

Meşhur İkili Sarmal İlk Defa Doğrudan Mikroskop Altında

DNA'nın meşhur sarmal şekline aşına olmayalımız azdır. Ne de olsa DNA'nın ya da genlerin sözünün geçtiği hemen hemen her yere karikatürize de olsa bir DNA sarmalı konuruluverir. Hal böyle olunca günümüzün yüksek teknoloji ürünü mikroskoplarıyla bu yaşamsal molekülün yapısının atomlarına kadar rahatça görülebildiği düşüncesine kapılmak çok kolay. Oysa çok kısa bir süre öncesine kadar DNA'nın moleküler yapısına ait ayrıntılar sadece dolaylı olarak gözlemlenebiliyordu. Yani DNA'nın meşhur sarmal yapısı moleküler düzeydeki bazı ölçümlerin analiz edilmesiyle, dolaylı olarak anlaşılmiş bir yapıydı. Ancak geçtiğimiz yılın sonunda bir grup İtalyan araştırmacı yeni bir yöntem geliştirerek DNA'nın sarmal yapısını doğrudan görüntülemeyi başardı.

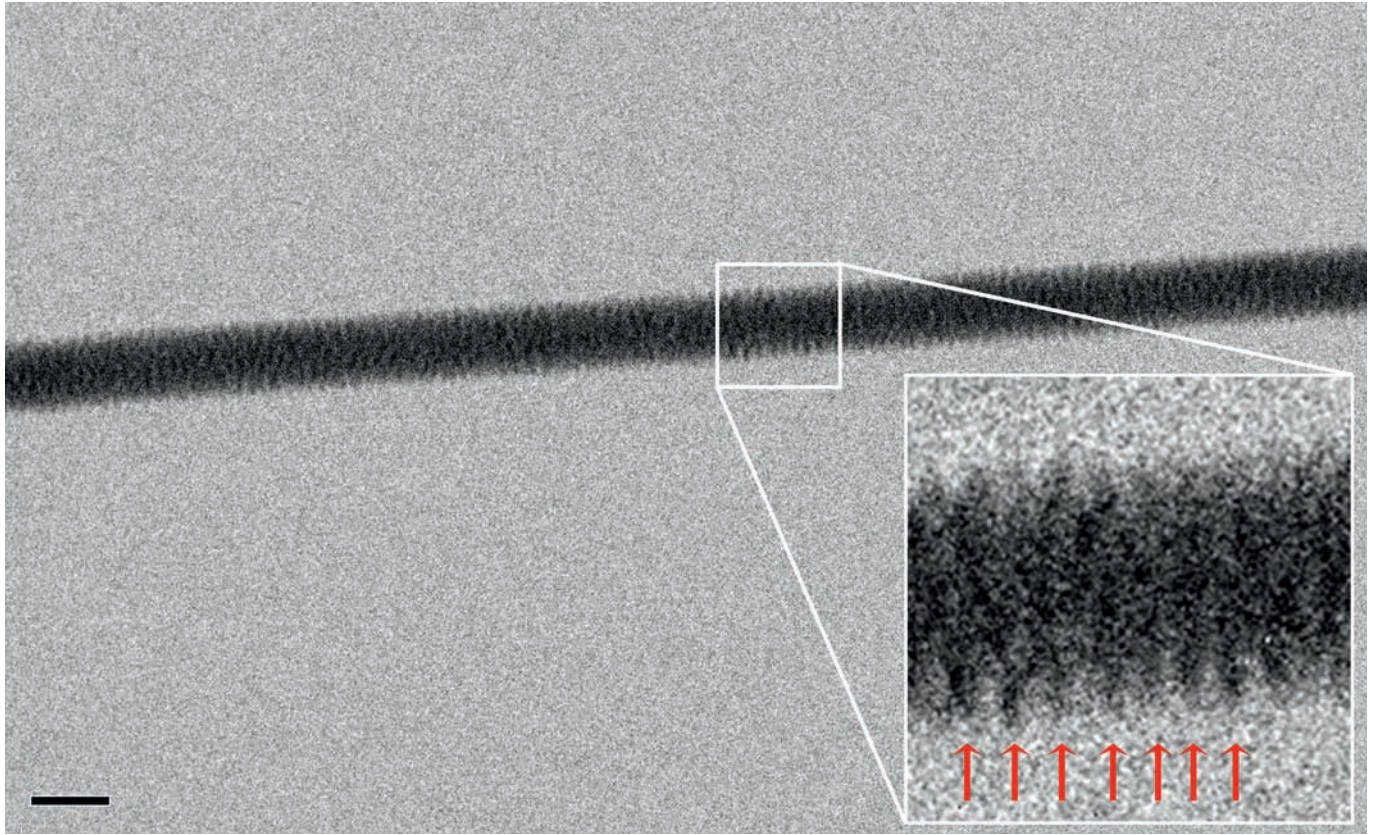
1953'te James Watson ve Francis Crick'in DNA'nın moleküler yapısını keşfetmesi yaşam bilimlerinde yeni bir çağın başlangıcı oldu. Çünkü bu bilgi aynı zamanda DNA'nın nasıl depolandığı ve kopyalandığı sorularının da cevabıydı. Böylece biyolojik süreçleri ele almanın ve yönetmenin yeni bir yolu olarak moleküler biyoloji adlı disiplin ortaya çıkmış oldu. Bu keşif sayesinde elde edilen, genleri anlama ve onlara müdahale etme gücü, bilim dünyasında hâlâ önemli sonuçlarla kendini gösteriyor.

