

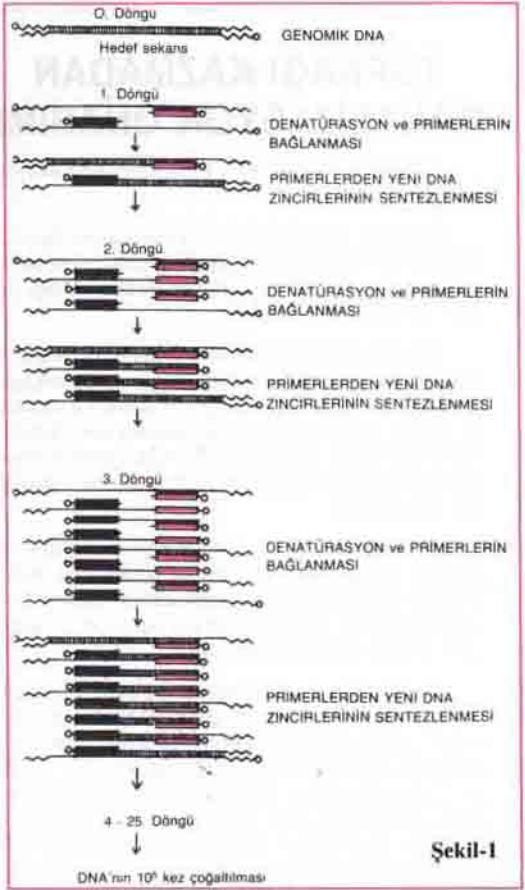
GEN AMPLİFİKASYONU

Engin YILMAZ*

İçinde bulunduğumuz 20. yüzyılda biyoteknoloji alanında oldukça büyük gelişmeler kaydedilmiş ve önemli buluşlar gerçekleştirilmiştir. Tıbbi araştırmalar da bu gelişmelere ayak uydurarak eskiden klasik biyokimyasal testlerle tanı ancak 10-15 günde konulan birçok hastalığın teşhisi, inceleyeceğimiz gen amplifikasyon tekniği veya diğer adı ile Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) ile 24 saate indirilmiştir. Gen amplifikasyonu DNA replikasyon mekanizmasının in vitro şartlarda enzimatik reaksiyonlar ile birçok kez tekrar esasına dayanır. Tek kopya halindeki DNA molekülünün belirli bölgelerinin spesifik amplifikasyonunu sağlamak ve pikogram düzeydeki örneklerle çalışabilmesi nedeniyle birçok alandaki araştırmaları daha hassas ve güvenilir hale getirmiştir. Polimeraz zincir reaksiyonu bir döngü dediğimiz üç kademedен oluşmaktadır.

- Çift iplikli DNA molekülünün denatürasyonu
- Primerlerin DNA molekülüne bağlanması
- Yeni DNA zincirlerinin sentezi

Bu üçlü döngü arka arkaya 25-30 kez tekrar edilerek özgül DNA bölgesi 1×10^5 kez çoğaltılmış olur (Şekil 1). Bu teknik ile DNA üzerinde istediğimiz bölgenin amplifikasyonunu sağlamak için primer dediğimiz, amplifiye olacak DNA zincirlerinin uç bölgesindeki sekanslara özgül olarak hazırlanmış 18-22 baz uzunluğundaki diziler kullanılır. Bu primerler, kalıp DNA'nın karşısına sentezlenecek yeni DNA zinciri için serbest uçlar (3' OH uçları) sağlarlar. Amplifikasyon sırasında primerlerle birlikte yine DNA zincirinin sentezi için *E.coli* DNA polimeraz I Klenow ve ya ısıya dayanıklı Taq DNA polimeraz enzimi kullanılmaktadır. Gen amplifikasyonu tekniğinde DNA'nın denatürasyonu, özgül primerlerin kalıp DNA'ya bağlanması ve bu primerlerden yeni DNA zincirinin sentezi için gerekli reaksiyonlar farklı sıcaklık derecelerinde gerçekleşmektedir. Bu farklı sıcaklık dereceleri özel bir alet olan 'DNA Thermal Cycler' ile otomatik olarak sağlandığı gibi, bizim gibi gelişmekte olan ülkeler için oldukça pahalı olan bu aletin yerine belli sıcaklık derecelerine ayarlanmış üç ayrı su banyosunun yan yana getirilmesi ile de sağlanabilmektedir (Şekil 1). Polimeraz zincir reaksiyonu tekniği, birçok kalıtsal hastalık için popülasyonda taşıyıcıların saptanmasında, doğum öncesi tanının konulmasında mutasyonların saptanması ve gen haritalaması gibi genetik araştırmalarda; klinik laboratuvarında, tüberküloza neden olan bakteri



