

# Derimizdeki Antibiyotik

Vücudumuzdaki proteinler kendine özgü dille bir komuta zincirini gerçekleştirirler. Bir memeli henüz bir hücre halindeyken bile bu dili bilir. Bu dil sayesinde birken iki, ikiyken dört olur; doğrudan sonra çevredeki bakterilerden, virüslerden korunmak için bağışıklık sistemini bu dil aracılığıyla harekete geçirir. Çoğalma, korunma, hatta ölüm gibi temel süreçler proteinlerin dili yardımıyla gerçekleşir. İşte J. Harder ve arkadaşlarının bulduğu protein, araştırmacıların bu dili anlama çabalarında yeni bir aşama. Kiel Üniversitesi'nden dermatolog J. Harder, J. Bartles, E. Christophers ve J.M. Schröder'den oluşan bir ekip, *Nature* dergisinde yayınlandıkları makalelerinde derimizde, solunum borusunda ve dilimizde antibiyotik etkisi gösteren proteinler bulduklarını açıkladılar.

Bilim dalları birbirinden bağımsızmış gibi gözükseler de, aslında zaman zaman iç içe geçiyorlar. Harder ve arkadaşlarının çalışması da farklı bilim dallarına ait birçok uygulamayı içeriyor ve bilimler arasındaki işbirliğine işaret ediyor bir bakıma. Tıbbın iki bilim dalı olan dermatoloji ile farmakoloji, kimya ve genetik gibi birbirinden bağımsız görülen bilim dallarından elde edilen bilgiler bu araştırmada bir araya gelmiş. Çalışmada, dermatolojinin sedef hastalığı ile ilgili temel bilgilerinden yararlanılmış. Üzerinde durulan proteini ayırtmak için, protein kimyası öncülüğünde protein ayırma ve saflaştırma yöntemleri uygulanmış; ayrıştırılan proteinin antibiyotik etkisi farmakolojik bilgiler ışığında araştırılmış. Kısa zincirli proteinin, yani peptidin üretimini DNA kodladığından, genetik bilimi de işin içine karışmış.

Çalışmanın ilk aşaması gözleme dayanıyor. Her bilim dalında, hatta günlük yaşamımızda gerekli olan gözlem, araştırmacıları bu çalışmaya yönlendirmiş. Bitkilerin yüzeylerindeki dokuda ve hayvanların derilerinde,

mikroorganizmalarla savaşan peptidlerin üretildiğini biliyoruz. Benzer şekilde insanların dillerinde, derilerinde ve solunum yollarında da böyle bir proteinin üretildiği düşünülüyordu. Araştırmacıların sedef hastaları üzerindeki gözlemleri bu düşünceyi güçlendirdi. Sedef hastalarının derilerindeki yaralar enfeksiyonlara davetkâr koşullar sağlıyordu. Oysa beklenenin aksine, sedef hastalarının derileri olası enfeksiyonlara dirençliydi. Bu da araştırmacıları "sedef hastalarının derilerinde de antibiyotik özellikte küçük proteinlerin üretilebileceği" hipotezini öne sürmeye yönlendirdi.



Vücudumuzda proteinlerin çok farklı işlevleri var. Yukarıda, virüslere karşı etkili olduğu saptanan bir proteinin bilgisayar simülasyonu görülüyor.

Eğer antibiyotik etkisi gösteren küçük proteinler, yani peptidlerin varlığı söz konusuysa, öncelikle bunların deriden ayrıştırılması gerekiyordu. Antibiyotik etkilerinin olup olmadığı, ancak onları saf olarak elde ettikten sonra anlaşılabilirdi. Sedef hastalığı nedeniyle oluşan yaraların enfeksiyonlara açık olması gerekirken hastalıklara direnç gösteriyordu. O halde, bu yaralardaki antibiyotik etkili peptidler normal düzeyin üzerindedir. Araştırmacılar, yaraların üzerindeki pulmuş kabukları işlemeye geçerek, hazırladıkları çözeltilere söz konusu peptidlerin geçmesini sağladı. Ellerindeki çözeltide, bulmayı amaçladıkları peptidlerin yanı sıra başka maddelerin de bulunduğunu biliyorlardı; çünkü bu yöntemle çok sayıda madde çözünerek çözeltiliye geçirdi.

