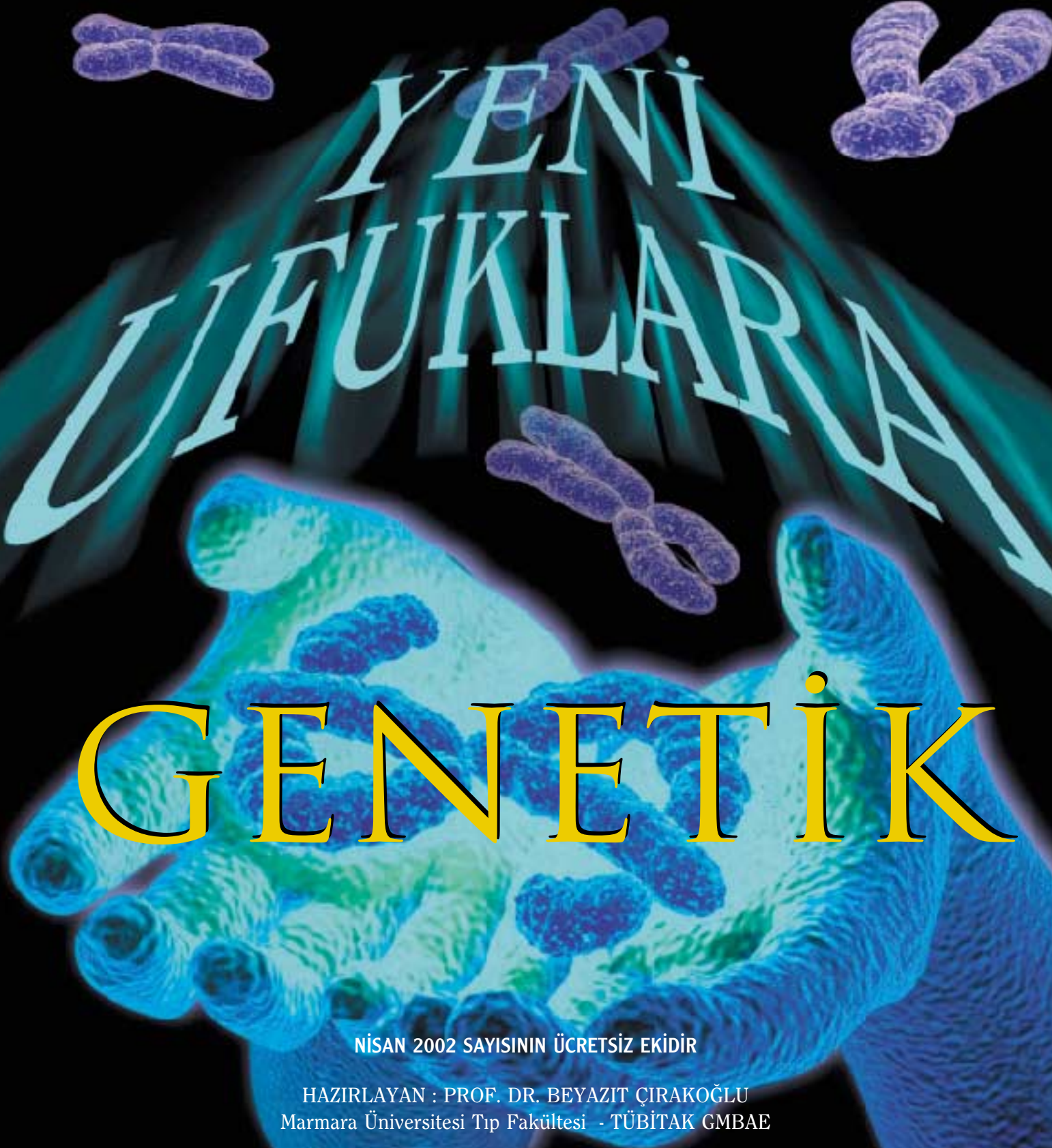


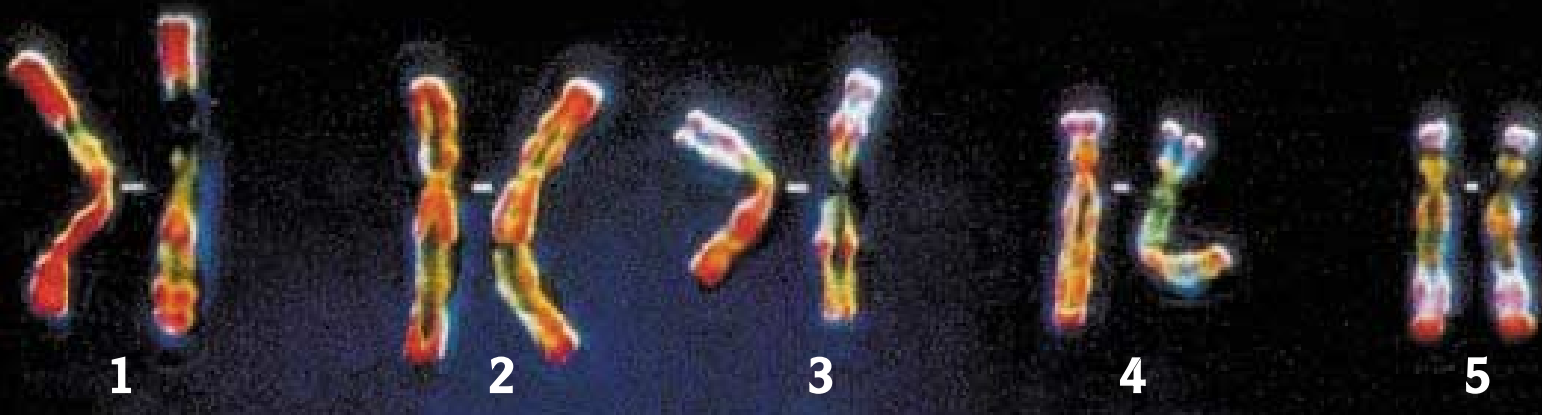
AYLIK POPÜLER BİLİM DERGİSİ

# BİLİM ve TEKNİK



NİSAN 2002 SAYISININ ÜCRETSİZ EKİDİR

HAZIRLAYAN : PROF. DR. BEYAZIT ÇIRAKOĞLU  
Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi - TÜBİTAK GMBAE



# GENETİK

21. YÜZYILIN dönemecine girdiğimiz bugünlerde bazı iletişim organlarında yer aldığı biçimde, bütün zamanların en önemli bilimsel devrimini mi yaşıyoruz? 19. yüzyılda bir manastırın bahçesinde bezelyelerle yaptığı çalışmaları sabırla yürüten Gregor Mendel, bulgularını içeren ve uzun bir süre hiç ilgi görmeyen makalesinin, yüz elli yıl sonra dünyada ilgi odağı olan bilim dallarından biri olan genetiğin temel taşlarından birini oluşturacağını düşünebilir miydi?

Çağdaş ve çağın ötesine uzanan genetik bilimi ve gen teknolojisi, informatik, astrofizik gibi diğer bilimlerle birlikte geleceğin anahtarlarından biri olarak kabul edilmekte. Yukarıda da belirtildiği gibi, genetik çok yeni bir bilim değil; ancak, 1950'li yıllarda DNA molekülünün yapısının aydınlatılmasıyla başlayan moleküler biyoloji ve

genetik çağında, yaşamın moleküler temelini anlaşılması için yürütülen araştırmaların sayısı hızla arttı ve bu ivme giderek de artmakta.

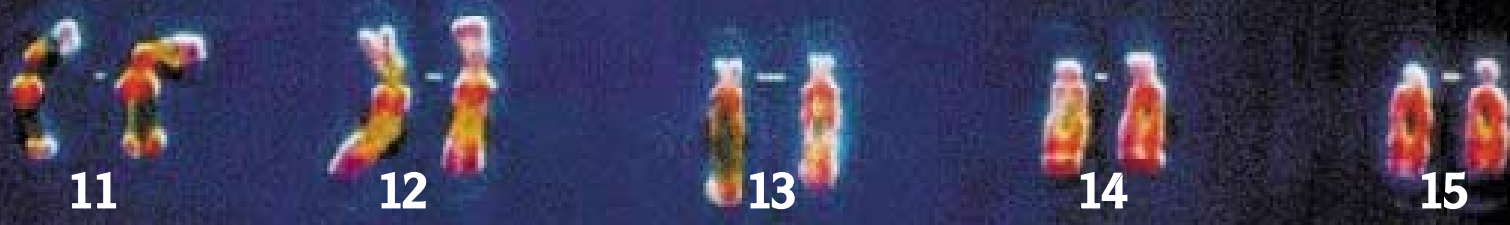
Genetik, 10 yıl kadar önce başlatılan İnsan Genomu Projesi'yle, günümüzde dünyanın izlediği, ara sonuçların bile günlük basın organlarında yer aldığı, toplumun değişik kesimlerinde farklı açılardan tartışılan, en popüler bilim dallarından biri haline geldi.

İnsan Genomu Projesi, başlığından çok ötede bitki, hayvan, mikroorganizma gibi diğer canlıların da yaşam şifresini çözmeyi hedefleyen kapsamıyla, elde edilen sonuçların tetiklediği, yeni açılımlarla, yarattığı beklentiler ve soru işaretleriyle insanları hem heyecanlandıran, hem de bazı endişelere sürükleyen bir niteliğe sahip. Bunun nedenlerinin başında, genetik araştırmalarının hızının toplu-

mun izlemekte ve anlamakta zorlanacağı bir düzeye erişmiş olması geliyor.

Var olan ilgiye karşın genetiğe bu tereddütlü yaklaşıma, toplumun büyük kesiminin genetik araştırmalar hakkında sadece günlük basındaki (ve kısmen sansasyonel) haberler aracılığıyla bilgi sahibi olması yol açıyor. Bu noktada da, popüler bilim dergilerinin bilimle toplum arasında ilişki kurma görevlerinin önemi bir kez daha ortaya çıkmakta.

Günümüzde baş döndürücü bir hızla ilerleyen genetik-moleküler biyoloji araştırmalarının sonuçlarının, yakın gelecekte sadece tıp, biyoloji, biyoteknoloji gibi alanlarda değil, tarih, sosyoloji, antropoloji gibi alanlarda da bazı bilgilerimizi yenileriyle değiştirmemize yol açacağı düşünülmekte. Gen teknolojilerinin tıp, çevre, biyoteknoloji araştırmacılarının yanısıra



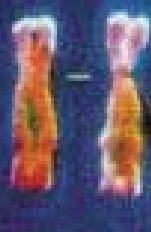




6



7



8



9



10

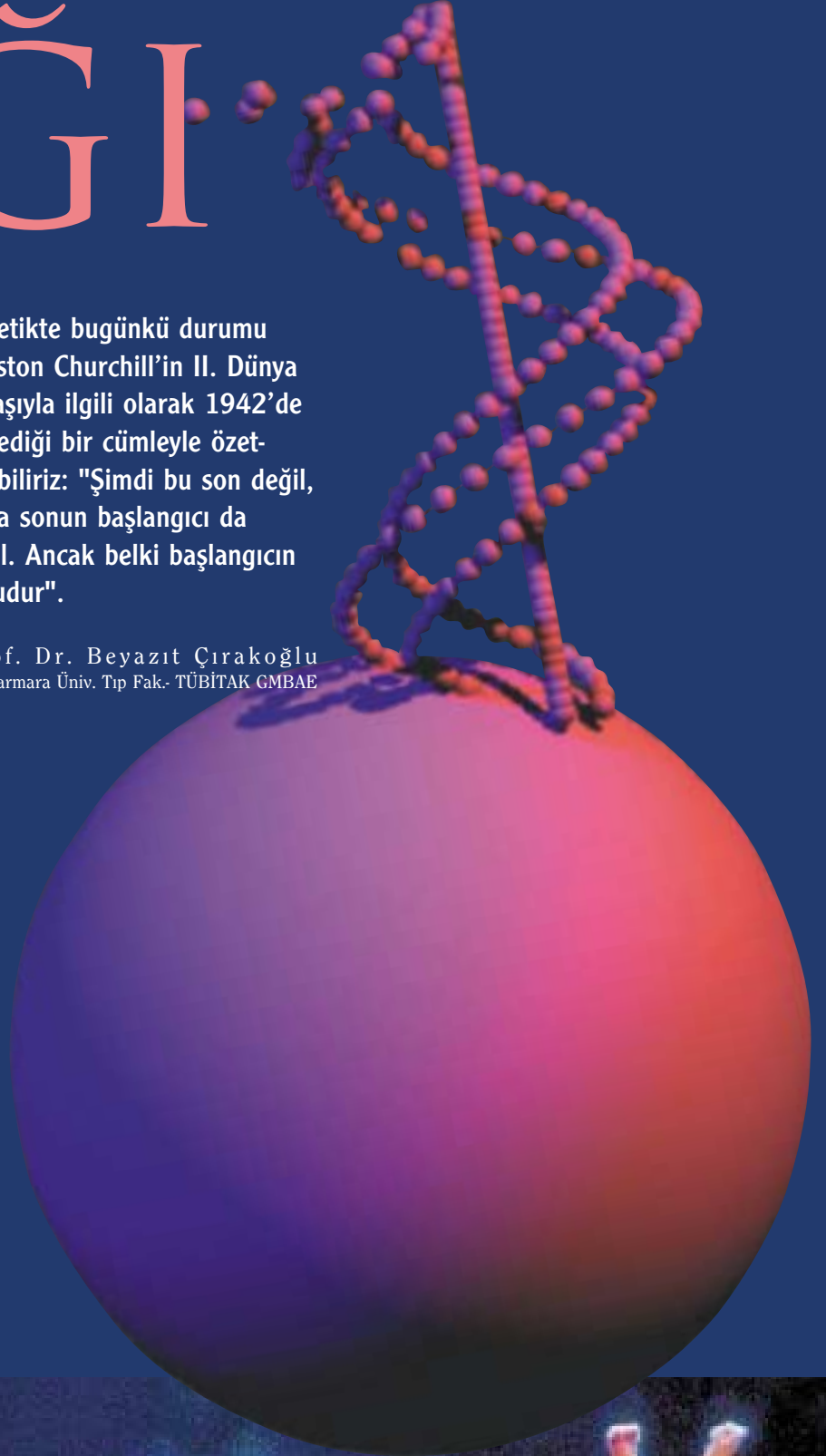
# ÇAĞI

hukukçuların, yöneticilerin, hatta filozofların ilk kez karşılaşacakları durumlara yeni çözümler ve açıklamalar aramak zorunda kalabilecekleri de beklentiler arasında.