Şekil-1

genomlarının saptanması ve serum örneklerinde hepatit B virüsünün belirlenmesi gibi enfeksiyon hastalıklarının teşhisinde; onkolojide, kanser oligularının belirlenmesi ve AIDS'e neden olan retrovirüslerin saptanabilmesinde; bir saç kökü hücresindeki DNA'nın amplifikasyonu ile suçluların yakalanabilmesi için adli tıp gibi birkaç alanda kullanılabilmektedir.

Bu yeni teknik ile genetik alanda birçok kalıtsal hastalığın moleküler temeli araştırılabildiği gibi aynı zamanda birçok damla kan veya birkaç doku hücresinden elde edilen DNA yeterli olmaktadır. DNA'nın amplifiye edilmesinden sonra, talasemi (Akdeniz anemisi) de olduğu gibi hastalığa neden olan mutasyonlara ASO (Alel Spesifik Oligonükleotid) ile gösterildiği gibi, amplifiye olan DNA zinciri içerisindeki kesim bölgesi bulunan özgül restriksiyon enzimleri ile kesilerek DNA zincirlerinin büyüklüğüne göre bir haplotip analizi yapılabilmektedir.

Tüm bunlara ek olarak yurdumuzda oldukça fazla olan akraba evliliği sonucu ortaya çıkan kalıtsal hastalık taşıyıcıları ve hasta çocuk oranını düşürmek amacıyla, bu teknik doğum öncesi tanı için uzmanlara ve aileye zaman açısından bir avantaj sağlamaktadır. Taşıyıcı olduğu saptanan bir annenin hamileliği sırasında kadın doğum uzmanları tarafından alınan,

* Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı.

TOPRAĞI KAZMADAN KANALİZASYON ONARIMI

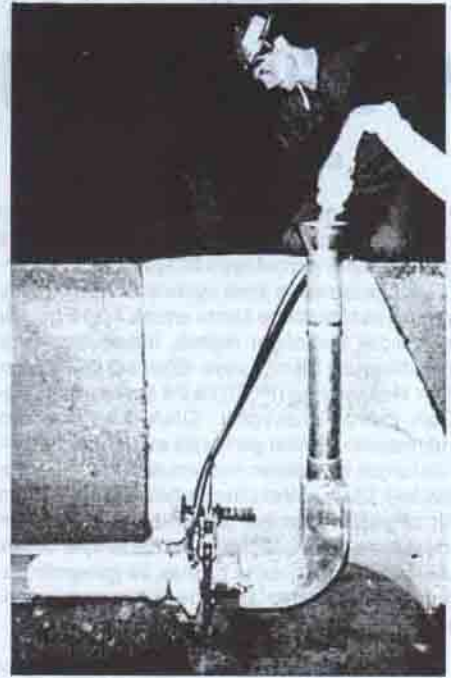
Yıpranmış atık su boruları iç kısımlarından yenileniyor:

Zamanın yaptığı tahribat, kanalizasyonlarımızı kullanılmaz hale getiriyor. Çoğu şehirlerdeki kanalizasyonların ise, çok eski dönemlerden kaldığı bilinen bir gerçek.

285 km uzunluğunda atık su boru şebekesinin yaklaşık 50 km'sinin çürüdüğünü ve acilen değiştirilmesi gerektiğini düşünelim. Uzmanlar bu durumda tahmini maliyeti şu şekilde hesapladılar: Toplam 100 milyar Mark ve bunun 75 milyar markı sadece boruları meydana çıkarmak için yapılacak çalışmalara harcanacak.