## Peptide Yem Gerek

Sırada peptidleri bu çözeltiden ayırarak saflaştırmak vardı. Maddeleri saflaştırmada kullanılan temel yöntemleri söz konusu peptidlere uyarlamak gerekiyordu. Peptidlerin önüne bir "yem" atmak yapılacak en uygun şeydi. Peptid bu yemle karşılaşınca ona bağlanabilirdi. Saflaştırmada yardımına başvurulacak olan her ne ise, normalde peptidin "Hayırlı" diyemeyeceği bir şey olmalıydı. Bu nedenle bir mikroorganizma kullanmak akla uygun olacaktı. Araştırmacılar, *Escherichia coli* adlı bakterinin bulunduğu bir düzenek hazırlayarak, çözeltilerini bu düzenekte *E. coli* ile karşılaştırdılar. Sonuç:  $\beta$ -defensin adı verilen peptid kapana kısılmıştı; yem olarak *E. coli*'nin kullanıldığı düzenekte artık saf peptid bulunuyordu. *E. coli*'den ayırdıktan sonra, sıra peptidin yapısını ve mikroorganizmalara olan etkisini araştırmaya gelecekti. Araştırmacılar sedef hastalarının yara kabuklarından elde ettikleri 50 gramlık örnekten 200-400 mikrogram  $\beta$ -defensin elde etmişlerdi. Proteinler çok düşük dozda etkili olduğundan, mikrogramlarla ifade edilen bu miktar hiç de azımsanacak bir miktar değildi.

Peptidin yapısını anlamak günümüz teknolojisi sayesinde hiç de zor değil. Saf halde elde edilen peptidlerin amino asit dizilimi, onu yapıtaşlarına kadar ayıran cihazlar yardımıyla belirlenebiliyor. İşte Harder ve ekibi, elde ettikleri iki tip peptidin dizilimini sıgır dilinden ve solunum borusundan elde edilenlerle karşılaştırdılar. Bu dört peptidin ortak bölgeleri saptanırca, antibiyotik etki için gerekli amino asit dizilimi de saptanmış olacaktı. Artık mikroorganizmalara karşı etkili  $\beta$ -defensinlerin dizilimini biliyorlardı. Biri öncül olan bu iki peptidten elde edilen veriler, peptidlerin vücutta sentezlenip salgılandığını gösteriyordu.

Vücudumuzdaki her hücre  $\beta$ -defensin gibi yüzlerce protein üretir. Üretim için gerekli malzeme besinlerden sağ-

lanır. Proteinli besinler önce yapıtaşları olan amino asitlerine kadar ayrıştırılır. Daha sonra, ribozomda, üretilmek istenen proteine ya da peptide özgü dizilimde yeniden bir araya getirilir. Bu bir araya getirme işleminin zamanını ve sırasını belirleyen ise hücre çekirdeğindeki DNA'dır. Harder ve arkadaşları da bu aşamadan sonra genetiğin sunduğu bilgiler ışığında yollarına devam ettiler. Artık hedefleri, dizilimi belirleyen DNA'nın yapısını bulmaktı.

Peki,  $\beta$ -defensin üreten bir DNA parçası ne işe yarar? Belki bu ekip değil, ama araştırmayı sürdüreceğiz başka araştırmacılar için yeni açılımlar anlamına gelebilirdi bu gelişme.  $\beta$ -defensin antibiyotik etkisi gösteren olduğuna göre, neden yeni kuşak antibiyotikler arasında yer alsın? DNA'nın antibiyotik etkisi gösteren bu proteini üretmesi sağlanabilir; protein saflaştırıldıktan sonra da ilaç haline getirilerek tedavi amacıyla kullanılabilir. Bu, yalnızca bizim öngörebildiğimiz bir gelişme. Bundan sonraki çalışmaların sonuçlarını bugünden kestirmek zor.

## Dizi Dizi Amino Asitler

Harder ve arkadaşları çalışmalarında bir adım daha atarak bundan sonraki araştırmalara zemin hazırladılar. Genetik araştırmalarıyla elde ettikleri bilgiler daha sonra ekibin de işine yarayacaktı.

$\beta$ -defensin adı verilen proteinin dizilimi, diğer protein ve peptidler gibi, hücre çekirdeğindeki DNA'da kodlanmıştı. Hücrenin beyni olan DNA'nın, üretilen proteincele ilişkin bilgiyi hücrenin ilgili bölgelerine iletmece yar-

dımcıları vardır. Yardımcılarından biri olan elçi RNA (mRNA) peptidin dizilimine ait şifreyi içeren DNA bölgesinin kopyasıdır; şifreyi çekirdektekenden proteincele üretilen ribozoma götürür. Şifre, ribozomal RNA (rRNA)'ya bağlandıktan sonra, işe ribozomdaki taşıyıcı RNA (tRNA) kaşıır. Protein sentezinin gerçekleşeceği ribozomda tRNA gibi bir çevirmene gereksinim duyulur; çünkü DNA'nın yolladığı şifrenin protein diline çevrilmesi gerekir. Şifre,  $\beta$ -defensin üretimi için protein diline çevrilmiştir artık; bir metionin, ardından arjinin, ardından valin, ardından lizin... Araştırmacıların buldukları  $\beta$ -defensin 1 ve 2 için yaklaşık 60 amino asit böylece dizilir. Şifre, protein diline çevrilmeden önce, ribozoma yoleuluğu sırasında çözümlenebilir. Hem dizilimi belirleyen DNA'nın bir kopyası da olduğundan, peptidlerin hangi DNA parçası tarafından üretildiği anlaşılabilir. Araştırmacılar, DNA'nın söz konusu kısmının EMBL/Genbank veritabanından bulunabileceğini de ekliyorlar makalelerine.

