

# GEN TRANSFERİNDE SİHIRLİ BİLEŞİKLER: PLAZMİDLER

Prof.Dr. Sabahattin ÖGÜN \*

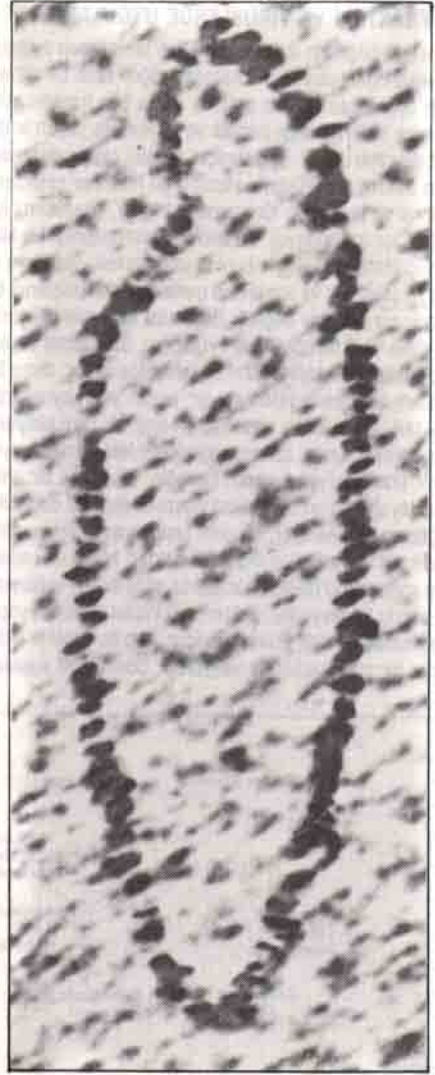
1978 yılında Bochum Üniversitesi'nde Karl Esser ve arkadaşları, doğada çok sık rastlanan belli türdeki bir mantar hücresinin (*Podospora anserina*) neden ve nasıl yaşlandığını araştırırken, hiç beklenmedik bir olayla karşılaştılar. Genç mantar hücrelerinde ortaya çıkmayan, yaşlanmaya yüz tutmuş hücrelerde saptadıkları yeni bir bileşiğin varlığı, araştırmacıları hayretler içinde bıraktı. Çünkü olay biyoteknolojide gen aşılması yönteminin daha geniş alanlarda, yeni yeni ufukların ortaya çıkmasını müjdeliyordu (Şekil1).

Üzerinde çalışılan mantar hücreleri, çekirdekli hücrelerdi (eukaryotik hücreler). Gerçi 1960'lı yılların sonlarına doğru, yine çekirdekli ve sadece bir hücreden oluşan ekmeğe mayası hücrelerinde (*Saccharomyces cerevisiae*), iki mikron büyüklüğünde benzer bir bileşiğin varlığının ortaya çıkarılması o zaman bilim dünyasında büyük bir yankı yapmıştı ama, daha sonraları benzer bileşiklere hiç bir çekirdekli hücrede rastlanmadığından, olay bir istisna olarak geçirilmişti. Ortaya çıkarılan bu yeni bileşik, PLAZMİD denilen hücredeki ana DNA'lardan kopmuş, kapalı bir şekle dönüşmüş küçük bir DNA parçacığıydı. Yani yapısında bazlar vardı (A,T,G,C). Ayrıca genetik bilgileri taşıyan genler ve parçalanmış genler mevcuttu.

\* Trakya Üniversitesi Öğretim Üyesi, TÜBİTAK VHAG Grup Yür. Kom. Üyesi.



Şekil 1. Petri kutusunda kültüre alınmış *Podospora anserina* mantar hücreleri (solda genç plazmid taşımayan, sağda yaşlı, plazmid taşıyan hücreler).



Şekil 2. Yaşlı *Podospora anserina* hücrelerinden elde edilen 2539 baz çiftinden oluşmuş kapalı şekilli plazmidin elektromikroskopdaki görünüşü.

