek çok temel teknik engelle sınırlanmış durumda. Yine de moleküler biyoloji ve genetik teknolojileri geliştikçe bu alanda da önemli adımlar atılmaya başlandı. Geçtiğimiz Mayıs ayında sentetik biyoloji alanında kilometre taşları arasına girecek bir gelişme yaşandı. Tamamen laboratuvar ortamında üretilen bir bakteri genomu canlı bir bakteri hücresine verildi ve sonuçta, laboratuvarında sentezlenen yeni genomun yönettiği, kendi kendine çoğalabilen hücreler elde edildi. Bilim dünyasında büyük yankı uyandıran başarı beraberinde sentetik biyolojiye ilişkin birtakım etik ve güvenlik tartışmalarını tekrar gündeme getirdi.



Tamamen sentetik bir genom üreterek sentetik hücre oluşturmak moleküler biyolog ve genetikçi J. Craig Venter ve ekibinin 15 yıldır üzerinde çalıştığı bir projeydi. Oluşan yeni hücreye “sentetik hücre” demelerinin sebebi, bu hücrenin kimyasal olarak sentezlenmiş DNA parçalarının birleşmesiyle oluşan bir genom tarafından yönetiliyor olması. Venter ve ekibi daha önce bir bakteri genomunu kimyasal olarak sentezlemeyi başarmıştı. Ayrıca bir bakterinin genomunu başka türden bir bakteriye aktararak bakterinin türünü değiştirmeyi de başarmışlardı. Bu defa bu iki yaklaşımı birleştirerek tamamen laboratuvar ortamında sentezlenmiş genomun güdümünde hücreler oluşturmayı başardılar.



J. Craig Venter / J. Craig Venter Enstitüsü

Venter ve Ekibinin Sentetik Biyoloji Yaklaşımı

Venter ve ekibinin sentetik hücre üretme amaçlarının ardında genel bir yaklaşım yatıyor. İlk DNA dizin analizi tekniklerinin gelişmesinden bu yana, yüzlerce canlı türünün genom dizilimleri ortaya çıkarıldı. Bugün DNA dizi analizi çok kısa sürede ve çok düşük maliyetle yapılabiliyor. Bu imkânlar genomun ve gen bilgisinin anlaşılması için çok çeşitli hesaplamalı ve deneysel yaklaşımların ortaya çıkmasını tetikledi. Ancak genom hakkındaki bilgilerimiz hâlâ çok sınırlı. Hiçbir hücre sisteminin tüm genleri biyolojik görevleri açısından anlaşılacak değil. Venter ve ekibi, hayatta kalmak için gerekli minimum sayıda gene sahip bir minimal hücre oluşturularak hücrenin yaşamın işlevlerinin çözümlenebileceğini ve bu bilgiden yola çıkılarak genom bilgisi sanal ortamda tasarlanan sentetik canlılar oluşturulabileceğini düşünmüş.

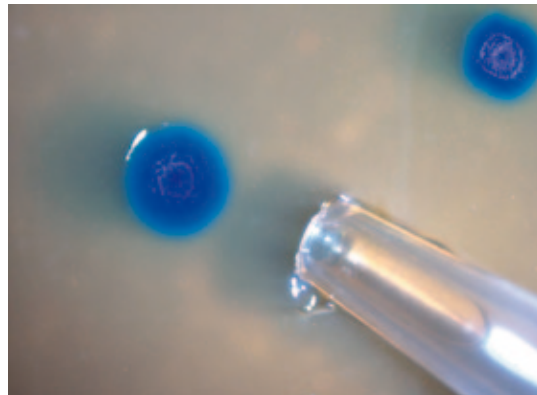
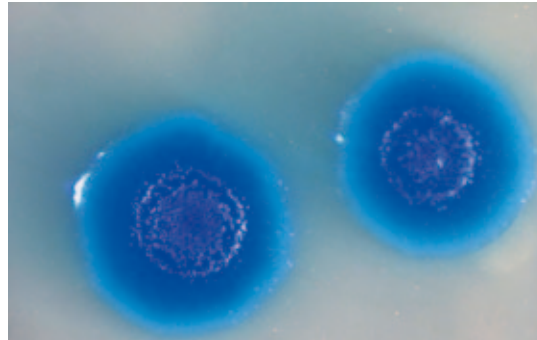
1995 yılında laboratuvar ortamında büyütülebilen canlılar arasında bilinen en küçük gen takımına sahip *Mycoplasma genitalium*'un genom dizilimini çıkarmışlar ve protein kodlayan 485 genin 100'den fazlasının tek tek silindiği takdirde vazgeçilebilir olduğunu keşfetmişler. Minimal hücre oluşturma ama-