O günden bu yana, DNA'daki genetik kodun incelenmesine ve üzerinde değişiklikler yapılmasına yönelik teknolojiler çok gelişti ve çeşitlendi. Oysa günümüze kadar DNA'nın moleküler yapısını incelemek için kullanılagelen yöntem, Watson ve Crick'in bundan tam 60 yıl önce DNA'nın yapısını çözmek için kullandığı yöntemle temelde aynıydı. X-ışını kristalografisi olarak adlandırılan bu yöntem, moleküllerin yapısı hakkında dolaylı yoldan bilgi sağlıyor. Bu yöntemde belirli bir

düzende kristalleştirilen moleküller (örneğin DNA ya da proteinler) X-ışınlarına maruz bırakılıyor. Sonuçta atomlara çarparak kırılan ışınlar, özel bir fotoğraf kâğıdında o moleküle özgü izler oluşturuyor. Bu izlerin karmaşık matematiksel yöntemlerle incelenmesiyle moleküllerin atom düzeyinde üç boyutlu yapılarının canlandırılmasına imkân veriyor. Bu yöntem büyük ölçüde örneklerin hazırlanma sürecinin optimize edilmesine ve incelenen moleküllerden yüksek kalitede kristaller oluşturulmasına dayanıyor. Fakat ne yazık ki böyle kristaller çok nadir durumlarda elde edilebiliyor. Bu yüzden de moleküllerin doğrudan incelenmesini sağlayacak alternatif yöntemler önem taşıyor.

Aslında günümüzde molekülleri atom düzeyinde çözünürlüklerle görüntüleyebilen mikroskoplar var. Geçirimli elektron mikroskobu (TEM) bunlardan biri. TEM'in çalışma prensibi temelde ışık mikroskobunununkine benziyor. Ancak TEM incelenen örnek üzerine ışık ışınları yerine elektron ışınları gönderiyor.

DNA'nın üç boyutlu yapısının anlaşılması, DNA'nın nasıl kromozomlar biçiminde yoğunlaşabildiğinin ve hangi mekanizmayla kopyalandığının çözülmesini de sağladı. DNA'ya ilişkin bu çok temel mekanizmaların anlaşılmasıysa bir paradigma kayması yaratarak yaşam bilimlerinde yepyeni bir çağın başlangıcı oldu.