Bu buluşla, plazmidlerin sadece çekirdeksiz hücrelere (Prokaryotik hücreler) özgü bileşikler olduğu inancı sarsılmaya başladı. Plazmidler tüm çekirdeksiz hücrelerde bulunur diye bir kural yoktu; ama genelde bakteri ve virüs hücrelerinde bu bileşiklere çok sık rastlanırdı.

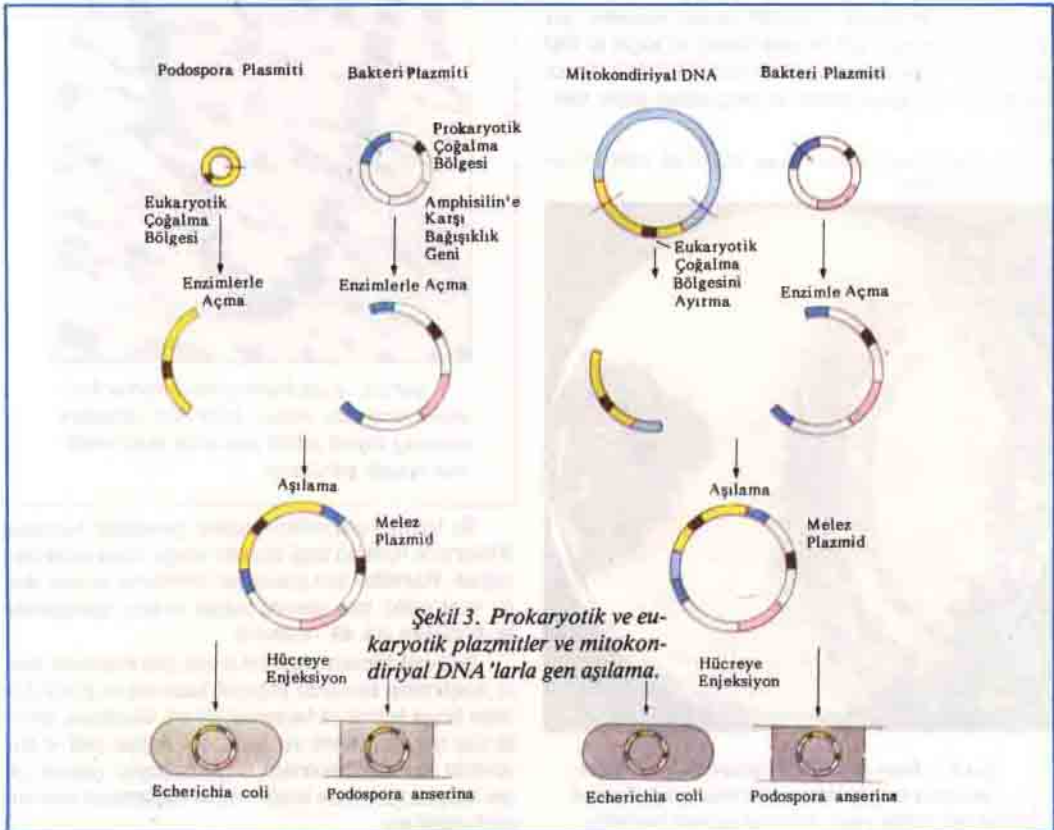
Çekirdekli hücrede plazmidin ortaya çıkarılmasından sonra, araştırmalar bu alanda yoğunluk kazanmış ve günümüze değin birçok bitkisel ve hayvansal kökenli hücrelerde, genetik bilgi taşıyan genlerin yer aldığı, çok değişik şekil ve büyüklükte plazmidler bulunmuştur. İşte bu olaylar, gelecek için gen aşılama yöntemine büyük ümitler bağlamanın nedenini oluşturmaktadır.