Genetik araştırmalarının giderek artan hızına karşın, yürütülen çalışmaların belli bir süreçte sona ereceğini beklemek yanlış. Elde edilen sonuçlar, yeni sorulara temel oluştırmakta ve birbiri ardına yeni projeler başlatılmakta. Örneğın, insan genlerinin beklenenden daha az sayıda olması, araştırmacıları, bir genin birden fazla proteini kodlayıp kodlamadığı sorusuna yönelterek proteomiks çalışmalarının daha fazla önem kazanmasına yol açtı. Yeni projeler, yeni yaklaşımlar, sonuçların yaşama uygulanması, birbirini izler duruma geldi ve bunun daha uzun bir süre de böyle gideceğı düşünölmekte.

Genetikte bugünkü durumu Winston Churchill'in II. Dünya Savaşıyla ilgili olarak 1942'de söylediğı bir cümleyle özetleyebiliriz: "şimdi bu son değıl, hatta sonun başlangıcı da değıl. Ancak belki başlangıcın sonudur".

Prof. Dr. Beyazıt Çırakoğılu  
Marmara Üniv. Tıp Fak.- TÜBİTAK GEMBAE



16



17



18



X

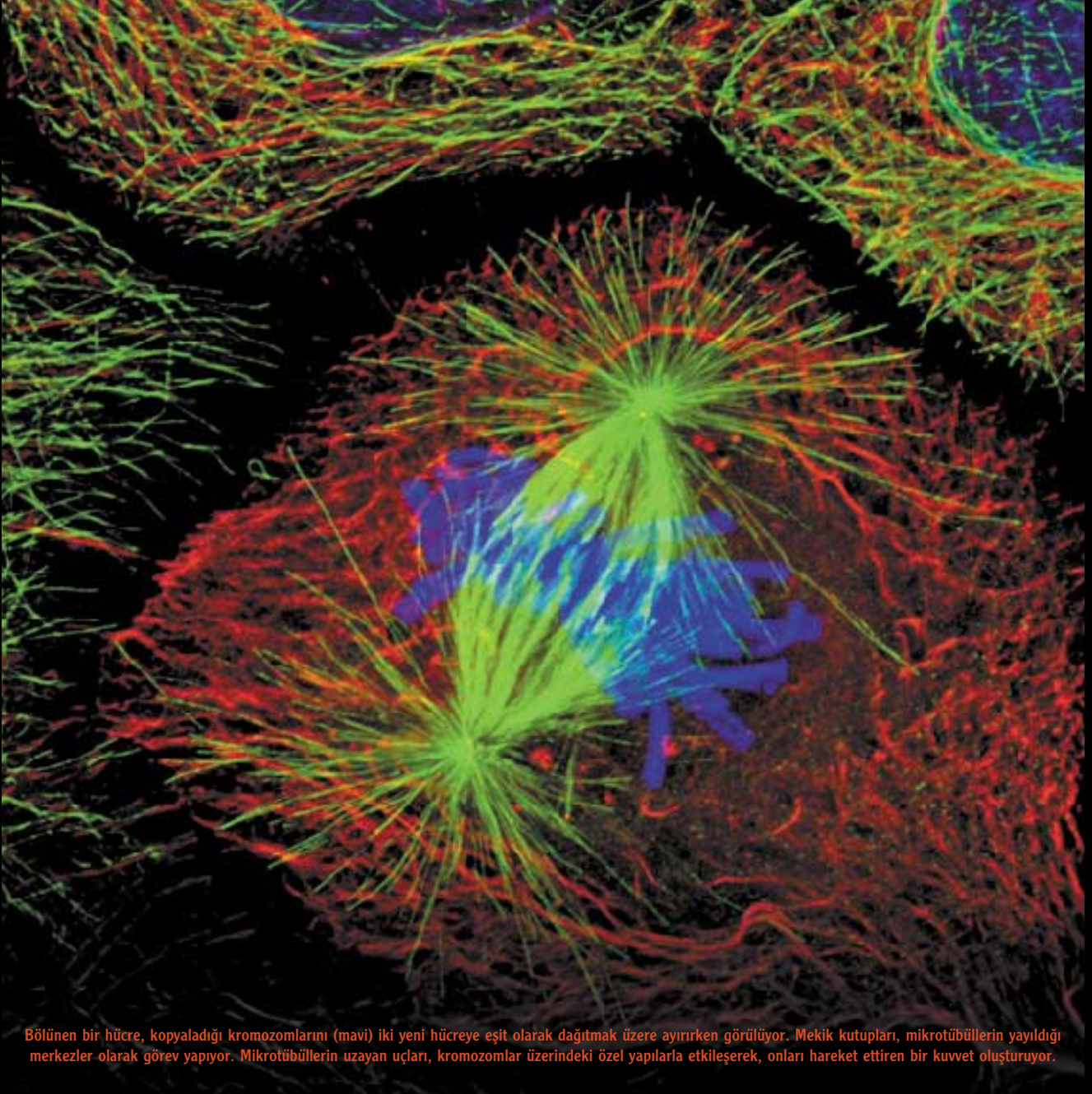
# DNA, GEN, G

Canlı organizmalarda hücrelerin işlevleri ve gelişimleri, genetik olarak belirlenmiş olan bir program tarafından yürütülür. Programın temelini oluşturan genler, deoksiribonükleik asit (DNA) yapısındadır. Programın belirli bir işlevinden sorumlu olan her gen, kromozom üzerinde

belirli bir konuma sahiptir. Tek bir polipeptid zincirini (proteini) kodlayan DNA parçasına, yani kalıtsal maddenin tek bir birimine gen adı verilir. Genler programın çalışması için bilgi taşımakta ve bu bilgi şifresinin çözülmesiyle bir protein ürünü ortaya çıkar. Kısaca DNA üzerindeki

genetik bilgi, bireyin fenotipinde (genetik yapının belirlediği ancak dış etkilerin de söz sahibi olduğu görünüşünde) görülür.

Moleküler biyolojinin ana kuralı (temel dogması), kalıtsal bilginin DNA'dan RNA aracılığıyla proteinlere aktarılmasıdır.



Bölen bir hücre, kopyaladığı kromozomlarını (mavi) iki yeni hücreye eşit olarak dağıtmak üzere ayırırken görülüyor. Mekik kutupları, mikrotübüllerin yayıldığı merkezler olarak görev yapıyor. Mikrotübüllerin uzayan uçları, kromozomlar üzerindeki özel yapılarla etkileşerek, onları hareket ettiren bir kuvvet oluşturuyor.



# EN-PROTEİN

DNA → RNA → protein

Şimdi kısaca DNA, RNA moleküllerinin yapısına ve bu moleküllerin taşıdıkları bilginin, protein molekülüne aktarımındaki mekanizmalara bakalım.

Hücre içinde nükleik asitler 2 çeşittir: deoksiribonükleik asit (DNA) ve ribonükleik asit (RNA).

Genetik bilgiyi taşıyan DNA ve RNA moleküllerinin yapı taşlarını nükleotidler oluşturur. Fosfat, şeker ve purin-pirimidin bazlarından oluşan nükleotidlerin birbirlerine fosfodiester bağlarla bağlanmasıyla nükleik asitler oluşur.

Proteinler, yapı taşları olan amino asitlerin peptid bağıyla birbirlerine bağlanmalarıyla meydana gelir.

**DNA:** Genetik maddenin özü yani deoksiribonükleik asit (DNA), hücre çekirdeğinde bulunan kromozomları oluşturur. Tüm canlı organizmaların

özelliklerini belirleyen ve kalıtımı taşıyan bir kimyasal moleküldür. Kalıtımın esasını oluşturan DNA molekülünün benzersiz bir yapısı vardır: fosforik asit, deoksiriboz şekeri ve azotlu bazın oluşturduğu, nükleotid adı verilen dört tip yapı taşından meydana gelmiş ve çift-sarmal yapıda bir moleküldür. Merdivene benzer yapıdaki molekülün basamaklarında purin: adenin (A) ve guanin (G) ile pirimidin: timin (T) ve sitozin (C) azotlu bazları yer almaktadır.

DNA'nın çift sarmal yapısında, bir pirimidin (T ve C) karşısında daima purin (A ve G) yer almaktadır. Bu yapılanmada sitozin ve guanin arasında üç ve timinle adenin arasında iki hidrojen bağı bulunmaktadır. Eşleşme (komplementerlik) bu yolla oluşmaktadır.

Genetik bilgi yarı-koruyucu bir mekanizmayla eşlenir. DNA, kimyasal ve biyolojik etkenlerle oluşan hasarlarını

tamir edebilen, insan vücudundaki tek polimerdir.

Genetik bilgi nükleotid baz çiftlerinin (A-T ya da G-C) dizisinde bulunmaktadır. Üç baz çiftinin oluşturduğu kodon denilen üçlü (triplet) dizi DNA ya da RNA'da belli amino asitleri şifrelemektedir. Genetik bilginin akışı sırasında öncelikle transkripsiyonla (yazılım) DNA ipliklerinden birisinden bilgi, mRNA'ya (mesajcı RNA) aktarılır. mRNA'daki bilgiye daha sonra kodon dizilimlerine göre amino asitlerin okunmasını ve protein molekülünün translasyonla (çeviri) oluşumunu sağlar. Birden fazla peptid zincirinden oluşan protein molekülü için birkaç genin okunması gereklidir.

**DNA Replikasyonu:** DNA'nın kendini eşlemesi olarak bilinen replikasyon sırasında DNA'nın her ipliği kalıp olarak kullanılarak yeni bir iplik yapılır. Yarı-koruyucu (semi konservatif) bir mekanizmayla gerçekleşen replikas-

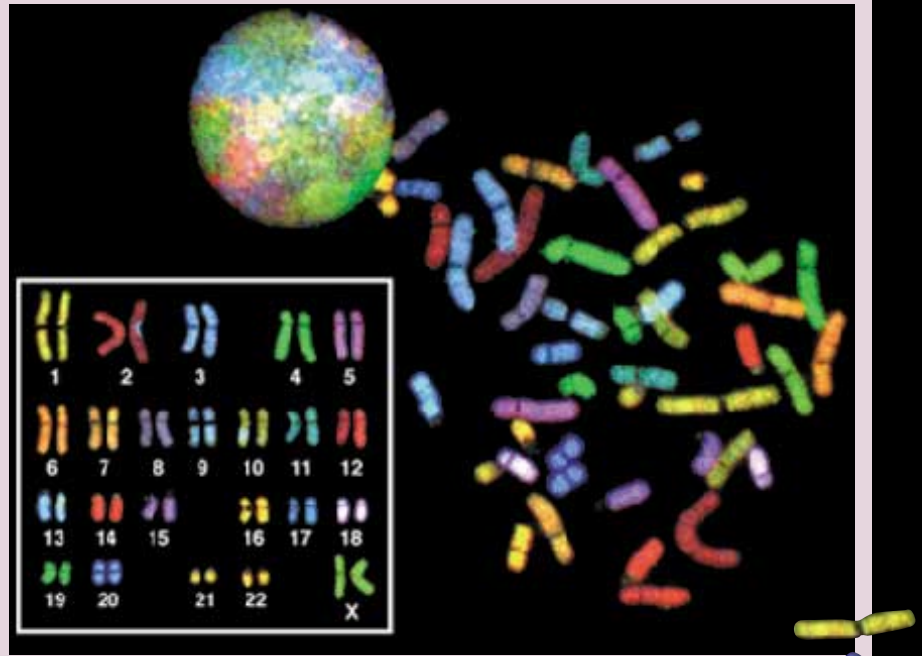
## Kromozom Nedir?

Kromozom DNA ve proteinlerden oluşmuş hücre çekirdeği içinde bulunan yoğun ve belirgin cisimciklerdir. Bir kromozomdaki DNA kendi etrafında bazı proteinlerin de katkısıyla süper sarmallar oluşturarak yoğunlaşmış tek bir dizidir. Her kromozomdaki DNA 50-250 milyon nükleotid içerir. Bu DNA lar üzerinde değişik sayıda gen bulunur.

Birçok hücredeki kromozomlar hücre döngüsünün önemli bir bölümünde (interfaz) daha az yoğun (gevşek) durumda bulunurlar ve ışık mikroskopuyla görülemezler. Ancak hücrenin bölünmesi (mitoz) sürecinde yoğunlaşarak mikroskopta koyu cisimcikler olarak görülürler. En uygun görüntüleme metafaz aşamasında sağlanır.

İnsan kromozomlarının bir seti 22 otozomal ve bir cinsiyet kromozomu olmak üzere 23 kromozomdan oluşur. 22 otozom her iki sette aynı iken cinsiyet kromozomları erkekte Y dışında X kromozomu olarak farklıdır.

Her vücut hücresinde 2 set kromozom (toplam 46 adet) bulunurken sadece cinsiyet hücreleri (yumurta ve sperm) tek set kromozom (haploid) taşırlar. Bu nedenle özel bir bölünme sistemine (mayoz) sahiptirler. Bu hücreler birleştiğinde 2 set



kromozoma sahip (diploid) hücre (zigot) meydana gelir.