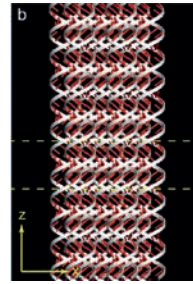


Sayfa ortasında (aşağıda) görüntüleme için hazırlanmış bir DNA molekülünün etrafına sarmal halde dolanmış altı DNA molekülünden oluşan DNA lifinin yapısını gösteren bir çizim, üstte ise bu lifin TEM ile elde edilen görüntüsü. Ayrıntıda görülen ve kırmızı oklarla belirtilen eşit aralıklı yapı, tek bir DNA molekülünde sarmal yapıdan dolayı geometrik olarak tekrarlanan desene karşılık geliyor.

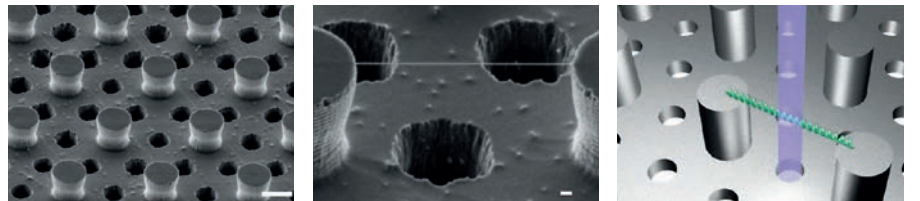
Bu ışınların dalga boyları da çok daha kısa olduğu için neredeyse atom düzeyinde bir çözünürlük elde edilmesi sağlanıyor. Ancak iş biyolojik molekülleri bu mikroskoplarla incelemeye geldiğinde elde edilen görüntünün çözünürlüğünü bozan bazı sorunlar ortaya çıkıyor. Bunlardan biri molekülü oluşturan atomların ya da atom gruplarının, molekülün üstünde durduğu maddeden daha düşük faz kontrastına sahip olması, bu durum görüntüde arka plan kirliliğine sebep oluyor. Bir diğer önemli sorunsu molekülün yüksek enerjili elektron ışınına maruz kaldığında zarar görmesi. İşte yeni bulunan yöntemde araştırmacılar bu iki sorunun üstesinden gelerek DNA moleküllerini bir TEM'le yüksek çözünürlüklü olarak ve doğrudan görüntülemeyi başardı.

Ekibin başarısı büyük ölçüde çok akılcıca tasarlanmış örnek hazırlama işlemine dayanıyor. Araştırmacılar belirli bir düzende dizilmiş nano ölçekte yastıklar içeren, aşırı derecede hidrofobik (yani suyu iten) özellikte, silikon bir yüzey oluşturdu.

Bu özellik su moleküllerinin kolayca ve hızla buharlaşmasını sağlıyor. Araştırmacılar ayrıca yüzeyde, yastıkların arasındaki boşluklarda delikler oluşturdu. Bu delikler de TEM görüntülemesi sırasında elektron ışınlarının serbestçe geçmesini sağlıyor. Araştırmacılar DNA molekülleri içeren bir çözeltiyi bu yüzeye döktükten sonra çözeltideki suyu buharlaştırarak DNA moleküllerinin yastıklar üzerinde gergin halde asılı kalmasını sağladı. Asılı haldeki DNA moleküllerinin bir kısmı da tam yastıklar arasındaki deliklerin üstünde kaldı.



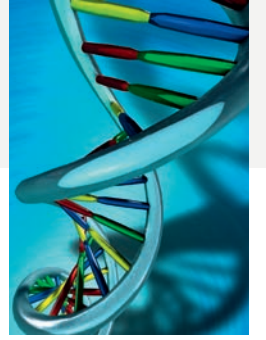
TEM görüntülemesi sırasında deliğin üstüne denk gelen DNA molekülleri, elektron ışınının altına tutularak bu moleküllerin doğrudan görüntüleri elde edilmiş oldu. Ancak şimdi bu şekilde görüntülenebilen en ince DNA örneği aslında bir DNA molekülünün etrafına sarmal halde dolanmış altı DNA molekülünden oluşan bir DNA lifi. Çünkü görüntüleme için kullanılan elektronların enerjisi tek bir DNA molekülünü kırabilecek güçte. DNA molekülleri örnek hazırlama işlemi sırasında birbirlerine sarılı bu düzeni kendiliğinden alıyor.