## İLK GEN AŞILAMA YÖNTEMİ BAKTERİ VE VİRÜSLERDE UYGULANDI

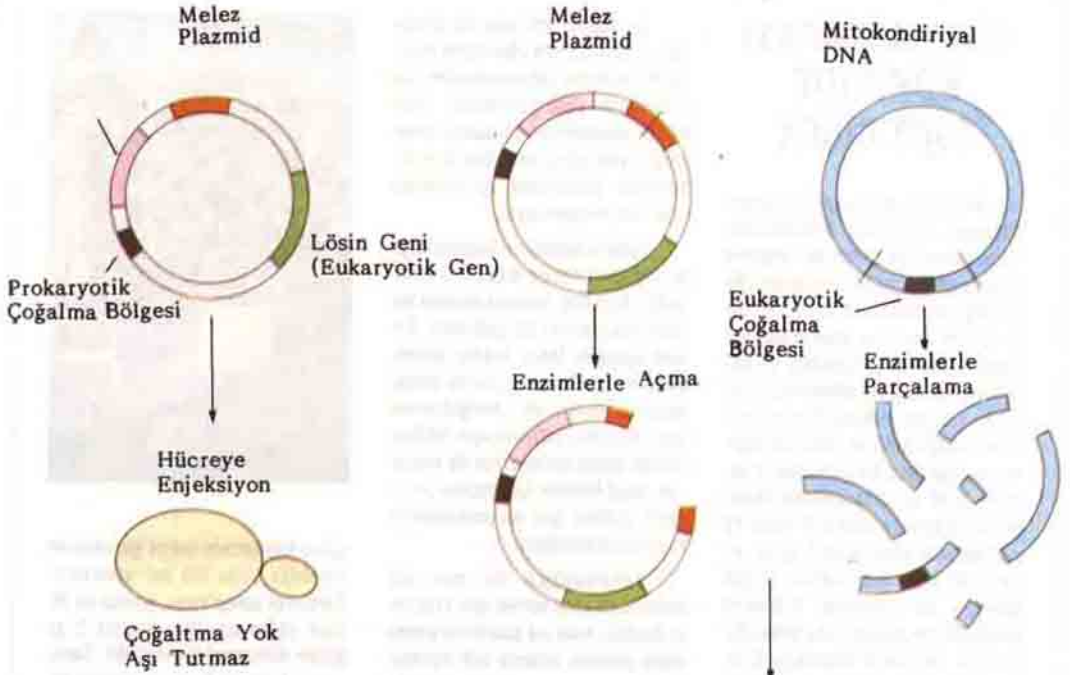
Genetik bilgilerin depolandığı DNA'ların yapısını aydınlandıktan sonra insanlığı, canlı bir sistemden diğer canlı bir sisteme genetik bilgi aktarma (gen aşılama ya da gen transfer etme) fikrini iyice benimsemeye başladı ve bu konuda yoğun araştırmaları devreye soktu. Başlangıçta bu gibi çalışmalar, sadece bazı bakteri ve virüslerle yapıldı. Bu hücreler çekirdeksiz hücrelerdi ve taşıdıkları tüm genetik bilgiler, sitoplazma içindeki DNA'lar üzerindeydi. Bu DNA'lar kromozomal bir kılıfla kaplı değillerdi, dolayısıyla bunları izole etmek, yapılarını öğrenmeye çalışmak ve içerdikleri genlerin bazı dizilişlerini bulmak çok zor bir olay değildi. Bütün bu işler için geliştirilen çok pahalı yeni teknolojilerle insanlığı, bir bakteri veya virüs hücresinden istediği plazmizi rahatlıkla alıyor, bunu belli enzimlerle belli yerlerinden açıyor; açılan yere, aynı türdeki bir bakteri hücresinden alınmış herhangi bir geni ekliyordu. Gen aşılması, çoğu zaman değişik türdeki bakteriler veya virüsler arasında yapılıyordu. Örneğin, herhangi bir antibiyotige dayanıklı olan bir bakteri hücresinden, bu dayanıklılığı sağlayan gen alınıyor, bu geni taşımayan; yani bu antibiyotige karşı duyarlı olan diğer bir bakteri hücresine aşılanıyor ve sonuçta bu bakteri hücresi de sözü edilen antibiyotige karşı direnç kazanıyordu. Bakteri ve virüsler arasında yapılan gen aşılması ile elde edilen sonuçlar, hep bu örnekte olduğu gibi dar bir alan içerisinde kalıyordu. Sonuçların uygulama