1960 ların sonlarına doğru kromozomların belli bölgelerinin çeşitli boyalar ve yöntemlerle farklı şekilde boyanmaları (bantlama) her kromo-

zomun boyları dışında da boyanma özelliklerine göre ayırtedilebilir duruma geldiler (Şekil). Bu gelişme birçok genetik hastalığın kromozom düzeyindeki temellerinin aydınlatılmasına yardımcı oldu.

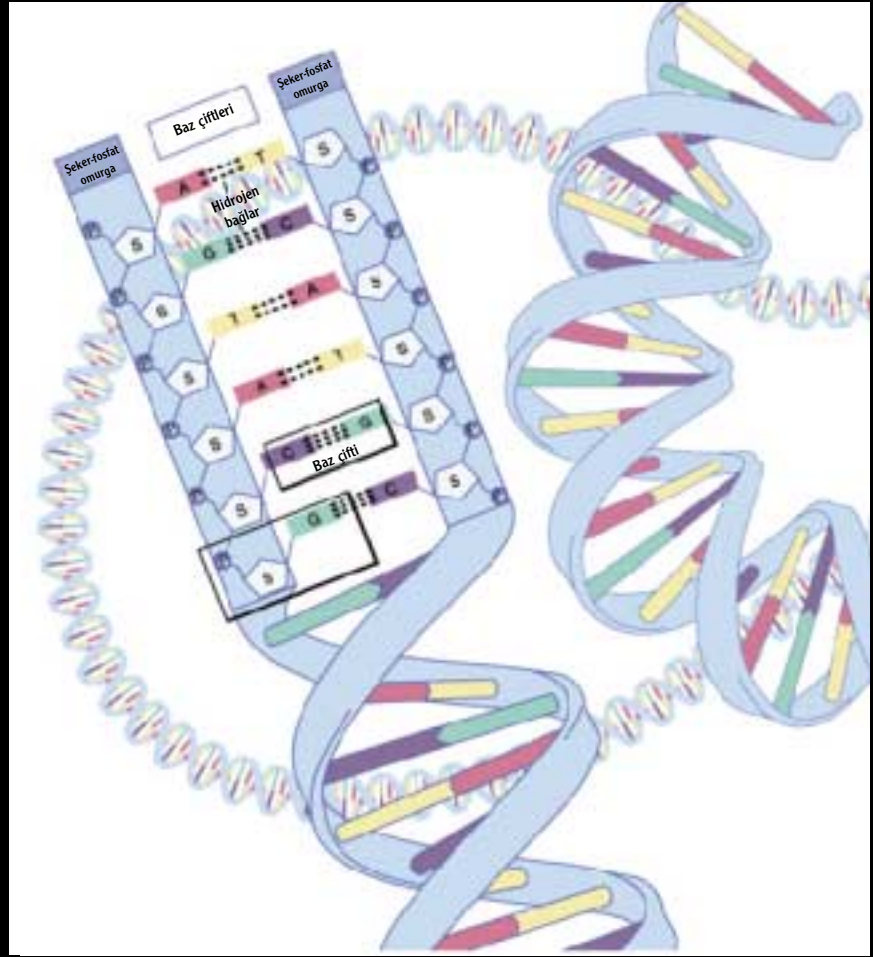
yonla, oluşan her yeni DNA molekülünde orijinal bilgi korunmuştur.

Replikasyon genetik bilginin dölden döldevamlılığını sağlamakta ve bu yolla hücredeki genetik materyal iki katına yükselmektedir. Böylece genetik materyal bireyin bütün hücrelerinde aynı kalmakta ve dölden döldevazalmadan sabit bir şekilde geçmektedir.

**RNA:** DNA yapısından farklı olarak riboz ve timin (T) yerine urasil (U) içermektedir. DNA üzerindeki bilginin kalıp olarak kullanılmasıyla ribonükleik asit (RNA) molekülünün sentezlenmesi yazılım (transkripsiyon) olarak tanımlanır. Prokaryotik (Hücre çekirdeği olmayan) ve ökaryotik (çekirdekli) organizmalarda 3 çeşit RNA molekülü bulunmaktadır; ribozomal RNA (rRNA), transfer RNA (tRNA) ve haberci RNA (mRNA). rRNA'lar 3 farklı büyüklükte, birbirleriyle ve diğer proteinlerle etkileşerek protein sentezinin gerçekleştiği ribozomları oluştururlar. tRNA lar 65-110 nükleotid uzunluğunda olup mRNA üzerindeki bilgiyi, proteini oluşturan aminoasit dizisine çeviren adaptör moleküllerdir. mRNA'larsa hücrede bulunan en heterojen RNA'lar olup, uzunlukları 500-6000 nükleotid arasındadır. Protein sentezi için temel oluşturacak genetik bilgiyi taşırlar.

**Transkripsiyon (Yazılım):** DNA'daki bilginin, yani nükleotid baz dizisinin RNA'da uygun baz dizisine aktarılmasına transkripsiyon denir. DNA sarmalının açılmasıyla başlayan transkripsiyonda, DNA'nın bir zinciri kalıp olarak kullanılarak ve RNA polimeraz enzimiyle komplementer (eş) mRNA molekülü sentezlenir.

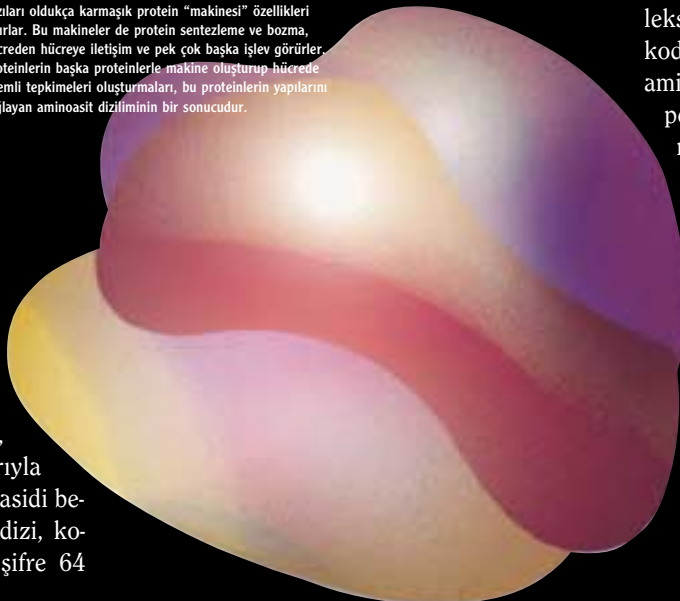
**Genetik şifre:** DNA'nın nükleotid dizisiyle proteinlerin amino asit dizisi arasındaki ilişki, genetik şifreyle sağlanmaktadır. DNA'daki genetik şifre, üçlü nükleotid gruplarıyla okunur ve her bir amino asidi belirleyen üç nükleotidlik dizi, kodon adını alır. Genetik şifre 64



kodondan oluşmakta ve bunlardan 61 tanesi amino asit kodlamaktadır. UAA, UAG ve UGA kodonlarının amino asit karşılığı olmayıp, protein sentezinin sonlanmasından sorumludurlar.

**Translasyon (Çeviri):** Translasyon sırasında mRNA'daki nükleotid bazlarının oluşturduğu kodonlar uygun amino asitlerle birleşerek protein sentezini gerçekleştirir. rRNA'ların birbirleriyle ve proteinlerle etkileşerek oluşturdukları ribozomlarda gerçekleşen protein sentezi, çekirdekli hücrelerde (ökaryotlarda) çekirdek dışındaki sitoplazmada gerçekleşir. Protein sentezi 3 evreden oluşmaktadır. Başlama evresi: Başlama faktörlerinin (IF1, IF2, v.b.) yardımıyla mRNA, ribozom ve tRNA kompleksi oluşur. Uzama evresi: Başlangıç kodonundan sonra gelen kodona ait amino asidin, bir önceki amino aside peptid bağıyla eklenmesi ve bu işlemin sonraki kodonlara da uygulanmasıdır. Sonlanma: Üç dur kodonundan biriyle karşılaşıldığında translasyon sonlanır.

Proteinler ender olarak tek başlarına işlev görürler. Genelde çok proteinli yapılar halinde birleşerek çalışırlar. Bunların bazıları oldukça karmaşık protein "makinesi" özellikleri taşırlar. Bu makineler de protein sentezleme ve bozma, hücreden hücreye iletişim ve pek çok başka işlev görürler. Proteinlerin başka proteinlerle makine oluşturup hücrede önemli tepkimeleri oluşturmaları, bu proteinlerin yapılarını sağlayan aminoasit diziliminin bir sonucudur.



Ayşe Özer  
Prof. Dr., Marmara Üniversitesi,  
Tıp Fakültesi  
Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

**Genetik kod** <http://www.accessexcellence.org/AB/GG/genetic.html>  
**DNA** <http://www.iacr.bbsrc.ac.uk/notebook/courses/guide/dnast.htm>  
**RNA** <http://www.iacr.bbsrc.ac.uk/notebook/courses/guide/rnast.htm>  
**protein sentezi** <http://www.iacr.bbsrc.ac.uk/notebook/courses/guide/trad.htm>

# TÜRKİYE'DE MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK

Türkiye'nin moleküler biyoloji alanında geliştirilmiş bir politikasının olmayışı, ülkeyi geçen yarı yüzyılda bu alanda yaşanan gelişmelerin büyük ölçüde dışında tutmuştur. Ülkemiz, bunun ötesinde, moleküler biyolojiyi gerçek boyutlarıyla algılama ve onu fizik, kimya, matematik ve biyoloji'nin örtüştüğü, yeni ve özgün bir alan olarak tanımlamada, YÖK'ün yönetmeliklerine de yansıdığı gibi, yetersiz kalmıştır. Bu yetersizlik ülkemizi günümüzde moleküler biyoloji (ve de moleküler biyoteknoloji) alanlarında mütevazı bir konumla yetinmek durumunda bırakmıştır.

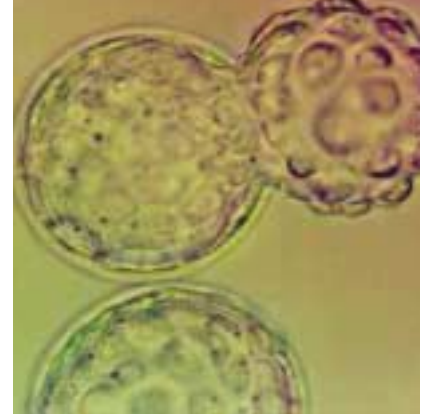
Moleküler biyoloji ancak 1980'li yıllarda üniversitelerin biyoloji bölümlerinde anabilim dalı olarak yer bulmuştur. Yine 1980'li yıllardan başlayarak, moleküler biyoloji yöntemlerinin biyoteknolojide ve biyomedikal araştırmalarda yaygın uygu-



TÜBİTAK'ın Marmara Araştırma Merkezi'ndeki Gen Mühendisliği ve Biyoteknoloji Araştırma Enstitüsü'nde çeşitli deneyler için gen değiştirilmiş fareler üretiliyor

lama bulmasına koşut olarak, ülkemizde bu alana ilişkin dolaylı bir ilgi uyanmıştır. Oldukça çok sayıda araştırmacı moleküler biyolojinin uygulama alanlarında çalışmaya başlamış ve ayrıca öğrenciler bu alanda doktora eğitimi yapmak üzere yurtdışına gönderilmiştir. Eğitimi tamamlayarak yurda dönen bu genç araştırmacıların yanı sıra, son yıllarda, yurtdışındaki bir araştırma kariyerinden sonra, yurda dönen araştırmacılar, mevcut araştırmacılarla birlikte, günümüz Türkiye'sinde bu alanda gereksinilen kritik kütle için bir fırsat sunmaktadır.

Ancak DPT, TÜBA, TÜBİTAK ve YÖK gibi kuruluşların eşgüdüm içinde çalışarak moleküler biyolojiyi (ayrıca moleküler biyoteknoloji ve de biyoinformatiki) bundan böyle ayrı ve öncelikli eğitim ve araştırma alanları olarak ele almaları, stratejiler geliştirmeleri ve kaynak yaratmaları gerekmektedir. Bu bağlamda, özellikle önümüzdeki on yılda bu alanda nitelikli ve yetkin bir



araştırmacı kuşağının yetiştirilmesi hedeflenmelidir. Bu alanların interdisipliner niteliği gözönüne alındığında, bu hedefin gerçekleşmesi, ancak biyoloji, fizik, kimya, matematik ve de (biyoinformatik açımlarının ışığında) bilişimin eşit ağırlıklı olarak ele alındığı temel eğitim programlarının oluşturulması ve bu tür eğitimi verecek bağımsız moleküler biyoloji bölümlerinin kurulmasıyla olanaklıdır. Aynı doğrultuda (moleküler) biyoteknolojinin de ayrı ve öncelikli bir uygulama alanı olarak konumunun tanımlanması gerekmektedir. Moleküler biyolojinin geçen yarı yüzyılda gelişimine benzer bir gelişme gösteren biyoinformatik ise, (1950'li ve 60'lı yıllardaki hataların tekralanmaması için) Türkiye'nin en ivedi biçimde hareket etme zorunluluğunda olduğu bir alanı temsil etmektedir. Son olarak, ülkemiz biyolojik bilgilerin ticarileşmesi sürecine koşut olarak ortaya çıkan patent tekellerini de gözetecek, özgün biyolojik zenginliklerini güvenceye almak üzere, moleküler biyolojinin sunduğu teknolojik olanakları değerlendirme becerisini kazanmak zorundadır.