Bu durumda Alman Kimya Holdingi harekete geçerek, araştırmalarıyla olayı çözümlemişler. Araştırmaları sonunda pahalı ve çok zaman isteyen toprağın kazılması işlemini ortadan kaldıran bir alternatif onarım sistemi bulmuşlar.

Cam elyaf hortum, tahrip olmuş atık su borusunun içine sokularak bir ucu dışarıda bırakılıyor. Borunun içindeki ucu kapalı hortuma basınçlı hava verildiğinde kendiliğinden uzuyor ve borunun iç yüzünü kaplıyor. Daha sonra ultraviyole ışınları gönderilmek suretiyle boru içine kaplanan hortumdaki polyster gözeneklerin sertleştirilmesi sağlanıyor. Bu işlemden sonra bir kesici robot, boru içine gönderilerek, içerideki ucu kapalı olan hortumun açılması sağlanıyor. Aynı zamanda robot, yan kanalların girişlerini, evlerden gelen tıkanmış borulardaki atıkla-



Caddeleri kazmadan yapılan kanal çalışmaları: Hortum, huni yardımıyla atık su borusunun içine sokuluyor. Basınçlı hava onu istenildiği yere kadar itiyor. Böylece atık su borusuna içten yeni bir kaplama yapılmış oluyor.

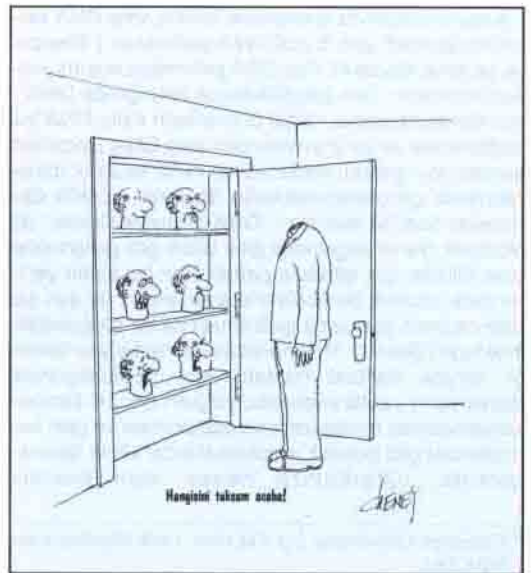
rı parçalıyor ve silip süpürerek işlemi tamamlıyor.

P.M.den çev.: İdris ÖZYILDIRIM



fetusa ait birkaç hücreden elde edilen DNA'nın polimeraz zincir reaksiyonu tekniği ile incelenmesi sonucu, çok erken dönemde fetusun bu kalıtsal hastalığı taşıyıp taşımadığı saptanabilmektedir. □

** Amplifikasyon: Büyütme, genişletme. Mikroskopta görüş alanının genişlemesi.



İLÂÇ ENDÜSTRİSİNDE “BİYOREAKTÖR” HAYVANLAR

İlaç ve yararlı proteinler elde etmek için, genetik mühendisleri tarafından geliştirilen hayvanlar, yeni bir endüstrinin fabrikaları olmaya aday gibiler.

Dünyadaki araştırmacıların hemen hepsi, çok gerekli olan kimyasal maddeleri yeterli miktarda üretebilecek hayvanlar yetiştirmeyi istiyorlar. Massachusetts’de bir şirket (Transgenic Sciences), sütünde 0.5 gr/l kadar insan büyüme hormonu üreten bir fare türü yetiştirdiklerini bildirdi. Şirket ayrıca, Massachusetts Üniversitesi’ndeki araştırmacılarla işbirliği sonucu geliştirdikleri bu yeni fare türünde hiçbir yan etki görülmediğini bildirdiler. Şirketin bilim adamları şimdi de kullandıkları tekniği geliştirmeyi amaçladıklarını ve bu tekniği tavşanlar üzerine uygulamayı ve onları “Ticarî Biyoreaktörler” olarak geliştirmeyi amaçladıklarını söylediler. Şirket, üç yıl içerisinde bugün kullanılan bakteri kültürü tekniğinin 1/3’ü maliyetinde, insan büyüme hormonu üretebilen tavşanlar yetiştirebilecek düzeye geleceğini tahmin ediyor.