alanında ekonomik olma açısından büyük bir önemi yoktu; çalışmalar salt temel bilim araştırmaları niteliğindeydi. Buna rağmen elde edilen sonuçlar biraz da abartılarak, uygulayıcılar tarafından sermaye olarak değerlendirildi ve ticari alanda çok sayıda gen firmaları ortaya çıktı. Aslında bu aşamada gen aşılması ile elde edilen sonuçlar, çok daha ucuz, klasik genetik yöntemler ile elde edilebilirdi. Her halde, biyoteknoloji kavramına duyulan ürkütücü hayranlık duyguların, ticari alanda biraz istismar ediliyordu. Ama bilimsel çalışmaların yoğunluğu da, biyoteknolojinin gelecek günlerinin çok değişik sürprizlerle dolu olacağına dair bazı önemli sonuçlar veriyordu.

Çekirdekli hücrelerin genetik bilgileri, DNA'lar üzerindeki genlerde depolanmıştır. Bu durum, aynen çekirdeksiz hücrelerdeki gibidir. Başlangıçta, tüm DNA'ların hücre çekirdeği içerisinde bloke edildiği fikri vardı. Çekirdekli DNA'lar ince bir protein tabakası ile sarılı olduğundan, bunlara ulaşmak, gen aşılama yöntemini uygulamak mümkün değildi. Bu nedenle, tüm çalışmalar çıplak bakteri ve virüs DNA'ları ile yürütüldü. Ancak moleküler biyoloji alanında yeni yeni bilgiler ortaya çıkınca, çekirdekli hücrelerin mitokondri adı verilen hücre organellerinin de kendine özgü DNA'lara sahip olduğu; hatta bu DNA'lardaki bilgileri değerlendirip kendine özgü proteinleri sentezleyen özel ribozomları yapısında taşıdığı ortaya çıktı. Sonuçta, çekirdekli hücrelerin mitokondri ile bakteri hücrelerinin büyük bir benzerlik içinde olduğu anlaşıldı.







Şekil 4. Mitokondriyal DNA ve melez plazmitlerle gen aşılama.

Birçok araştırmacı eskiden beri bu görüşü bir teori olarak ileri sürer ve mitokondri organellerinin, çekirdekli hücrelerin evrimleşmesi aşamasında hücreye girip, orada yerleşen bakteriler tarafından oluşturulduğunu söylerdi. Bugünkü bilgilere göre, bakteri hücresi ile mitokondri organellerinin biyokimyasal ve fizyolojik işlevleri bakımından birbirine çok benzemesi, bu teoriyi doğrulamaktadır.

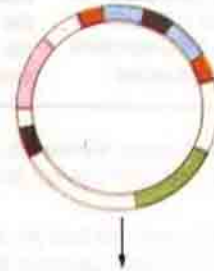
### ÇEKİRDEKLİ HÜCRELERLE ÇEKİRDEKSİZ HÜCRELER ARASI GEN AŞILAMA

Mitokondrielerin yapısında da kendine özgü DNA ve değişik şekil ve büyüklüklerde ortaya çıkan plazmidlerin bulunmasıyla, gen aşılama yöntemi daha geniş bir uygulama alanı buldu. Ancak burada araştırmacıların karşısına çıkan sorunlar, pek de öyle kolayca üstesinden gelinecek boyutlarda değildi.

Örneğin çekirdekli bir hücreden alınan plazmid çekirdeksiz hücre içine sokulduğunda, konuk plazmidin ev sahibi hücre içinde fizyolojik etkisini gösteremediği görüldü. Ancak daha sonra aynı plazmid bir bakteri plazmitine aşılandığında (başka bir deyişle, bir bakteri plazmiti taşıyıcı olarak kullanıldığında) oluşan bu melez plazmidin hem çekirdeksiz bakteri hücresinde (*E.Coli*) hem de çekirdekli mantar hücrelerinde (*Podospora anserina*) çoğalma yeteneğine kavuştuğunu ve fizyolojik etkinliklerini gösterdiğini görürüz (Şekil 3).