Engin Bermek  
Prof. Dr., TÜBA Başkanı



Mikroenjeksiyon



Mikroenjeksiyon yoluyla yumurtadan genetik malzemenin çıkarılması



# İNSAN GENOMU

Genom, bir organizmanın bütün DNA'sı, bir başka deyişle, genetik yapısı olarak da ifade edilebilir. Değişik organizmaların büyüklükleri önemli farklılıklar gösterirler. Örneğin *E.coli* bakterisinde genom  $4,5 \times 10^6$  baz çiftinden oluşmuşken, insanda  $3,2 \times 10^9$  baz çiftine ulaşır. Bitki, hayvan gibi çok hücreli canlılarda hemen her hücre tam genomu içerir (insanda olgun alvyular genom içermezler). İnsan genomu, 50-250 milyon baz çifti içeren 24 kromozom halinde düzenlenmiştir. Bu kromozomlara dağılmış olan genlerin sayısı, yaklaşık 35 bin kadardır. Genler, organizmadaki işlevsel moleküller olan proteinleri kodlarlar. Bütün

genomun ancak yaklaşık %2'sini oluşturan genlerin içerdiği dizim hataları (mutasyonlar), organizmalarda yapı ya da işlev bozukluklarına, bir başka deyişle hastalıklara neden olabilirler.

1945'te ABD Kongresi, Enerji Bakanlığını yeni enerji kaynakları ve teknolojileri geliştirmekle, bu yeni enerjilerin üretim ve kullanımının sağlık ve çevre açısından sakıncaları olup olmadığının derinlemesine araştırılmasıyla görevlendirdi. Bu bilimsel araştırmalar, nükleer tıp gibi yeni alanların gelişmesine yol açtı. 1986'da Enerji Bakanlığı, belirtilen görevinin çerçevesinde insan genomu dizisinin belirlenerek bir referans oluşturması için İnsan Genomu Girişimi'ni başlattı ve Ulusal Sağlık Enstitülerinin de işbirliğiyle 1990'da "İnsan Genom Projesi" başlatıldı.

İnsan Genomu Projesinin temel amacı, tüm insan genomunun dizisini ve bütün genlerini belirleyerek bir başvuru kaynağı oluşturmaktır. Bunun yanı sıra diğer organizmaların da genom dizilerini belirleyerek insanınkiyle karşılaştırmak, bunun gerçekleştirilmesi için yeni teknikler geliştirmek ve elde edilecek bilgileri tarım, sağlık, çevre, enerji gibi alanlarda değerlendirmektir.

ABD'den 14, Japonya'dan 2, İngiltere, Fransa, Çin ve Almanya'dan birer kuruluşun oluşturduğu İnsan Genomu Konsorsiyumu, proje için 15 yıl

lık bir süre öngörüşken, başta informatik olmak üzere birçok teknolojiye çok hızlı gelişmeler ve özel genetik firmalarının katkılarıyla projenin 2003 te bitmesi bekleniyor.

Haziran 2000'de İnsan Genomunun taslak dizisi açıklandı. Bunun ardından giderek artan bir ivmeyle insan ve başka organizmaların genom dizilerinin belirlenmesi devam etti. İnsan Genomu Konsorsiyumu'nun elde edilen yeni verileri hızla ve karşılıksız olarak bilim dünyasına yayması bu başarıya büyük katkı sağladı.

Şubat 2001'de İnsan Genomu Projesi ve Celera Şirketi araştırmacıları, insan genomu taslağını ve elde edilen tüm verileri açıkladılar. Tam amaca ulaşmak için henüz aşılacak çok yol olmamasına karşın bu gelişme insanlık tarihinin en önemli aşamalarından biri olarak kabul edildi.

En çarpıcı veriler insan gen sayısının, beklenenin 1/3 ü kadar; 3 5

## İlk Veriler

İnsan Genomu 3.164.700.000 yapıtaşından (nükleotitten) oluşmuştur.

Bir gen, ortalama 3.000 nükleotitten oluşur. Ancak bu sayı çok değişkendir. En büyük gen olarak bilinen distrofin geni, 2,4 milyon baz içerir.

Toplam gen sayısı 29.000-36.000 arasındadır.

Nükleotid dizilerinin %99,9'u bütün insanlarda aynıdır.

Bugüne kadar insanda 1,5 milyon kadar tek nükleotid değişikliği bölgesi saptanmıştır.

Tanımlanmış genlerin %50'den fazlasının işlevleri henüz bilinmemektedir.

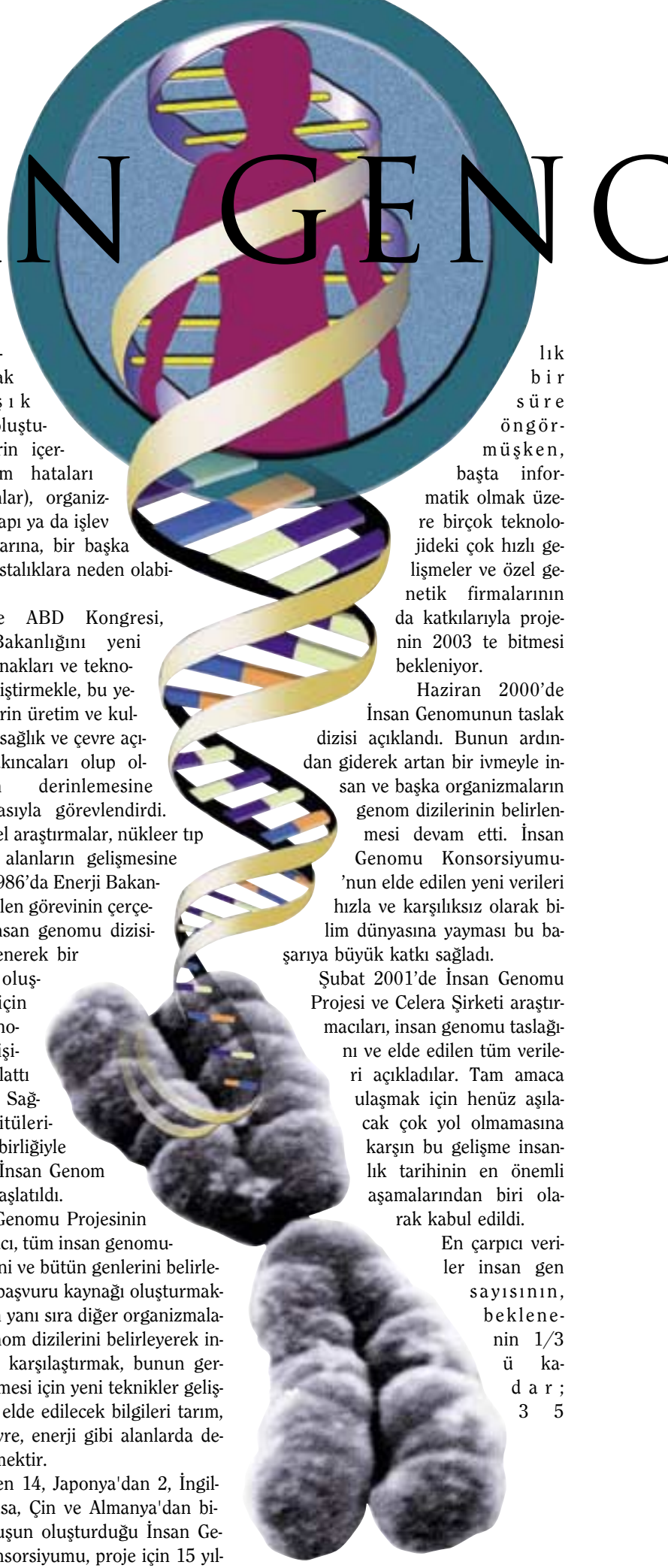
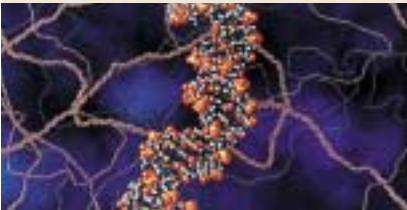
Genomun yaklaşık %2'si proteinleri kodlamaktadır.

Proteinleri kodlamayan dizi tekrarları (hurdada DNA), genomun büyük bölümünü oluşturur.

En fazla geni 1. kromozom (2.968) ve en az geni Y kromozomu (231) içermektedir.

Aynı gen alternatif mRNA kesilmeleri ve kimyasal değişikliklere bağlı olarak değişik proteinleri kodlayabilir.

İnsan, bitki, sinek ve kurtçuklarla ortak protein ailelerine sahiptir; ancak, gen aileleri (özellikle gelişme ve bağışlıklardan sorumlu olanları) insanda daha geniştir.





# OMU PROJESİ

bin dolaylarında olduğunu gösterdi. Bu da insanın karmaşık yapısının temelinde, tek bir genin, alternatif değişikliklerle birçok proteinin kodlanmasında görev alabileceği gerçeğinin yatığını düşündürdü. Karmaşıklığın başka bir nedeni de, binlerce kimyasal değişikliğin proteinleri ve düzenleme mekanizmalarını farklılaştırmasıydı.

Tüm bu çalışmaların, kesin sonuçlarını 2003'te vereceği öngörülmekte. 2003'ün bir özelliği de, DNA molekülünün çift sarmal yapısının 1953'te Watson ve Crick tarafından açıklanmasının 50. yılı olması. Bu çağ açan buluştan yarım yüzyıl sonra, İnsan Genomu Dizisi de açıklanarak yeni bir dönemin kapısı aralanacak.

## Değişen Bir Kavram: Gen

Daha bir yıl öncesine kadar bütün kitaplarda kısa bir cümleyle tanımlanırdı: Bir gen, belli bir genetik karakteri kontrol eden ve özellikle bir protein ya da RNA molekülüne karşılık gelen bir DNA parçasıdır (*Molecular Biology of the Cell*, 3.basım)

Bugünse, İnsan Genomu Projesi'nin verilerinden yola çıkıldığında gen kolayca tanımlanamıyor. İnsanın tüm karmaşık yapısına karşın, 35.000 genin işlevlerinin "bir gen=bir protein" düşüncesiyle açıklanmasının olanaksız olduğu görülüyor. Genset Firması bilimsel direktörü, tanınmış moleküler biyolog

Daniel Cohen, bu zorluğu şöyle açıklıyor: "Bir yandan genomun bazı parçaları değişik RNA dizilerine kaynak oluşturabiliyor ve bu RNA'lar farklı proteinlerin sentezini sağlıyor. Öte yandan, aynı DNA parçasının iki ilmeğinin birbirinden farklı iki protein kodlayabildiklerinin artık farkına varıldı. Hatta DNA'dan RNA sentezi sürecinde bir ilmekten diğerine sıçramalar olabiliyor. Nihayet bir DNA bölgesinin yazılımı genomun çok uzak bir bölgesindeki düzenleyici bölgeler tarafından kontrol edilebiliyor.

Bu durumda gen kavramının sınırlarını nasıl çizebiliriz?"

Beyazıt Çırakoğlu  
Marmara Üniv. Tıp Fak.ve  
TÜBİTAK GMBAE

## Genetik Çağının Kısa Tarihi

İzleyenleri her gün yeni gelişmelerle şaşırtan genetik biliminin temelleri 19. yüzyıla dayanmaktadır.

1839'da Alman araştırmacılar Schleiden ve Schwann, bütün bitki ve hayvanların, hücre adını verdikleri temel birimlerden meydana geldiklerini öne sürdüler. Bu hücreler birer zarla çevriliydi ve çekirdek adını verdikleri, zarla çevrili bir cisim içeriyorlardı. En önemlisi, bu hücreler ve çekirdekleri bölünerek iki yeni hücre haline geliyorlar, bu şekilde organizmaların büyümesini sağlıyorlardı.

Hücre çekirdekleri bölünme sürecinde belirginleşen çubuksu maddelere (kromozom) sahiptirler. 1879'da Flemming hücre bölünmesi sırasında kromozomların sayılarını iki katına çıkararak her yeni hücre içine eş sayıda dağıldıklarını gösterdi. Bu hücre teorisinin evrensel niteliğe sahip olduğu, bakteri, protozoa gibi tek hücreli canlılar ve yüksek canlıların aynı yöntemle çoğaldıkları, yüksek canlılarda buna ek olarak, hücrelerin, aynı kromozomal yapıya sahip olmalarına karşın yoğun şekilde farklılaştıkları bilim dünyasına kabul edildi. Trilyonlarca hücreden oluşan bir organizmanın tek bir hücreden kaynaklandığı ve yaşamın filizlendiği döllenmiş yumurta hücresinin canlılık fiziksel özelliklerini (saç, göz rengi vb...) içerdiği anlaşıldı. Ancak iki cinsiyet hücresinin birleşmesinden oluşan yeni hücrenin (zigot) tek hücre kromozom sayısına nasıl indirgiği sorusu daha sonraları mayoz (meiosis) mekanizmasının açıklanmasıyla aydınlandı. Bu bulgular kromozomların kalıttan,

yani özelliklerin kuşaktan kuşağa geçişinden sorumlu olabileceğini düşündürüyordu.