cı ekibi büyük DNA moleküllerini ve kromozomları sentezleme yöntemleriyle ilgilenmeye yönelmiş.

“Sentetik Hücre”nin Sentezi

Sentetik hücrenin sentezinin ilk aşamasını genomun tasarlanma süreci oluşturdu. Genom, 1.077.974 harften (A, T, C, G bazları) oluşan *Mycoplasma mycoides* bakterisi genomu üzerinden tasarlandı. Bu ilk gösteri deneyinde (ilk sentetik genom sadece deneme amacı taşıyor), araştırmacılar bu genomdan 15 geni sildi. Ayrıca sentetik genomun doğal olandan ayırt edilebilmesi için tıpkı bir filigran gibi işlev görecekle bazı eklemeler yaptılar. *Mycoplasma mycoides* JCVI-syn1.0 olarak adlandırılan sentetik genoma, DNA'yı oluşturan dört bazı temsil eden harflerle ve (A, T, C, G) bu harflerin üçlü ya da dördü kombinasyonlarıyla oluşturulan bir kod kullanılarak 46 araştırmacının isimlerini, bir e-posta adresini, bir web sitesi adresini ve birkaç tane de özdeyişi yerleştirdiler.

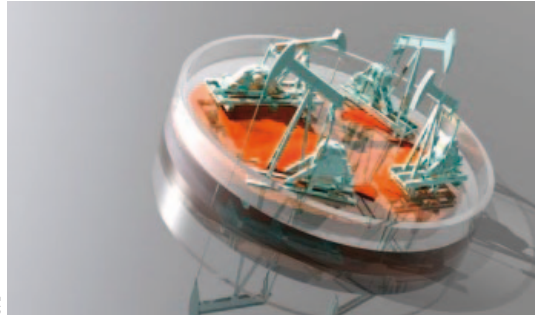
Uzun DNA parçaları sentezlemek zaman ve para açısından yüksek maliyetli olduğu için sentetik genom parça parça sentezlendi. Araştırmacılar ilk önce genomu sanal ortamda, kaset olarak adlandırılan yaklaşık 1080 bazlık 1078 parçaya ayırdı. Kullandıkları bilgisayar programı her bir parçanın iki ucuna daha sonra parçaların bir araya gelebilmesini sağlayacak yapışkan diziler ekledi. Araştırmacılar daha sonra bu 1078 kaset tasarımını bir DNA sentez firmasına yolladı.



J. Craig Venter Enstitüsü

Araştırmacılar 1078 kaseti doğru biçimde bir araya getirerek sentetik genomu oluşturmak için daha önce geliştirdikleri, maya hücresi içinde gerçekleşen bir birleştirme sistemini kullanarak üç aşamalı bir süreci başlattılar. İlk aşamada her 10 kaseti ayrı ayrı birleştirerek 110 adet 10.000 bazçiftlik parçalar oluşturdular. İkinci aşamada bu 10.000 bazçiftlik parçaları 10'ar 10'ar birleştirerek 11 adet 100.000 bazçiftlik parça oluşturdular. Son aşamada ise 11 adet 100.000 bazçiftlik parçayı bir araya getirerek bütün haldeki sentetik genomu oluşturdular ve bir yapay maya kromozomu olarak çoğalttılar.