Demek ki; çekirdekli bir hücreden alınan herhangi bir gen, yalnız başına çekirdeksiz bir hücrenin plazmitine aşılanıp bakteri hücresine sokulduğunda, hücre bu aşığı kabul etmemek-

Aşılama



*Saccharomyces cerevisiae*



Aşı Tuttu Çoğalma Başladı

tedir. Hücrenin aşığı kabul etmesi için, aşılanacak genle birlikte, o genin alındığı plazmitin kendine özgü çoğalma bölgesini de birlikte eklemek gerekir. Kısaca, değişik türdeki hücreler arası başarılı bir gen aşısının yapılabilmesi için, çoğalma bölgelerinin de birlikte olması zorunludur (siyah renkli bölgeler).

Çoğalma bölgeleri plazmidler içinde bulunabildiği gibi, mitokondriyal DNA'lar içinde de bulunur. Eğer biz bu DNA'ların çoğalma bölgelerinin nerelerde yer aldığını bilirsek, oradan çıkartılan bu parçayı, eklemek istediğimiz genle birlikte yine kendi hücresine verdiğimizde, bu aşı tutmuş olur. Yapısında hem mitokondriyal çoğalma bölgesi, hem de bakteri çoğalma bölgesi bulunan melez plazmidler, kendisine ek-

## BİR KASIMPATI KÖKÜNDE 1500 ÇİÇEK

Bu, bilim kurgusal bir tasarı olmayıp, kimyanın bahçecilikte kullanımının ve azıcık da sevginin sonucu gerçekleşen bir olaydır. Bu gerçeği bahçıvan ve aynı zamanda gübre üreticisi olan François Santini, özenle geliştirdiği üç yeni dünya rekoru ile göstermiştir: 14 aylık, 2,53 m yükseklikte ve çevre uzunluğu 5,65 m olan top biçimindeki sevimli bir sardunya; 7 aylık ve 2,40 m yükseklikteki ikinci bir sardunya ve son 2,5 ayda 12 cm uzamış olan, yine 7 aylık, yine 2,40 m yükseklikteki büyük yapraklı bir begonya. F.Santini kendi deney seralarında yüksekliği 4 m ve çevre uzunluğu 6 m olan küpe çiçekleri ile, bir kökte bin çiçeği bulunan kasımpatılar (ilk rekor, 1028 çiçekle kırılmıştı. Yeni yetişenler ise, 1500 tomurcuk taşıyorlar) da yetiştirmiştir.

Bu süper bitkilerin ilk örnekleri, F.Santini'nin yöneticisi olduğu Algochimie laboratuvarlarında hazırlanan yeni gübrelerin, yeni böcek zehirlerinin ve asalak mantarları yok edici yeni ilaçların etkinliğini göstermek ve sınamak için kullanılmaktadır.

Bahçecilikteki bu başarının gizi, algoflaş denen kimyasal maddedir. Algoflaş, sulama suyuna karıştırılabilen sıvı bir gübredir. Temel öğelerle (azot, fosfor, potasyum) ve yardımcı öğelerle (magnezyum, demir, vb.) dengelenmiş olan bileşimli, bitkinin aynı bölümlerinin gereksinimlerine de uyularak, yeşil bitkiler için azotça ve çiçekli bitkiler için de potasyumca zenginleştirilmiştir.

Bahçıvanlığın bir numaralı formülünü elde etmek için François Santini, kısa kış günlerini yapay olara uzatma yoluyla ışık oyunlarına başvurmuş, bitkilerini başka saksıya (köklerinin sıkışık olmasından hoşlanan sardunyayı çok büyük olmayan bir saksıya) aktarmış, onlara daha çok sevgi göstermiş ve



güzel bitkilerinin çokça gereksinim duyduğu suyu bol bol vermiştir. Sardunya şamplyonu, günde on litreye yakın su (litre başına 2 gr gübre eklenmiş) içmektedir. Şamplyon kasımpatının su gereksinimi ise, günde 12-15 litredir.