Kalıtımın sperm ve yumurtayla geçtiği 1860'lardan beri biliniyordu. 1868'de Haeckel sperm hücresi çekirdeğini inceleyerek kalıtımın çekirdek yoluyla geçtiğini bulmuştu. Aynı yıllarda Mendel uzun yıllar değişik özelliklere sahip bezelyeleri çaprazlayarak yaptığı çalışmaların sonuçlarını yayınlamış, ancak bilim dünyasında hiç ilgi görmemişti. Mendel Kuralları 1865'te yayınlanmasına karşın, ancak 1900'de Vries, Correns ve Tschermak'ın birbirlerinden bağımsız olarak bitkilerle yaptıkları çalışmalarla, Mendel'le aynı sonuçlara ulaşmalarından sonra hakettiği değeri buldu. Bu kurallara göre: Canlıların her özelliği bir faktör (gen) tarafından kodlanır ancak bu gen değişik şekillerde (alel) olur. Her kalıtsal özellik için her ebeveynden bir adet gen geçer ve yeni organizmada iki tane olarak bulunur. Bu genler hücre bölünmesi sırasında iki yeni hücreye rastlantsal şekilde dağılırlar. Bu çalışmalarla eş zamanda 1869'da Miescher ilk kez DNA'yı izole etti. Ancak DNA'nın genetik bilgiyi taşıdığı, 20. yüzyılın ortalarına doğru 1944'te bakteriler üzerinde tansformasyon araştırmaları yapan Avery tarafından kanıtlandı. Moleküler Biyoloji ve Genetik çağını açan en önemli buluşuysa 1953'te Watson ve Crick tarafından yapıldı. Yaşları 30 dolaylarında olan bu iki genç araştırmacı *Nature* dergisinde yayınladıkları kısa makalelerinde DNA molekülünün çift sarmal yapısını açıkladılar. DNA üzerindeki genetik bilgilerin bir hücre-

den diğerine, bir kuşaktan bir sonrakine nasıl geçtiğini (kalıtımı) açıklayan bu buluş, moleküler biyoloji araştırmalarının imvesini artırdı. DNA'nın kendini kopyalamasında görevli biyolojik katalizörler (enzimler), DNA molekülünün doğanın bozulması ve yeniden düzelmesi özelliği, DNA molekülünün belli dizilerini tanıyarak kesen proteinlerin (restriksiyon enzimleri) tanımlanması, saflaştırılması ve DNA dizilerinin tanımlanmasında kullanılması, bu çağ açan buluşu izleyen 10 yıl içinde gerçekleştirildiler.

DNA üzerindeki genetik bilgilerin nasıl yaşama geçtiğini, bir başka deyişle proteinlerin sentezinin temelini oluşturan genetik kodun (nükleik asit-protein sözlüğünün) aydınlatılması 1966'da gerçekleştirilebildi.

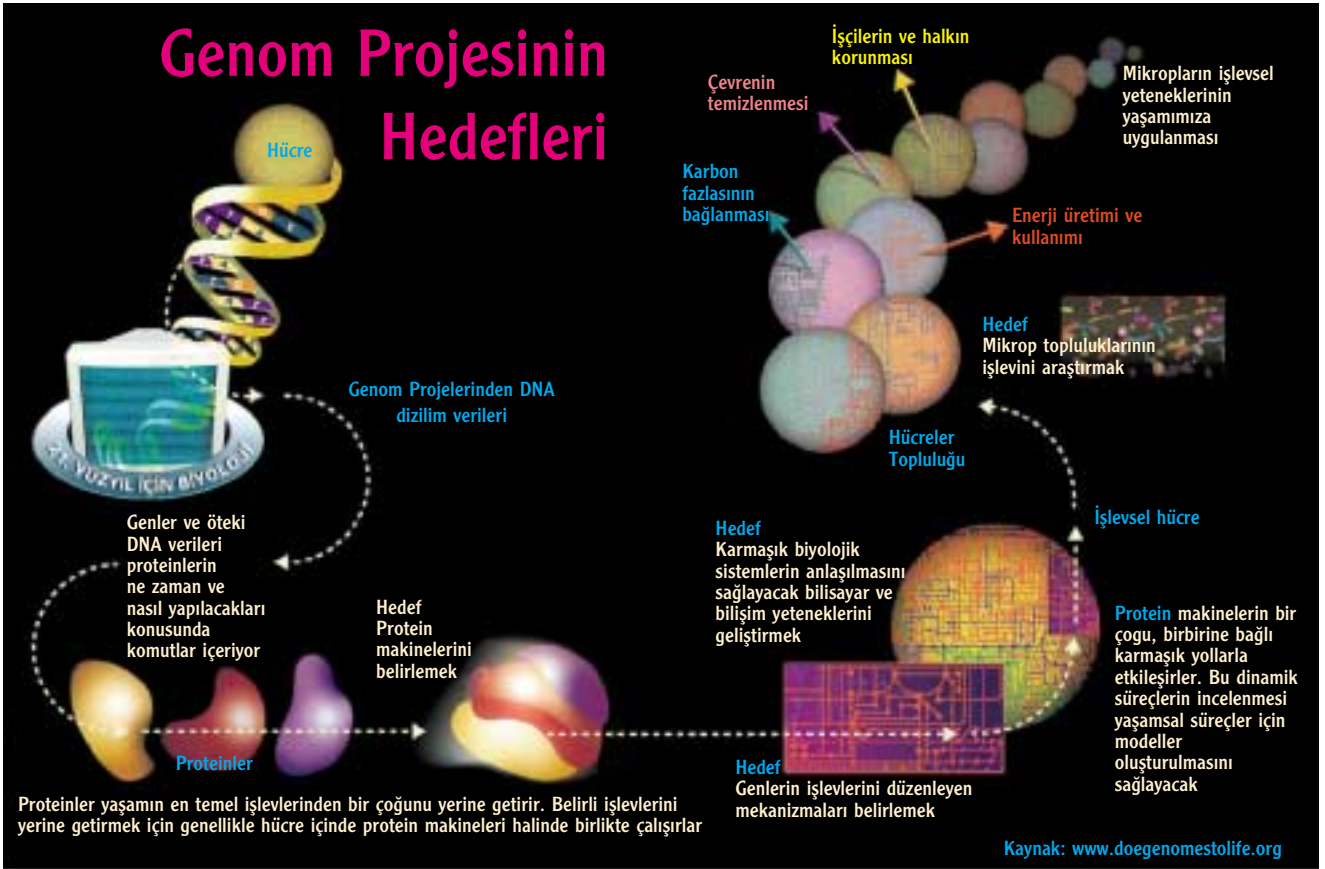
1972-1973'teyse Kohen Boyer ve Bang gen klonlamayı başardılar.

1975-1977'deyse Sanger-Barrell ve Maxam-Gilbert ikilileri hızlı DNA dizi analizi yöntemlerini geliştirdiler.

1982'deyse ilk kez bir memeli hayvan yumurta hücresine gen aktararak transgenik yüksek canlı geliştirildi.

1985'teyse DNA molekülünün istenen bölgelerini milyonlarca kez çoğaltabilen yöntem geliştirildi. Bu başdöndürücü gelişmelerin devamında yaşamın temelini ve insanın genetik yapısını aydınlatılmak amacıyla 1990'da "İnsan Genom Projesi" başlatıldı ve 2001 yılında 3.200.000.000 yapıtaşından oluşan insan genomu ana çizgileriyle açıklandı. Özellikle son yıllardaki gelişmeler, genetiğin yaşamımıza yoğun şekilde girmesine neden oldu. Tıptan tarıma, çevre mühendisliğinden enerjiye kadar yaşamın her alanında genetikten yararlanılır duruma gelindi.

# GELECEK



İnsan Genomu Projesi'nin yeni bir dönemin başlangıcı olduğu bütün bilim dünyası tarafından kabul edilmektedir. Genom araştırmaları ya da bilimi, "genomiks" olarak da adlandırılmaktadır. Genomiks, gelişmelerini tetikleyeceği beklenen yeni alanlar şöyle sıralanabilir:

**Transkriptomiks:** Aktif genlerden proteine geçişi sağlayan ara moleküller olan haberci RNA'ların (messenger RNA-mRNA), genlerin ne zaman, nerede ve hangi koşullarda kodladıkları proteinlerin sentezlendiğinin (ekprese olduklarının) belirlenmesi amacıyla geniş ölçekte incelenmesi.

**Proteomiks:** Protein sentez ve işlevlerinin incelenerek hücre içindeki süreçlerinin aydınlatılması.

**Yapısal Genomiks:** Her protein ailesinden en az bir proteinin üç boyutlu yapısının aydınlatılıp, işlev ve biyolojik hedeflerinin belirlenmesi; bilgilerin yeni ilaç tasarımında değerlendirilmesi.

## İnsan Genomu Projesi'nin Beklenen Getirileri

### Moleküler Tıp

- Tanı yöntemlerinin geliştirilmesi
- Hastalıklara genetik yatkınlığın belirlenmesi
- Genetik yapıya özgü ilaçlar geliştirilmesi
- Gen tedavisi yöntemlerinin geliştirilmesi
- Bakteri Genetiği**
- Hastalık yapıcı bakterilerin (patojenlerin) kolay ve hızlı saptanması
- Çevre ve Enerji**
- Yeni enerji kaynaklarının geliştirilmesi

- Çevre kirlenmelerinin saptanması ve kontrolü
- Biyolojik ve kimyasal ajanlara karşı koruma yöntemlerinin geliştirilmesi
- Zehirli atıkların güvenli şekilde etkisiz hale getirilmesi
- Risk Değerlendirmesi
- Radyasyon ve toksik ajanların kanserojen ve diğer zararlı etkilerinin, mekanizmalarıyla birlikte aydınlatılması.
- Biyoarkeoloji, Antropoloji, Evrim ve Tarih

- Evrimin moleküler düzeyde gösterilmesi
- Değişik toplumların göç yollarının ve akrabalıklarının araştırılması
- Y kromozom mutasyonlarının incelenmesiyle erkek dağılımının ve göçlerin araştırılması
- DNA Tanımlama
- Adli tıpta suçluların belirlenmesi
- Kan bağlarının saptanması
- Çevre kirlenmesi bakterisi ve benzeri organizmaların saptanması
- Organ nakillerinde doku uyumunun kesin şekilde saptanması

- Soy ağaçlarının geliştirilmesi
- Tarım, Hayvancılık ve Biyoişlem
- Kuraklığa, zararlılara, hastalıklara dirençli bitkilerin geliştirilmesi
- Daha sağlıklı ve kaliteli çiftlik hayvanlarının geliştirilmesi
- Besin değeri yüksek ürünlerin geliştirilmesi
- Biyopestisitlerin üretilmesi
- Yenibilir aşular üretilmesi (meyve ve sebze içinde)
- Çevre temizlemede kullanılacak ağır metal toplayıcı bitkiler geliştirilmesi.



# K 20 YIL

**Karşılaştırılmalı Genomiks:** İnsan genomu ve diğer model organizmalara ait genom dizilerini karşılaştırarak insan genlerinin ve moleküler evrimin incelenmesi. Bu yeni araştırmalardan elde edilecek veriler, başta tıp olmak üzere birçok alanda yeni açılımlara olanak vereceklerdir. Bu açılımlar arasında başlıcaları şöyle özetlenebilir:

## - Hastalıkların Tanısı

Gen testleri, hastalıkların tanısı ya da klinik tanı doğrulanması ve tedavinin izlenmesi konusunda önemli katkı sağlamakta. Günümüzde DNA test kitleri önemli pazar payına sahip durumdadır. Halen birkaç yüz genetik test kullanılmakta. Birçoğu da geliştirilme aşamasında. Bu testler, enfeksiyonların, bazı kalıtsal hastalıkların ve bir grup kanserin tanısında ve sınırlı düzeyde risk saptanmasında kullanılıyor. Bütün genlerin ve mutasyonların henüz tanımlanmamış olması, genetik testlerin daha geniş düzeyde kullanılmalarını engellemekte. İnsan Genomu Projesi çerçevesinde tüm genlerin dizilerinin ve işlevlerinin belirlenmesi, hastalıkların moleküler tanısını kolaylaştıracak, doğum öncesi tanı daha yaygın hale gelecek, doğum öncesi de uygulanabilecek gen tedavisi yöntemleri geliştirilecek. Aynı şekilde, birçok hastalığa yatkınlık, erken dönemlerde belirlenebilecek. Ancak, bu gelişmelerin birçok etik, sosyal ve yasal soruna odak oluşturacağı da düşünülmekte.

Kişiyeye ait olması gereken genetik bilgilerin başkalarının eline geçmesinin, işe almama, sağlık sigortası yapma gibi olumsuz uygulamalara neden olabileceği, bunun toplumda sorunlar yaratacağı birçok çevre tarafından dile getirilmekte. Genetik ayrımcılığın yeni sosyal yaralar açmasından endişe edenlerin sayısı oldukça fazla ve bugünden bazı önlemler alınmaya çalışılıyor. Bu çabalara UNESCO'nun hazırladığı "İnsan Genomu ve Genetik Hakları Bildirgesi" örnek olarak gösterilebilir.

İnsan Genomu Projesinin etkileyeceği alanlardan birisi de, "farmakoge-

## Kuşkular

Genetik alanındaki gelişmeler ve İnsan Genomu Projesi, yanıtlanması gereken soruları da beraberinde getirmekte. Sosyal, yasal ve etik açıdan toplumun kaygılarını dile getiren sorular kısaca şöyle sıralanabilir:

### Genetik Bilginin Özelliği ve Gizliliği

- Genetik bilgiye kim sahip olacak ve kontrol edecek?

- Genetik bilgilerin gizliliği tıbbi gizlilikten farklı mı?

### Genetik bilginin kullanılması

- Bireye ait genetik bilgilere kim ulaşabilecek ve bu bilgileri nasıl kullanacak?

### Üremeyle ilgili konular

- Sağlık personeli, aileleri risk ve sınırlamalar konusunda bilgilendiriyor mu?

- Yeni yardımcı üreme tekniklerinin getirdiği yeni sosyal sorunlar neler?

### Klinik konular

- Sağlık profesyonelleri, yeni genetik açılımlar konusunda nasıl bir eğitime tabi olacak?

- Toplum nasıl bilgilendirilecek?