Bütün haldeki *M. mycoides* genomu maya hücrelerinden ayrıldı ve restriksiyon enzimlerinden (DNA'yı belirli dizileri tanıyarak parçalayan enzimler) arındırılmış durumdaki alıcı *Mycoplasma capricolum* hücresine aktarıldı. Sentetik genomun DNA'sı alıcı hücre içinde mesajcı RNA'ya çevrildi, mesajcı RNA'nın taşıdığı bilgiyle de yeni proteinler sentezlendi. *M. capricolum* genomu, ya *M. mycoides* restriksiyon enzimleri tarafından parçalandı ya da hücre çoğalması sırasında yok oldu. İki gün sonra sadece sentetik genomu sahip olan, canlı *M. mycoides* hücreleri bakteri büyütme ortamı içeren petri kapları içinde belirgin olarak görülebiliyordu.



ST

Sentetik genom ilk sentezlendiğinde canlı hücreler oluşturulamamıştı. Bu yüzden araştırmacılar oluşturdukları her bir kasetin biyolojik olarak işlevsel olup olmadığını kontrol etmek üzere bir hata düzeltme yöntemi geliştirdi. Bunun için 100.000 bazçiftlik doğal ve sentetik DNA parçalarını bir araya getirerek yarı-sentetik genomlar oluşturdular. Bu yaklaşım sayesinde, her bir sentetik parçanın 10 doğal parçayla bir araya getirildiğindeki aktarılma ve yeni hücreler oluşturma yeteneğini sınadılar. 11 sentetik parçadan 10'u canlı hücreler oluşturabildi, böylece araştırmacılar dikkatlerini 100.000 bazçiftlik tek bir parçaya yöneltti. DNA dizin analizi, başarısız aktarımın hayati bir gendeki tek bir baz eksikliğinden kaynaklandığını ortaya çıkardı. Bu tek bazlık hata düzeltilince ilk sentetik hücre üretilmiş oldu.

Sentetik Hücre Neden Önemli?

Sentetik hücrenin yapılması her şeyden önce teknolojik bir dönüm noktası olarak görülüyor. J. Craig Venter Enstitüsü'nden Daniel Gibson bu yaklaşımla bir DNA dizisinden başlayarak istediğimiz özellikteki canlıları tasarlayabileceğimizi, doğrudan nükleotid (DNA yapı taşı) seviyesine inerek genomda istediğimiz değişiklikleri yapabileceğimizi söylüyor. Gibson bilim insanlarının şimdiye kadar genler üzerine mühendislik yapmanın pek çok etkin yolunu bulduğunu, ancak bu yöntemin genomda pek çok değişikliği bir anda yapabilme ve genoma doğada bulunmayan ancak faydalı işlevlere sahip olabilecek DNA parçaları ekleyebilme gibi eşsiz bir beceri sağladığını da ekliyor.