Araştırmacıların yanıtlamaları gereken bir diğer soru,  $\beta$ -defensinlerin yalnızca deride mi üretildiği sorusuydu; çünkü bu peptidlerin vücudun diğer

hBD-2	MRVLYLLPFLFTFLM-PLPG--VEGGIGDPV---	TCLKSGALCHPVSEERRYKQIGTGLPGRKCCRRK
TAP	MRLHLLLALLFLVLS-AWSG--FTQGVGNFV---	SCVANKIGICVPIKCPGSMKQIGTGVRAVCCRRK
LAP	MRLHLLLALLFLVLS-AGSG--FTQGVNSQ---	SCRNKSIGICVPIKCPGSMKQIGTGLGAQVCCRRK
hBD-1	MRTSYLLFLTCLLLSEMASGGNFTGLGHRSDHYN	CVSSGGCCLYSACPIETKIQGTICVYRKAQCKK

Antibiyotik etkisi gösterdiği saptanan insan  $\beta$ -defensin 1 ve 2 adlı proteinlerin amino asit dizilimi.  $\beta$ -defensin 1 ve 2'nin amino asit diziliminin sığırın solunum borularında (TAP) ve dilinde (LAP) üretilen antimikrobik özellikteki peptidlerle uyum gösterdiği belirlenmiş. Dizilimdeki her bir harf bir amino asiti simgeliyor: M: Metiyonin, R: Arjinin, V: Valin, L: Lösin, Y: Tirozin, F: Fenilalanin, P: Prolin, G: Glisin, I: İzolösin, D: Aspartik asit, A: Alanin, W: Triptofan, S: Serin, T: Treonin, Q: Glutamin, C: Sistein, E: Glutamik asit, N: Asparjin, H: Histidin, K: Lizin. Şekilde işaretli sistein ve glisin amino asitleri her dört peptidde de aynı yerde bulunuyor. Antibiyotik etkiden de büyük olasılıkla bu amino asitler sorumlu.

bölgelerinde de mikroorganizmalara karşı koruma sağlama olasılığı vardı. Peptidlerin vücudun hangi dokularından salgılandığını bulmak da olanaksız değildi. Peptidler kuşkusuz belli bölgelerden salgılanıyordu ve bu bölgelerde peptidin üretimi için gerekli şifreyi çekirdektekenden ribozoma taşıyan elçilere rastlanacaktı. Yani hücrelerde, bu peptidlerin üretimi için gerekli mRNA aranacaktı. Harder ve arkadaşlarının elde ettiği peptidlerden insan  $\beta$ -defensin-1, idrar

yollarının yüzey dokusunda ve daha az miktarda da dil ve akciğerlerde üretiliyor; insan kanında bu peptidi bulmak olası. İnsan  $\beta$ -defensin-2 en çok sünnet derisi, akciğerler ve solunum borusunda üretiliyor; buna karşılık böbrekler, rahim ve tükürük bezi dokularında az miktarda bulunuyor. İnce bağırsak ve karaciğer dokularından hazırlanan mRNA çözeltileri ise, buralarda insan  $\beta$ -defensin-2'nin salgılandığına ilişkin bilgi içermiyordu.

Mikroorganizmaların varlığı da bu peptidlerin salgılanmasını artırıcı bir etki. Örneğin, dokular *C. albicans* adlı bakteri ile karşılaştığında insan  $\beta$ -defensin-2 miktarı önemli ölçüde artıyor; ancak aynı şeyi insan  $\beta$ -defensin-1 için söylemek olası değil. Böylece  $\beta$ -defensin-1, mikroorganizmalarla karşılaşmaya bir yanıt olarak üretilen ilk "koruyucu" peptid olarak saptandı.

Araştırma, insan vücudunda üretilen bir protein grubuna daha ışık tuttu. Daha araştırılması gereken çok sayıda protein üretiliyor vücudumuzda. Belki birçok hastalığın tedavisi, vücudumuzda doğal olarak üretilen bu proteinler sayesinde gerçekleştirilebilecek. Belki onları ilaç olarak dışarıdan alacağız, belki de DNA'mızı hastalıkların tedavisi için yetecek düzeyde üretmek için ikna etmenin yollarını bulacağız. Bu konuda belli başlı adımlar atılmış olsa da, şu anda bütün bunlar birer tahminden başka bir şey değil.

Didem Sanyel

Konu Danışmanı: Ali Demirsoy  
Prof. Dr. H. U. Biyoloji Bölümü

Kaynaklar  
Hartler J, Bartels J, Christophers E, Schröder JM. "A peptide antibiotic from human skin." *Nature*, 26 Haziran 1997.  
Ciano H, Barzani NS. *Biology*, New York: 1989.  
Kacem WT, Gould JL, Gould CG. *Biological Sciences*, Londra: 1995.