- Genetik testlerin kesinliği, güvenilirliği ve yararı nasıl değerlendirilecek? (Bu konularda ilk

nomiks" olacak. Gelecek 10 yıl içinde, insanların genetik yapılarıyla, ilaç tedavilerine verdikleri yanıt arasındaki bağlantı büyük oranda aydınlatılacak ve bireyin genetik yapısına göre ilaç tedavisi gündeme gelecek.

Günümüzde, sadece ABD'de her yıl yaklaşık 100 bin hasta, kullandıkları ilaçların ters etkileri nedeniyle yaşamlarını kaybetmekte. Yaklaşık 2,5 milyon hastaysa, ciddi ters tepkiler gösteriyor ya da ilaçtan hiç yarar sağlayamıyor. Bunun nedeniyse, ilaçların metabolizmasını gerçekleştiren genlerin, özellikle de sitokrom p450 gen ailesinin içerebilecekleri genetik değişiklikler. Bu genlerin kodladığı proteinler (enzimler), birçok ilacın metabolizmasında görev alıyorlar. Bu ilaçların çoğu psikiyatrik, nörolojik (sinirsel) ve kardiyovasküler (kalp-damar) hastalıkların tedavisinde kullanılmakta. Enzimin işlevindeki değişiklikler, bireyin ilacına yanıt şeklinin düzeyini belirliyor.

İnsan Genomu Projesi'nin çıktılarının, yeni teknolojilerin gelişmesine ve kişilerin genetik yapılarına uygun daha

düzenlemeler yürürlüğe girmekte.)

### Ulaşılabilirlik

- Yeni genetik tanı ve tedavi olanaklarına kimler ulaşabilecek?

- Toplumlar ve bireyler arasında yeni bir eşitsizlik kaynağı mı olacak?

Karmaşık hastalıkların (kalp, diyabet, Alzheimer vb.) ilgili genetik testleriyle ilgili belirsizlikler

- Tedavisi henüz olmayan hastalıkların erken tanısı yapıldığında ne olacak?

- Çocuklar ileri yaşlarda ortaya çıkabilecek hastalıklar için kontrol edilebilecekler mi?

### Kavramsal ve Felsefi Yaklaşımlar

- Genler davranışları düzenliyorsa, kontrol olanığı var mı?

- Tıbbi tedavi ve süperleştirme arasındaki çizgi nasıl belirlenebilir?

### Sağlık ve Çevre Açılımları

- Genetik değişikliğe uğratılmış gıdalar ve diğer ürünler insanlar için tümüyle güvenli mi?

- Bu teknolojiler geliştirmekte olan ülkelerin ekonomilerini ve dışa bağımlılığını nasıl etkileyecek? Patent hakları ve Ticarileştirme

- DNA dizilerinin patentlenmesi sağlık hizmetlerini, ürün geliştirmeyi ve bilgileri ulaşmayı engelleyecek mi?

etkin, yan etkisiz ve ucuz ilaçların üretilmesine hızla katkı sağlayacağına kesin gözüyle bakılmakta. Kısaca, gelecek yıllarda ilaçla tedavi kavramı ve ilaç üretimi önemli değişiklikler geçirecek.

Genlerin tanımlanması ve hastalıkların genetik tanıların gerçekleştirilmesi, hastalıkların gen aktarım yöntemleriyle tedavisini olası hale getirecek. Günümüzde yoğun araştırmaların yapıldığı gen tedavisi konusunda kısıtlı sayıda da olsa uygulamalar yapılıyor. Temmuz 2001'e kadar dünyada 3.500 hastayı içeren 500'den fazla gen tedavisi yapıldığı biliniyor. Bunlardan yaklaşık %80'i ABD'de yapılmış.

Gen tedavisi, en çok çeşitli kanserlere karşı yapılmakta. Bunun ardından tek gene bağlı hastalıklar, enfeksiyon ve damar hastalıklarının geldiği görülmekte. Ancak gen tedavisinin, önündeki birçok engeli aşmış yaygın şekilde kullanılabilmesinin belli bir zaman alacağı düşünülüyor.

Beyazıt Çırakoğlu  
Marmara Üniv. Tıp Fak. ve  
TÜBİTAK GMBAE

# KANSER

Kanser, ölüm nedenleri arasında gelişmiş ülkelerde ilk, gelişmekte olan ülkelerde ikinci sırada yer almaktadır. İnsan ömrünün uzamasına bağlı olarak, önümüzdeki yıllarda daha da önem kazanacak olan bu ölümcül hastalık, moleküler biyolog ve genetikçilerin uzun süren çabaları sonucunda, artık anlaşılması kolay ve tedavisi mümkün olan bir sağlık sorununa dönüşmüştür. Geçtiğimiz 30 yıl içinde,

kanser genetiği ve biyolojisi alanlarında gerçekleştirilen bilimsel çalışmalarla, kanserleşmeye yol açan genetik bilgi değişikliklerinin -mutasyon- birçoğu çözülmüş olup, aynı zamanda bu genetik değişikliklerin kanserli hücrelere ne gibi yeni özellikler kazandırdıkları da belirlenmiştir. Bu gelişmelerin doğal bir sonucu olarak, kansere yatkın bireylerin DNA incelemeleriyle belirlenmesi, kanserin erken tanısı, kanserden korunma ve özellikle de kanserin tedavisi konularında yepyeni yaklaşım ve yöntemler geliştirilmiştir. Aşağıda sırasıyla bu konulara değinmek istiyoruz.

## Kanserli Hücrelerin Genom Yapısı

Döllenmiş yumurta, sürekli çoğalarak milyarlarca hücreden oluşan bir insanın oluşumunu sağlar. Hücre çoğalması, yetişkin insanda bile hiç bir zaman durmaz ve kaybedilen hücrelerin yenilenmesi için bütün yaşam boyu sürer. Hücre çoğalmasının en önemli özelliği, ana hücredeki genom bilgilerinin hemen hemen hiç değiştirilmeksizin

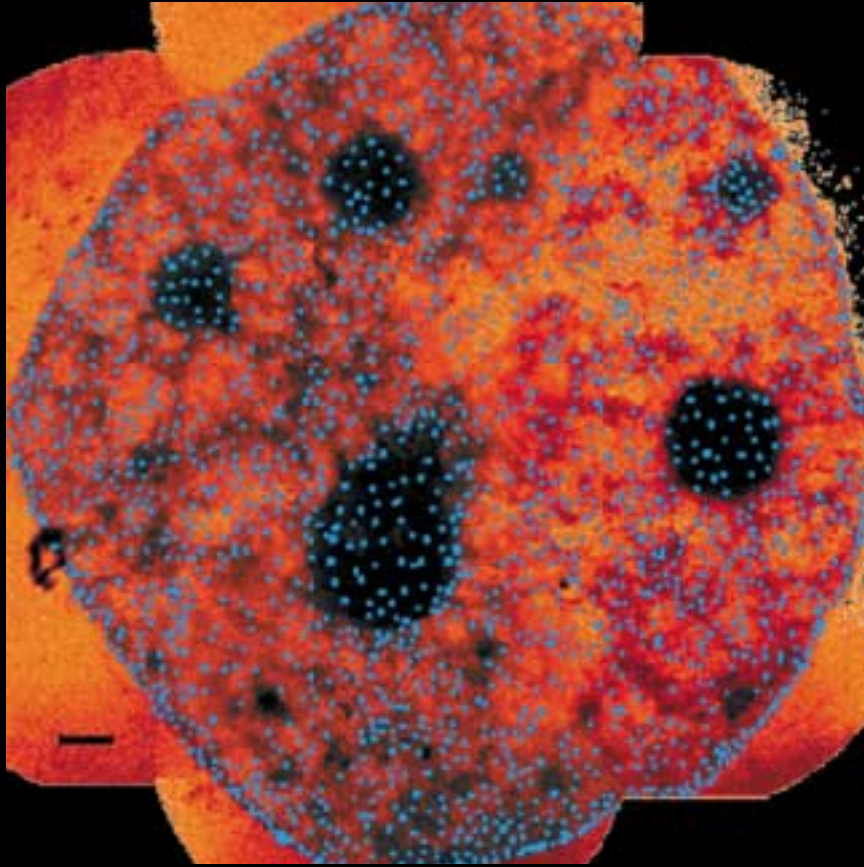
yavru hücrelere aktarılmasıdır. Böylece, toplam 3 milyar kimyasal birimden (nükleotid) oluşan ilk bilgi, sayısı milyarlarla ifade edilen kopyalama işleminden sonra bile, herhangi bir bozulmaya uğramadan gelecek hücre kuşaklarına aktarılabilir. Bu nedenle, normal hücrelerdeki genom sabittir, yani değişken değildir.

Kanserli hücrelerin en önemli ortak

oranlarda değişimler ortaya çıkar. Bazı genler kaybolurken, diğerlerinin sayısı artar. Gen kopyalarının artması (gen amplifikasyonu) sonucu, kanserli hücrelerdeki bazı genlerin sayısının binlere ulaştığı bile gözlenmiştir. Lösemi gibi durumlardaysa, kromozomlar arası parça değişimi (translokasyon) olgusu sıkça ortaya çıkar. Kromozom değişkenliği, şiddetli bir depremin yeryüzünde bıraktığı izler gibi,

bölgesel anormalliklerle kendini gösterir. Buna karşılık, nükleotid değişkenliği, kromozomlarda gözle görülebilen bölgesel değişimler yaratmaz. Değişimlerin çoğu, herhangi bir bölgedeki bir ya da bir kaç nükleotidle sınırlı kalır. Bu küçük değişimler, hissedilmeyen, ancak rasathanelerde ölçülebilen küçük depremlere benzer. Sayıca çok fazladır. Bazı kanserlerdeki nükleotid değişimlerinin sayısı milyonları bulabilir.

Kolayca tahmin edilebileceği gibi, kanser genomlarındaki bu aşırı değişkenlik sonucu, kanserli hücreler bir yandan çok sayıda gen kaybına uğrarken, diğer yandan normal hücrelerde görülmeyen yeni gen formları kazanırlar. Gerek gen kayıpları, gerekse kazanılmış yeni gen formları kanserli hücrelere yeni davranış biçimleri (fenotip) kazandırır. Örneğin, kanserli hücreler, kendi kendine çoğalabilme, ölümsüzlük ve vücut içinde yer değiştirebilme gibi özellikler kazanırlar. Kanserli hücrelere bu yeni özellikleri kazandıran genlerden (kansere genleri)



İnsan meme hücresi: Mavi noktalar, moleküllerin çekirdeğe girip çıktıkları delik örüntüsünü işaretliyor.

özelliği, genomlarının değişken olmasıdır. Bu değişkenlik, kendini iki farklı biçimde gösterir: Mikroskop altında gözlemlenebilen kromozom değişkenliği ve ancak moleküler genetik yöntemleriyle gözlemlenebilen nükleotid değişkenliği.

Kromozom değişkenliği sonucu olarak, kanserli hücrelerde kromozom sayıları kadar, kromozom yapıları da şaşırtıcı derecede değişimler gösterir. Bunun sonucu olarak da, kanserli hücrelerdeki genlerin sayılarında büyük

değişimler ortaya çıkar. Bazı genler kaybolurken, diğerlerinin sayısı artar. Gen kopyalarının artması (gen amplifikasyonu) sonucu, kanserli hücrelerdeki bazı genlerin sayısının binlere ulaştığı bile gözlenmiştir. Lösemi gibi durumlardaysa, kromozomlar arası parça değişimi (translokasyon) olgusu sıkça ortaya çıkar. Kromozom değişkenliği, şiddetli bir depremin yeryüzünde bıraktığı izler gibi, bölgesel anormalliklerle kendini gösterir. Buna karşılık, nükleotid değişkenliği, kromozomlarda gözle görülebilen bölgesel değişimler yaratmaz. Değişimlerin çoğu, herhangi bir bölgedeki bir ya da bir kaç nükleotidle sınırlı kalır. Bu küçük değişimler, hissedilmeyen, ancak rasathanelerde ölçülebilen küçük depremlere benzer. Sayıca çok fazladır. Bazı kanserlerdeki nükleotid değişimlerinin sayısı milyonları bulabilir.



# GENETİĞİ

yaklaşık 50 kadar tanımlanmış durumdadır.

## Kanser Genleri

İnsan kanserlerine yolaçan değişimlerin hedeflediği başlıca kanser genleri, özellikleri itibarıyla 2 kümede sınıflandırılabilir: onkogenler ve tümör baskılayıcı genler.

Onkogen olarak sınıflandırdığımız

genler, kanser geni tanımına uyacak şekilde, buldukları hücrelere kanserli hücre davranışını sağlayan genlerdir. Bu genler ya tek başlarına, ya da birlikte herhangi bir normal hücreye verildikleri zaman, o hücreyi kanserli hücre haline getirebilme gücüne sahiptirler. Ancak, bazı virüs onkogenleri hariç, onkogenler normal hücrelerde önemli işlev-

leri olan proto-onkogenlerin kötü kopyalarıdır. Yukarıda sözünü ettiğimiz genom değişkenliği sonucu, aslında masum olan proto-onkogenlerin yapısındaki küçük bir değişiklik (mutasyon), bu genleri, kanserli hücrelerin aşırı çoğalmasını sağlayan ve denetimden çıkmış asi genlere çevirmektedir.

Proto-onkogenler, bir otomobilin

## Bir Kanserin Genetik Yol Haritası

Bağırsak kanserleri kadında ve erkekte sırasıyla meme ve akciğer kanserlerinden sonra en sık görülen kanserlerdir. Bu kanserlerin yaklaşık %85'inin kalıtımla doğrudan ilişkisinin olmadığı düşünülmektedir. Ancak, geriye kalan %15 kanserde, ailesel kümeleşme, bunların da önemli bir bölümünde kalıtsal gen mutasyonları başlıca neden olarak ortaya çıkmaktadır.