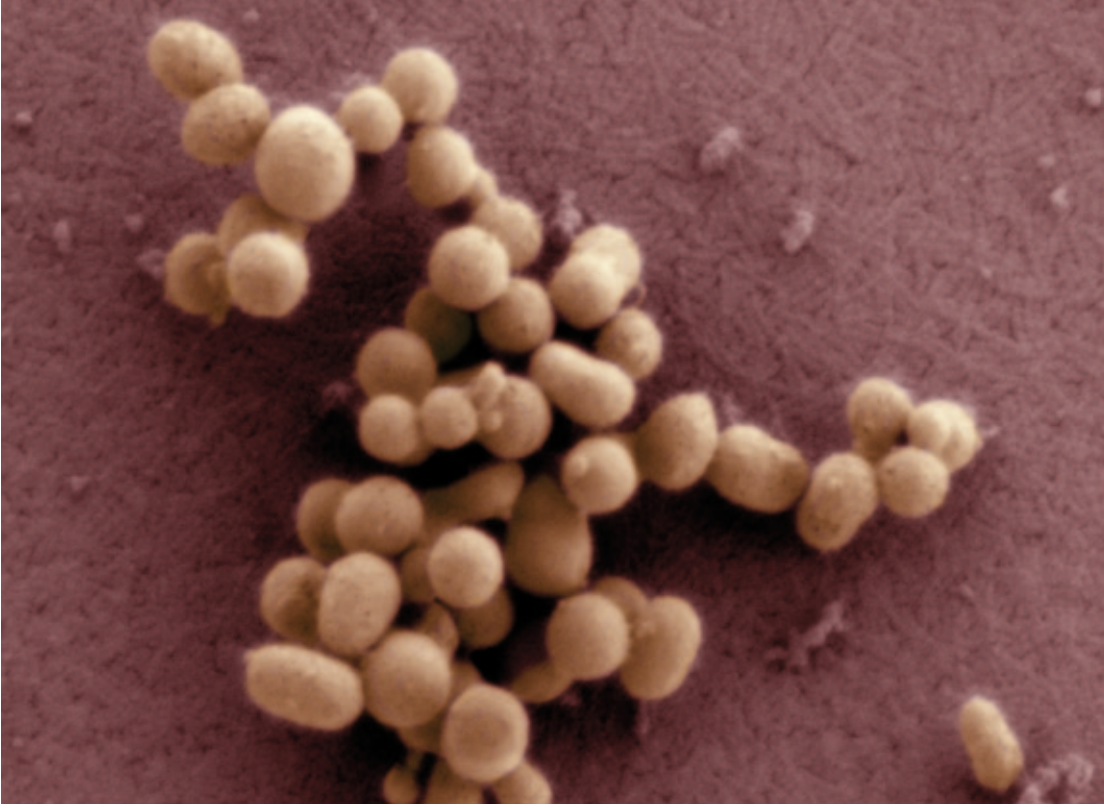
Sentetik genom taşıyan hücrenin oluşturulabilmesi hem biyoteknolojik uygulamalar hem de temel bilim araştırmaları açısından önem taşıyor. Bu başarının ardından araştırma ekibi aynı yaklaşımı kullanarak 1995'ten beri hedefledikleri minimal genomu oluşturma çalışmalarına başladı. Sentetik genomu gitgide kısaltarak ve her aşamada aktarma deneyini tekrarlayarak, hiçbir genin silinmediği ve genomun hücrenin hayatta kalmasını sağlayacak minimum genlere sahip olduğu durumu yaratmaya çalışacaklar. Böylece oluşturulacak minimal hücre, hücredeki her bir hayati genin işlevinin anlaşılacağı bir platform işlevi görecek.

Hücrenin işleyişinin çözümlenmesi yaşamın doğası ve ortaya çıkışına ilişkin ipuçları sağlayabileceği gibi sentetik biyolojinin sınırlarını da genişletecek. Hücrenin işleyişi ve genlerin bu işleyişteki rolleri ne kadar iyi anlaşılırsa istenen işlevleri gerçekleştirebilecek genomların tasarlanması da o kadar mümkün olacak. Ancak bilim insanları genetik ağlar konusunda henüz buna imkân verecek ölçüde bilgiye sahip değil. Kaliforniya Üniversitesi'nden sentetik biyoloji araştırmacısı Chris Voight sentetik genomun önündeki en büyük engelin, DNA sentezleme kabiliyetimizle DNA tasarlama kabiliyetimiz arasındaki uçurum olduğunu söylüyor. Voight DNA tasarımının yeni nesil bir araştırma alanı olacağını, bugün sahip olduğumuz DNA sentezleme teknolojisinin gelecekteki tasarım teknolojisini geliştirmede araç olarak kullanılacağını belirtiyor.