Science et Vie'den  
Çev.: Dr. Hanaslı GÜR

lenen genlerin etkisini hem bakteri hücrelerinde (*E.coli*), hem de mantar hücrelerinde (*Podospora anserina*) gösterirler (Şekil 3 sağ).

Günümüzde, mitokondriyal DNA'ların gen taşıyıcısı olarak kullanılmasını amaçlayan yoğun çalışmalar sürdürülmektedir. Bir başka örnek Şekil 4'de gösterilmiştir. Bu örnekte bir bakteri plazmiti (Prokaryotik) değişik enzimlerle açılarak, yapısına yeşil renkteki çekirdekli başka bir hücreden alınan melez (eukaryotik) lósini aminoasitini yapan gen eklenmiştir. Bu melez plazmitte siyah renkli bölge, prokaryotik hücreye özgü çoğalma emrini veren bölgedir. Melez plazmitte, aşılama geninin alındığı eukaryotik çoğalma bölgesi olmadığından, bu melez plazmitin diğer bir eukaryotik hücreye (*Saccharomyces cerevisiae*) enjekte edilmesi başarısız kalır. Çünkü enjekte edilen melez plazmid çoğalma yeteneğine sahip değildir. Eğer biz aynı melez plazmiti özel enzimlerle bir yerinden açıp, açık kalan kısma lósini aminoasitini yapan geni aldığımız mitokondriyal DNA'nın çoğalma bölgesini de ekleyebilirsek (Şekil 4'de, sağda mavi içinde siyah bölge), oluşan iki çoğalma bölgesi melez plazmitin *Saccharomyces cerevisiae* hücrelerinde tutunduğunu ve çoğaldığını görürüz (Şekil 4, sağ). Bu, aşılama öncesi lósini aminoasitini sentezleyemeyen, başka bir deyişle lósini aminoasitinin bulunmadığı bir ortamda yaşayamayan bu hücrenin (*Saccharomyces cerevisiae*) aşılandıktan sonra lósini aminoasiti bulunmayan kültür ortamında da yaşayabileceği demektir.

Sonuç olarak moleküler biyoloji alanında çekirdekli hücrelerin mitokondriyeleri içinde kendilerine özgü DNA'ların bulunması ve zamanla bu DNA'lardan kopan plazmitlerin ortaya çıkması, gen aşılama yönteminin çok geniş alanda kullanılabilirliğini prensip olarak göstermektedir. Ancak henüz bilinmeyen sayısız sorun ortada durmaktadır. Bunlar zamanla gün ışığına çıktıkça, bugün teorik olarak düşündüğümüz, ekonomik yönü çok güçlü olan yeni yeni kombinasyonların ortaya çıkacağına mutlak gözüyle bakabiliriz. Örnek olarak, eğer bilim adamları ağaç olma özelliğini taşıyan genleri çoğalma bölgeleri ile birlikte domates hücrelerine aşılayabilirlerse, ağaçta yetişen domateslerin ortaya çıkması neden olmasın? Ancak tüm bilgilerin en ince ayrıntılarına kadar elde edilemesi gerekir ki, bu da bir zaman sorunudur.

• Tuzun yüksek tansiyonla ilişkisi yeniden gözden geçirilmektedir. Yüksek tansiyonu olan 60 milyon Amerikalı'nın yalnızca üçte birinin tuzla karşı duyarlı olduğu saptanmıştır. Bunun yanı sıra, Oregon Sağlık Bilimleri Üniversitesi'nde 10.372 kişi üzerinde yapılan bir araştırmayla, düşük kalsiyum almanın çoğu kez yüksek tansiyonla yakından ilgili olduğu saptanmıştır. 8 hafta boyunca günde 1 gram fazla kalsiyum alan 48 kişiden 27'sinin tansiyonlarının düştüğü gözlemlenmiştir.