Hayvan Fizyolojisi ve Genetiği Araştırma Enstitüsü’nde, bu alanda çalışan bir araştırmacı olan John Clark ise, genetik olarak işlenmiş “biyoreaktör” koyunlar üzerinde çalışıyor. Bir süre önce Clark’ın çalıştığı enstitü, akciğer hastalıklarında kullanılan bir kimyasal olan antitripsini kodlayan DNA fragmenti enjekte edilmiş bir embriyodan yetişen bir kuzu test ettiler. Sonuçta antitripsin geninin kuzunun genetik materyaliyle mükemmel bir şekilde kaynaşmış olduğunu gördüler. Kuzu süt vermeye başladığında, sütünden yararlı maddeler üretilecek. Şirket bu yararlı maddelerin, ticarî olacak kadar yeterli miktarda üretileceğinden ve ilk ilacı 1995 yılında piyasaya süreceklerinden emin.

Araştırmacılar, aynı DNA kombinasyonunu veya genetik fragmentleri bir farenin embriyosuna enjekte ettiklerinde doğan fareden, cesaretlendirici bir şekilde, 1 litrede 8 gram gibi yüksek bir miktar elde ettiklerini gördüler. Bu Clark’ın enstitüsünde-



Genetik mühendisliğin ürettiği fareler şimdi ilaç üretiyorlar.

kinden 1000 kat daha fazlaydı. Bilim adamları bunun sebebinin, farelerin genetik materyallerinde intron adı verilen ve DNA’da bulunan extra yapıların olduğuna inanıyorlar. Bu yapıların çok az bir farklılığa sebep olacağı düşünülmüştü. Ama şimdi bu büyük farkın, sadece intron yapılarından dolayı meydana geldiği düşünülüyor. Diğer bazı araştırmacılar da insülin, doku pıhtılaşma faktörü (yaralarda kanın pıhtılaşmasını sağlayan madde) ve faktör IX (bazı hemofili türlerinde eksik olan madde) üretiminden sorumlu genleri fare, koyun ve domuzlara enjekte ettiler. Ama birçok defasında, elde edilen miktar ticarî olarak üretim için yeterli değildi.

Transgenic Sciences’teki bilim adamları, insan büyüme hormonunu kodlayan genin, döllenmiş fare embriyonunun genetik materyali üzerine enjeksiyonu sağlayan, yeni standard bir biyoteknoloji tekniği kullandılar. Mikroenjeksiyon olarak bilinen bu teknikte, yabancı geni embriyoya enjekte amacıyla, çok ince bir iğne kullanılır. Araştırmacılar, değiştirilmiş embriyoyu dişi fareye yerleştirdiler. Bu embriyolar doğduğunda ve büyüdüklerinde, kendi nesillerinin sürmesi için eşleşecekler. Ve yavrularını beslemek için süt salgıladıklarında, sütlerinde hormon da salgılayacaklar.

New Scientist’ten çev.:
Nurullah OKUMUŞ

SİZ OLSAYDINIZ

(Satranç Dünyası’nın çözümleri)

Çözüm I: 1...Fh6! kazanır çünkü 2. Vxh6 Fe4 var (Aurell-Westin, Stockholm 1986).

Çözüm II: 1.Kxe6! Axe6 2.Ve3 Ke8 3.Ad4 Fe5

4.Axe6 Fxb2 5.Ad8! Kxd8 6.Fxf7 7.h4 kazanır (Martinov-Sorokin, Sothi 1986).

Çözüm III: 1. f5! 2. Şg3 Fxe4 3. Fg2? (3.hxg6 exf3 4. Af2 Şg6 ya da 4. Fd3 Fe5 5. Şh4 Kh8 6. Ag5 Ff6 7. Khg Şg7) 3...gxh5 4. f4 Kg8 5. Ag5 h4 6. Şhx4 Ff2 mat (Gil-Howell, Gausdal 1986).