Bağırsak kanserleri, çoğunlukla kalın bağırsak ve rektumun yüzeyini kaplayan epitel doku hücrelerinden kaynağını alırlar. Sindirim borusunun besinlerle temas eden yüzeyinde yer alan epitel doku, aşırı yıpranma nedeniyle, sürekli olarak yenilenen bir dokudur. Bu nedenle, bağırsak kıvrımlarının derinliklerinde saklı olan kök hücreleri düzenli bir biçimde yeni hücreler üreterek, hücre kaybını karşılamaya, böylece barsağın bilinen düzenli pürüzlü yüzeyini korumaya çalışır. Ancak, zamanla ve yaşlanmayla orantılı olarak, bu dengeli yenileme işlemi bozulmaya yüz tutar. Hücre yenileme işlemi, kaybedilen hücre sayısından daha fazla sayıda hücre üretme yönünde bozulduğu zaman, bağırsak yüzeyinde gözle farkedilebilen küçük mecmecikler (polip) oluşmaya başlar.

Poliplerdeki hücrelerde henüz aşırı derecede genomik değişkenlik söz konusu değildir. Ancak bu hızlı çoğalan hücre kümelerinde, APC tümör baskılayıcı geninde mutasyon gözlenir. Normal hücrelerde 2 kopya halinde bulunan APC genlerinden birisinin nokta mutasyonu, diğer kopyasının kaybı olarak gözlemlenen bu değişim, bağırsak kanserlerinin gelişimi yolunda, bilinen en erken genetik bozulmadır. Adenomlu Polipozis Koli (APC) olarak adlandırılan ve çok seyrek olarak görülen kalıtsal bir hastalıkta, ilgili bireylerde APC genlerinden birisi kalıtsal olarak mutant olduğu için, sadece bir adet normal kopya vardır. Bu kişilerde, normal kopyanın kaybı APC geninin etkisiz kalması için yeterli olduğundan, genç yaşta ve çok sayıda bağırsak polipleri oluşur. Bu bireyler, aynı zamanda toplumdaki diğer bireylere göre bağırsak kanseri geliştirmeye daha yatkındırlar. Bu da gösteriyor ki, APC, normal hücrelerin kanserleşmesine engel olan bir gendir. Ancak, sadece APC mutasyonu taşıyan polipler iyi huylu urlar oldukları için, hasta için doğrudan bir tehdit oluşturmazlar.

APC genindeki mutasyon sonucu ortaya çıkan aşırı çoğalmanın başlıca nedeninin, çoğalma sırasında gerekli olan bir genin (cyclin D) APC bozulması sonucu olarak, aşırı miktarlarda üretilmesi olduğu düşünülmektedir.

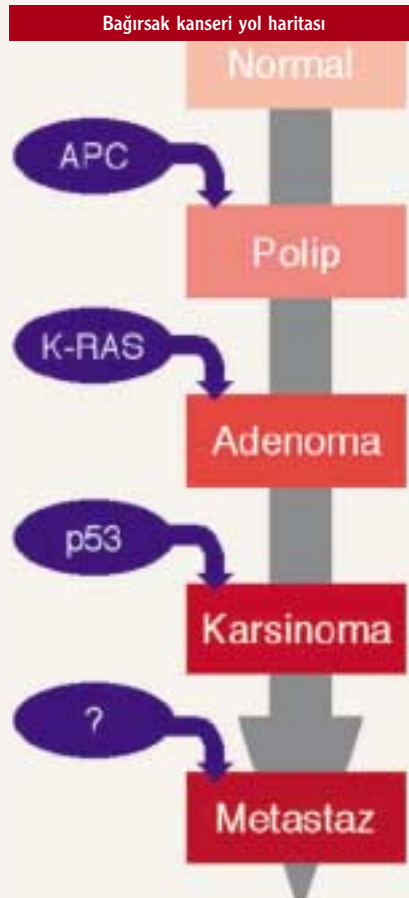
İyi huylu polipler, ameliyat yoluyla alınmadıkları takdirde, aralarından bazıları zaman içinde daha da büyüyerek adenomlara dönüşürler. Bu adenomların ilerlemiş olanlarında, APC genine ek olarak bir başka gende, K-RAS geninde mutasyon gözlemlenir. K-RAS geni, onkogenler sınıfına ait olup, mutasyona uğradığı takdirde hücre dışından her-

hangi bir uyarı olmaksızın hücre çekirdeğine sürekli olarak çoğalma sinyalleri gönderir. Bunun sonucu olarak da, küçük polipler hızla çoğalarak daha büyük, ancak hâlâ iyi huylu olan urlar meydana getirirler.

Adenomların bir sonraki aşamasında, artık hasta için tehlikeli hale gelen karsinomalar oluşur. İşte bu aşamada, üçüncü bir genin, p53 geninin bozulması gözlenir. Aynı zamanda 'genom gardiyanı' olarak da adlandırılan bu genin başlıca görevi, DNA yaralarını takiben, böyle yaraları taşıyan hücrelerin çoğalmasını engellemek, bunun mümkün olmadığı durumlarda, hücreleri öldürmektir. Genom koruyucusu olarak bu kadar önemli bir görevi olan bir genin bozulmasının, hücreye getireceği felaketlerin boyutlarını tahmin etmek kolaydır. p53 geni etkisini yitirdiği zaman, DNA yarası taşıyan hücreler çoğalmaya devam edecekleri için, ortaya çıkacak olan yavru hücrelerde bol miktarda mutasyon oluşacak ve bu hücreler genomik olarak değişken hale geleceklerdir. Aynı zamanda, hücrelerin çoğalma ömrünü ve doku içinde yayılımlarını sınırlayıcı işlevler de taşıyan p53 geninin çalışmaz hale gelmesi durumunda, böyle hücreler önce bağırsak kaslarının içine doğru, daha sonra da dolaşım sistemi yoluyla karaciğer gibi yaşamsal organlara dağılarak, hasta için tehlikesi gittikçe artan bir hızda kötü huylu tümörler oluşturabileceklerdir.

Hiç kuşkusuz, normal bir bağırsak epitelinin kötü huylu bir tümöre dönüşmesi için sadece 3 genin (APC, ras ve p53) değişime uğraması yeterli değildir. Zaten, bu kanserlerde gözlemlenen bazı kromozom değişiklikleri, henüz bilinmeyen ya da önemi belirlenemeyen başka genlerin de bağırsak kanserinin yol haritasında yer aldığına, işaret etmektedir. Ayrıca, yer sorunu nedeniyle burada sözünü edemediğimiz bazı kalıtsal bağırsak kanserleri (HNPCC) bambaşka bir yol haritası izlemektedir.

Sanırım bu örnekler, kanserin, herbiri çok karmaşık olan birçok hastalık türünü tanımlayan bir sözcük olduğu konusunda, okuyucuya bir fikir verebilmiştir. Bu karmaşıklığa karşın, kanser genetiği konusunda bilinenlerden yola çıkarak, doğrudan toplumu ve hastaları ilgilendiren yeni yaklaşımlar ve yöntemler hayata geçirilebilmiştir.



KANSER GENLERİ ONKOGENLER		
Gen	Kanser	Yatkınlık
RAS Genleri	Pankreas	-
	Bağırsak	-
	Akciğer	-
	Endometrium	-
	Lösemi	-
EGFR	Mesane	-
	Gliyoma	-
NEU	Meme	-
	Over	-
	Mide	-
MYC Genleri	Burkit L.	-
	Akciğer	-
	Nöroblastoma	-
BCL-2	B-Lenfoma	-
CYCD1	Meme	-
	B-Lenfoma	-
BCR-ABL	T-Lenfoma	-
SMO	Deri	-
b-CAT	Karaciğer	-
	Bağırsak	-
	Tiroid	-
HST	Melanoma	-
	Mide	-
PML-RARa	Lösemi	-
W2A-PBX1	Lösemi	-
MDM-2	Sarkoma	-
GLI	Sarkoma	-
	Gliyoma	-
TTG	Lösemi	-
RET	Tiroid	MEN2
CDK4	Sarkoma	Melanoma
MET	-	Böbrek

gaz pedalına, onkogenlerse, sürekli gaz basan bozuk bir pedala benzetilebilir. Vücudun gereksinimleri doğrultusunda, herhangi bir dokuda hücre sayısının artması gerektiğinde, bazı proto-onkogenler devreye sokularak, hücre çoğalması sağlanır ve eksiklik giderildiği zaman, ilgili proto-onkogenler susturulur. Diğer bazı proto-onkogenlerse, hücrenin çoğalma ömrünü uzatan ya da hücre ölümünü engelleyen genlerdir. Proto-onkogenlerin tersine, onkogenler hücrede sürekli etkin kalan, susturulamayan genlerdir. Dolayısıyla, onkogenin türüne göre, kanser hücreleri, çevreden bağımsız olarak çoğalıp hayatta kalabilen hücreler haline dönüşebilmektedir.

Tümör baskılayıcı genler, normal hücrelerin kanserli hücre haline dönüşmesini engelleyen genlerdir. Diğer bir deyişle, bu sınıf genler, aslında kanser genleri olmaktan çok, kanser-karşıtı genler olarak algılanmalıdır. Dolayısıyla tümör baskılayıcılar, normal hücrelerde varolan, kanserli hücrelerdeyse kaybedilmiş, susturulmuş, ya da etkisiz hale getirilmiş olan genlerdir. Kromozom değişkenliği bu genlerin kaybında başlıca

TÜMÖR BASKILAYICI GENLER		
Gen	Kanser	Yatkınlık
RB1	BİRÇOK KANSER	Retinoblastoma
p53	BİRÇOK KANSER	Li-Fraumeni
p16	BİRÇOK KANSER	Melanoma
APC	Bağırsak	Bağırsak
MSH2	Bağırsak	Bağırsak
	Endometrium	
MLH1	Mide	
	Bağırsak	Bağırsak
WT-1	Endometrium	
	Mide	
NF-1	Wilm's Tümörü	WAGR
	Melanoma	Denys-Drash
NF-2	Nöroblastoma	Nörofibromatoz I
	Şvanoma	Nörofibromatoz II
VHL	Menenjiyoma	
	Ependimoma	
BRCA1	Böbrek	von Hippel Lindau
	Hemangioblastoma	
BRCA2	Yumurtalık	Meme
	-	Yumurtalık
MEN-1	Meme	Meme
	Paratiriod	Pankreas
PCTH	Hipofiz	MEN1
	Pankreas	
PTEN	Deri	Gorlin's
DPC4	BİRÇOK KANSER	Cowden's
E-CAD	Pankreas	-
	Mide	Mide
	Meme	

nedendir. Ayrıca, tümör baskılayıcı genler de metillenme (metil-CH<sub>3</sub> bağlama) yoluyla susturulabildiği gibi, nükleotid değişkenliği sonucu etkisiz hale gelebilirler.

Tümör baskılayıcı genler kendi aralarında 2 alt sınıfa ayrılırlar. Bunlardan

bir kısmı kanserleşmeyi doğrudan engelleyen genlerdir. Bu genler kanserli bir hücreye geri verildikleri zaman, hücre kanserli özelliğini kaybederek normal haline dönebilir. Bu sınıf tümör baskılayıcı genler, aynı zamanda anti-onkogen olarak da adlandırılır; çünkü başlıca görevleri onkogenlerin oynadığı gaz pedalı işlevine karşılık fren işlevi yapmaktır. Bu genler arasında, hücre çoğalmasını durduran, hücrenin çoğalma ömrünü kısaltan ya da hücreyi intihara sürükleyen genler yer alır.

Tümör baskılayıcı genlerin öteki alt sınıfında yer alan genlerin bozulması, doğrudan kansere yol açmaz. Aslında bu gen sınıfı, normal hücrelerde genom yapısını sabit tutmakla görevlidir; aralarında genetik bilgilerin tutulduğu DNA ve kromozomların tamirini gerçekleştiren işlevlerden sorumlu genler bulunur. Dolayısıyla bu sınıf genlerin yaptığı iş, otomobil tamirciliğinden pek de farklı değildir.

## Kanser Genetiği Uygulamaları

Kanserin genetik özelliklerinin ortaya çıkarılmasından kaynaklanan birçok uygulama, toplumun ve hastaların hizmetine girmiştir. Bu uygulamaların tamamını burada özetlemek, ne yazık ki, mümkün değil. Bu nedenle, değişik uygulama alanlarından bazı örnekler verecek bu yazıyı tamamlamak istiyoruz.

## Kanserde Genomik Değişimlerin Kronolojisi

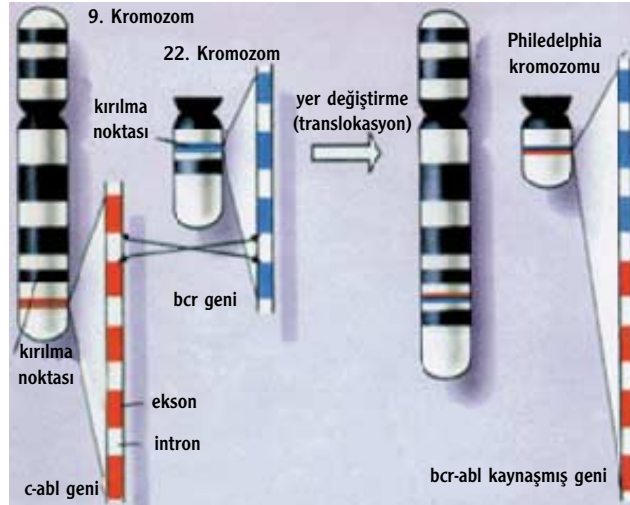
Yukarıda genişçe ele aldığımız gibi, kanser, genetik, yani gen bozulması sonucu ortaya çıkan bir hastalıktır. Ancak, kanseri kalıtsal bir gen bozukluğu sonucu ortaya çıkan genetik hastalıklardan ayıran 2 ana özellik vardır: Birincisi, kanserin oluşumunda, bir tek genin bozulmasının yeterli olmayışıdır. Hastalığın ortaya çıkmasına kadar birçok genin ardı ardına aynı hücre soyunda bozulması gerekir. İkincisi, kanser çoğu kez kalıtsal bir hastalık değildir; kansere yol açan bozuk genler kalıtım yoluyla geçmeyip, doğum sonrasında ve sadece kanserli hücreler içinde ortaya çıkarlar. Zaman zaman, örneğin, bazı meme ve bağırsak kanserlerinde, kalıtım yoluyla anne ya da babadan çocuğa geçen bir bozuk gen, geni taşıyan kişinin kanser riskini aşırı biçimde artırabilir. Ancak, bu tür özel durumlarda bile, ortaya çıkan kanserde birkaç genin daha mutasyona uğramış olması gerekir. Demek ki, normal bir hücreden öldürücü bir tümörün oluşması, genetik açıdan birbirini tamamlayan birden fazla gen bozukluğunu gerektirmektedir.