Nano ölçekli yastıklar içeren, aşırı derecede hidrofobik silikon yüzeyi (solda) ve nano-yastıklar arasında gerilmiş haldeki DNA lifini (ortada) gösteren taramalı elektron mikroskopu görüntüleri ile DNA molekülünün TEM'le görüntülenmesini gösteren bir çizim (sağda). Silikon yüzeydeki delikler, elektron ışınlarının yastıklar arasında asılı haldeki DNA molekülüne dik bir açıyla gelmesini sağlıyor.



Canlılarda genetik bilgiyi taşıyan biyolojik bir makromolekül olan DNA, nükleotid adı verilen yapı taşlarından oluşan bir polimer. Her bir nükleotid beş karbonlu bir şeker, şekere bağlı halde bir azotlu organik baz ve bir fosfat grubu içerir. Nükleotidler DNA molekülünde sarmal halde bulunan çift zincirleri oluşturur. Her bir zinciri oluşturan nükleotidler birbirine güçlü kovalent bağlarla, iki zincir de birbirine karşılıklı bazlar arasındaki zayıf hidrojen bağlarıyla bağlıdır. Nükleotidlerde bulunabilen dört farklı baz çeşidine göre dört çeşit nükleotid (A, T, C, G) vardır. Bunların farklı şekillerdeki dizimleri DNA'daki genetik kodu oluşturur.



Bu düzen çok muntazam olduğu için de tek bir DNA molekülünün sarmal yapısına ilişkin bazı ayrıntılar TEM görüntülerinde görülebiliyor. Örneğin DNA sarmalında geometrik olarak tekrar eden desenin TEM görüntülerinde ölçülen uzunluğunun, şimdiye kadar X-ışını kristalografisi verilerinden yola çıkılarak hesaplanan uzunlukla aynı olduğu görüldü.

Araştırmacılar daha düşük enerji seviyelerine tepki verebilen, daha hassas yeni nesil algılayıcılar ve daha gelişmiş örnek hazırlama işlemleri kullanılarak yakın bir gelecekte ikili sarmal biçimindeki tek bir DNA molekülünün, hatta ayrılmış halde tek bir DNA zincirinin görüntülenebileceğini ve böylece DNA molekülünün nükleotid ayrıntısında görüntülerinin elde edilebileceğini düşünüyor.

Watson ve Crick'i üç boyutlu DNA modeli üzerinde çalışırken gösteren meşhur fotoğraf.



DNA'yı "Görmek" Neden Bu Kadar Önemli?

DNA'nın işleyişine ilişkin bilinenlerin büyük kısmı genlerle ilgili. Genleri kodlayan kısımlar ise DNA'nın sadece %3'lük bir kısmını oluşturuyor. Gen kodlamayan %97'lik kısmın işlevleri yakın zamana kadar bir sır olarak kaldı. Ancak özellikle İnsan Genom Projesi'nin 2003'te tamamlanmasından sonra hız kazanan araştırmalar, gen kodlamayan DNA'ya dair önemli keşifler yapılmasını sağladı. Bugün, DNA molekülü ile başka moleküller (örneğin proteinler, mikro RNA'lar) arasındaki ya da molekülün farklı kısımları (örneğin gen kodlayan kısımlarla gen kodlamayan kısımlar) arasındaki doğrudan fiziksel etkileşimlerin, genlerin işleyişinin düzenlenmesinde önemli bir rol oynadığı biliniyor. DNA molekülünün yüksek çözünürlüklü olarak ve doğrudan görüntülenebilmesi işte bu doğrudan fiziksel etkileşimlerin tespit edilebilmesi için çok önemli.

Kaynaklar

- Gentile F, ve ark., "Direct Imaging of DNA Fibers: The Visage of Double Helix", Nano Letters, Cilt 12, s. 6453-6458, 2012.
- http://www.nobelprize.org/educational/medicine/dna_double_helix/readmore.html?referer=

- www.clickfind.com.au
- <http://www.nobelprize.org/educational/physics/microscopes/tem/index.html>
- <http://www.newscientist.com/article/dn22545-dna-imaged-with-electron-microscope-for-the-first-time.html>