Venter'in ekibinden biyolog Daniel Gibson JCVI araştırmacılarının artık farklı organizmalar oluşturmak için hazır olduğunu, mevcut DNA dizi bilgilerini kullanarak enerji kaynağı olarak kullanılacak maddeler, ilaç etken maddeleri, endüstriyel bileşikler vb. üretebilen; karbondioksiti yakalayarak

Geleceğin sentetik organizmalarının tıpkı birer fabrika gibi amaca özel maddeler üretmede kullanılacağı düşünülüyor.

Mycoplasma mycoides
JCVI-syn1.0. adlı sentetik
hücreler



J. Craig Venter Enstitüsü

bünyesine alabilen hücreler üretmek istediklerini söylüyor. Venter sentetik biyoloji tekniklerini kullanarak haftalar ya da aylar değil günlerle ölçülebilir kadar kısa sürelerde antiviral (virüslere karşı) aşılar üretebilmeyi umuyor. Virüsler çok kısa sürede genetik değişiklik geçirdiği için aşuların kısa sürede geliştirilebilmesi çok önemli.

Riskli Görülen Olasılıklar

İnsan tasarımı canlılar üretilmesi birtakım kaygıları da beraberinde getiriyor. İlk akla gelen olasılıklardan biri sentetik organizmanın laboratuvar dışına kaçarak doğadaki "kuzenlerinin" soyunu tehlikeye atması ya da bünyesindeki sentetik DNA'yı yay gen aktarımı yoluyla onlara bulaştırması. Araştırmacıların bu tür kazaları önlemek üzere öngördükleri bazı yöntemler var. Örneğin sentetik canlıyı laboratuvar ortamı dışında hayatta kalamayacak biçimde tasarlamak. Bu tür tedbirler faydalı görülse bile sentetik canlıların üretildiği araştırmaların çok sıkı denetimlere tabi tutulmasının gerekli olduğu öngörülüyor.

Sentetik biyoloji teknolojisinin kötü niyetli kişiler ya da gruplar tarafından zararlı patojenler üretmede kullanılma ihtimali de kaygı yaratan hususlar arasında. Şu anda yüksek maliyetin ve teknik zorlukların bu teknolojiyi teröristler için cazip hale getirme-

diği, ancak yakın gelecekte bu teknoloji daha erişilebilir olduğunda tehlikeli girişimler olabileceği düşünülüyor. Şimdiden bir takım güvenlik tedbirleri üzerine kafa yoruluyor. Bu konuda Beyaz Saray'ı bilgilendiren Venter, konuyla ilgili politik düzenlemelerin teknolojik gelişmeyle paralel ilerleyebilmesi için çalışmalar yaptığını söylüyor.

Teknolojinin Geleceği

Sentetik genoma sahip canlıların üretilmesini sağlayan bu teknoloji hiç şüphesiz çığır açıcı bir gelişmeyi temsil ediyor. Venter ve ekibi, geliştirdikleri yöntem genellenebilirse sentetik kromozomların tasarlanmasının, sentezinin, birleştirilmesinin ve aktarılmasının bundan böyle sentetik biyolojinin ilerlemesine engel teşkil etmeyeceğini belirtiyor. Ekip geçmişte DNA dizi analizi teknolojilerinde olduğu gibi DNA sentez teknolojilerinin de ucuzlamasını ümit ediyor ve düşük maliyetler otomasyonla birleşirse sentetik genomik için çok geniş uygulama alanları oluşacağını öngörüyor.

Kaynaklar

Gibson, D. G. ve ark., "Creation of a Bacterial Cell Controlled by a Chemically Synthesized Genome", *Science*, Cilt 329, s.52-56, 2010.
<http://www.technologyreview.com/biomedicine/25539/>
<http://www.jcvi.org/cms/press/press-releases/full-text/article/first-self-replicating-synthetic-bacterial-cell-constructed-by-j-craig-venter-institute-researcher/>

<http://www.scientificamerican.com/article.cfm?id=synthetic-genome-cell>
<http://www.nature.com/news/2010/100519/full/news.2010.253.html>
<http://www.scientificamerican.com/article.cfm?id=tools-for-life>