Sayıları ve türleri kanserden kansere değişmekle birlikte, akciğer, meme ve bağırsak kanseri gibi yaygın görülen kanserlerin oluşması için 6-7, belki de çok daha fazla sayıda genin mutasyona uğraması gerekir. Ayrıca, aynı tümörde hem onkogen, hem de tümör baskılayıcı gen bozuklukları olması olağandır. Olasılık hesaplarına göre, aynı hücrede aynı anda birkaç genin birden bozulması hemen hemen imkansız olduğu için, kanserdeki gen bozuklukları, kronolojik olarak ortaya çıkmak durumundadır ve bu varsayım bazı tümörlerde deneysel olarak kanıtlanmıştır. Sözü ettiğimiz bu genetik kronoloji, aynı zamanda kanserin aşamalı olarak iyi huylu bir urdan, kötü huylu bir tümöre doğru dönüşümünün de temelini oluşturur. Bu aşamalı değişimin yolları, kanser türüne göre değişmektedir ve birçok kanser için ayrıntılı bir yol haritası çizmek henüz mümkün değildir. Bu nedenle, burada ayrıntıları en iyi bilinen bağırsak kanseri örneğini kullanarak, okuyucuya bir fikir vermeye çalışacağız.



Meme ve bağırsak kanserlerine yatkınlık testleri: Kanser genlerinden bazıları kalıtsal yolla anne-babadan çocuklara geçerek kanser riskini artırmaktadır. Dünyanın değişik toplumlarında ve Türk toplumunda da, meme kanseri riskini artıran BRCA1 ve BRCA2 gen mutasyonlarıyla, bağırsak kanseri riskini artıran MLH1 ve MSH2 gen mutasyonları oldukça sık olarak görülmektedir. Bu genlerden herhangi birinde mutasyon taşıyan ailelerde, çocukların yaklaşık %50'si meme ya da bağırsak kanseri için yüksek risk taşımaktadırlar. DNA dizisi incelemesi yöntemiyle bu genlerdeki mutasyonlar, ilgili kişilerden alınan kan örnekleriyle incelenebilmektedir. İnceleme sonuçları yüksek kanser riskini işaret ettiği takdirde, ilgili bireyler yakın tıbbi izlemeye alınarak, oluşabilecek kanserler çok erken evrede yakalanabilmekte, böylece daha etkin tedavi yapılabilmektedir. Ayrıca, isteğe bağlı olarak koruyucu önlemler de almak mümkündür. Ne yazık ki, bu testler yüksek teknoloji gerektirdiği için, ülkemizde çok az sayıda merkezde gerçekleştirilebilmekte ve inceleme maliyetleri çok yüksek olduğu için çok kişi bu testleri yaptıramamaktadır.

Lösemi tedavisinin izlenmesinde moleküler testler: Lösemilerde çoğu kez özgün kromozom translokasyonları oluşmakta ve buna bağlı olarak kanserli kan hücrelerinde anormal RNA molekülleri sentezlenmektedir. İleri moleküler biyoloji teknikleri kullanarak, kan ya da kemik iliği örneklerinde bu anormal moleküllerin bulunup-bulunmadığını saptamak mümkündür. Bu testler, hem hastalığın kesin tanısının konulmasında, hem de uygun tedavi yönteminin seçiminde yol gösterici sonuçlar sağlamaktadır. Ayrıca, oldukça uzun süren lösemi tedavisi sırasında, zaman zaman tedavi etkisiz kalabilmekte ve lösemi hücreleri yeniden çoğalmaya başlayabilmektedir. Böyle bir çoğalmanın, hastalık kendini daha ağır koşullarda göstermeden önce belirlenebilmesi (minimal rezidüel hastalığın tanısı) tedavi başarısını artırıp, hastalık tehlikesini azaltmaktadır. Az önce sözü edilen ileri mo-



**Küçük Philedelphia kromozomu, bir kan kanseri türü olan kronik miyeloid lösemiye yakalanmış hastaların hemen tümündeki kanser hücrelerinde bulunur. Bu kromozom 9. ve 22. kromozomların uzun kollarındaki kırılmadan ve kırılan parçaların, birbirlerinin yerini almasından (translokasyon) bu Ph (Philedelphia) kromozomunda bir kaynaşmış bir genin oluşmasına yol açar. Kaynaşmış gen de, kesilmiş bir mRNA aracılığıyla kaynaşmış bir protein sentezler bu anormal proteinin lösemi oluşumunda kilit rol oynadığı sanılıyor.**

leküler teknikler kullanarak, hastalığın yeniden ortaya çıkıp çıkmadığını çok erken bir evrede belirlemek mümkündür. Bu testler, binlerce normal hücre arasından bir tek kanserli hücreyi belirleyebilecek kadar duyarlı testler oldukları için, lösemi tedavisine yararlı katkılar sağlayabilmektedir. Bir önceki bölümde de belirtildiği gibi, ileri teknoloji gerektiren bu tür testlerin güvenilir koşullarda gerçekleştirilmesi, ülkemizde az sayıda merkezde yapılabilmektedir. Ancak, lösemi testleri, daha önce sözü edilen meme ve bağırsak kanseri testlerine göre nisbeten daha düşük maliyetli testlerdir.

Kanser tedavisinde yeni ilaçlar: Kanserlerin genetik temelleri aydınlatıldıkça, elde edilen bilgilerden yola çıkarak yeni ilaçlar geliştirilebilmiştir. Çeşitli nedenlerden dolayı, geliştirilmesi onlarca yıl alabilen bu yeni kuşak ilaçların en önemli özelliği, kansere yolaçan genetik bozukluğu doğrudan hedef alabilmeleridir. Bu ilaçlardan herceptin, NEU onkogeni pozitif olan meme kanserlerinin tedavisinde etkili sonuçlar vermektedir. Herceptin, NEU onkogeni tarafından kodlanan ve hücre çoğaltıcı bir proteini bloke edici etkisi olan monoklonal bir antikordur (Bkz: Monoklonal Antikorlar, Bilim ve Teknik ...). STI-571 kod adlı diğer bir ilaçsa, BCR-ABL onkogeniyle c-kit ve PDGF reseptörlerinin hücre çoğaltıcı tirozin kinaz etkisini bloke eden küçük bir moleküldür. Bu

molekül BCR-ABL'i pozitif olan bazı lösemilerin tedavisinde çok olumlu etkiler göstermiştir. Önümüzdeki yıllarda bu tür ilaçların sayılarında hızlı bir artış olması beklenmektedir. Böylece, birçok kanserin tedavisinde çok önemli başarıların gerçekleşmesi mümkün olacaktır. Ancak, bu tür yeni kuşak ilaçların pahalı ilaçlar olduklarını da unutmamamız gerekir.

Kanser genetiği, kendilerini bu korkutucu hastalığın temellerini aydınlatmaya adanmış binlerce bilim adamının yıllar süren çabaları sonucunda büyük ölçüde aydınlatılabilmektedir. Önümüzdeki yıllarda, bu bilimsel bulguların uygulamaya konmasıyla, kanserin artık başedilebilir bir hastalık olmasına kesin gözüyle bakılmaktadır. Bu hastalığın bir gün tamamen ortadan kalkması, çok uzak bir hayal olabilir. Ancak, kanser riskinin önceden hesaplanabilmesi ve kanserli hücrelerin özel ilaçlarla yok edilebilmesi, en azından buldukları yerde hapsedilmeleri ve benzeri yöntemlerle, kanserin ölümcül bir hastalığa dönüşme süreci yavaşlatılabilecek, hatta durdurulabilecektir. Böylece, zaten çoğu kez bir yaşlılık hastalığı olarak ortaya çıkan kanserin gelişmesi, 10-20 yıl gibi uzun sürelerle geciktirilebilecek, kanserli hastaların hastalıklarına karşı güvenli ve sağlıklı bir yaşam sürdürmeleri sağlanabilecektir. Kanserlin ölümcüllüğünü ertelemeye dayanan bu yeni yaklaşım, artık hayal olmaktan çıkmıştır. Bilimin kanserle savaşında tanık olduğumuz bu ilk somut başarıyı başkalarının izlemesi de, gerçekçi bir beklentidir.

**Teşekkür:** 1995 yılından bu yana, kanser konusundaki bilimsel çalışmalarımıza maddi destek sağlayan Bilkent Üniversitesi, Bilkent Holding, Türkiye Teknoloji Geliştirme Vakfı, TÜBİTAK, Türkiye Bilimler Akademisi, UNIDO-ICGEB ve TWAS-Üçüncü Dünya Bilimler Akademisi'ne, bilimsel araştırmalarımızda en değerli katkıları sağlayan doktora, master ve lisans öğrencilerimize, akademik, idari ve teknik kadrolardaki iş arkadaşlarımıza teşekkür ederiz.

Yrd.Doç.Dr.Cengiz Yakıcıer<sup>1</sup>  
Prof. Dr. Mehmet Öztürk<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Bilkent Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü BilGen Genetik ve Biyoteknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi  
<sup>2</sup>Türkiye Bilimler Akademisi Üyesi

# MOLEKÜLE ARAŞTIRMA

## DNA Eldesi

Moleküler genetik yöntemlerinde bir nükleik asit (DNA veya RNA) örneğinden yararlanılır. Gerekşinim duyulan miktarlar genellikle birkaç miligram düzeyindedir.

DNA'nın saflaştırılması oldukça kolaydır. Kaynak olarak genellikle kanda bulunan beyaz hücreler (lökositler) kullanılır.

5-10 ml kan, hipotonik (az tuzlu) bir solusyonla hızla karıştırılarak hücreler patlatılır. Çekirdekte bulunan DNA, bir deterjan (SDS, sarkosil) ve bir protein parçalayıcısı olan proteinaz K ile birlikte bir süre 37°C de tutularak, DNA'ya bağlı ve serbest proteinler parçalanır. Fenolkloroformun saflaştırılmasıyla DNA, protein ve diğer moleküllerden ayrılarak saf hale getirilir ve etil alkol ile çöktürülür. Son olarak, çöktürülmüş DNA, yapısını koruyabilecek bir tampon çözelti içine alınarak 4°C'de saklanır.

DNA miktarı, morötesi spektrofotometresi ile belirlenir. 260 nm dalga boyunda 1 birim optik yoğunluk, 50

mikrogram çift sarmal DNA'ya karşılık gelir.

DNA'nın saflığıysa, örneğin nükleik asitlerin ışığı aldığı 260 nm (A 260) ve proteinlerin ışığı aldığı 280 nm'de (A 280) ölçülerek



donukleazları (enzimleri) olarak adlandırılırlar. Bu enzimler, bakterilerin, kendilerine özgü virüslerin (bakteriofajların) genetik maddelerini (DNA veya RNA) 4-8 nükleotidlik özel dizilerini tanıyarak kesen korunma proteinleridir.

## DNA'nın Belli Dizilerinin Çoğaltılması

### 1) Klonlama

DNA'nın incelenmek istenen dizileri kesilerek, aynı restriksiyon enzimiyle kesilmiş plazmitlere aktarılır. Plazmitler, bakte-

A260/A280 değerinin bulunmasıyla saptanır. Saf DNA molekülü için bu değer 1,8'dir. 1,8'in altındaki değerler ortamda bir miktar protein veya peptidin varlığına işaret eder.

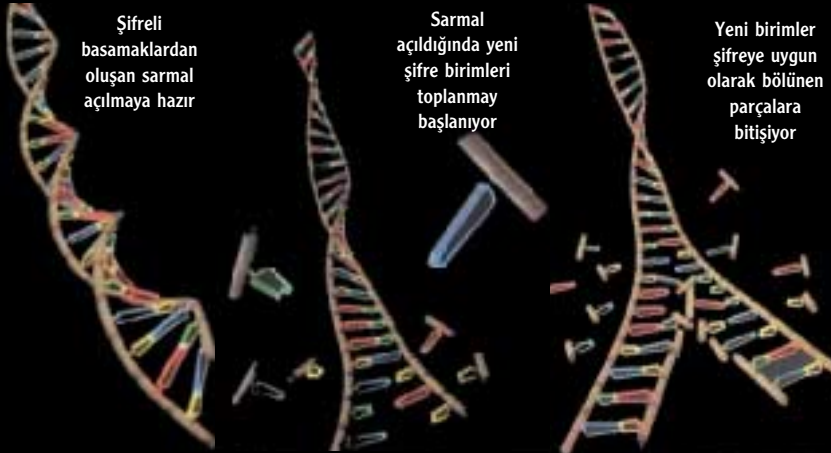
## DNA Molekülünün Kesilmesi

DNA moleküllerini kesmek için kullanılan enzimler, restriksiyon en-

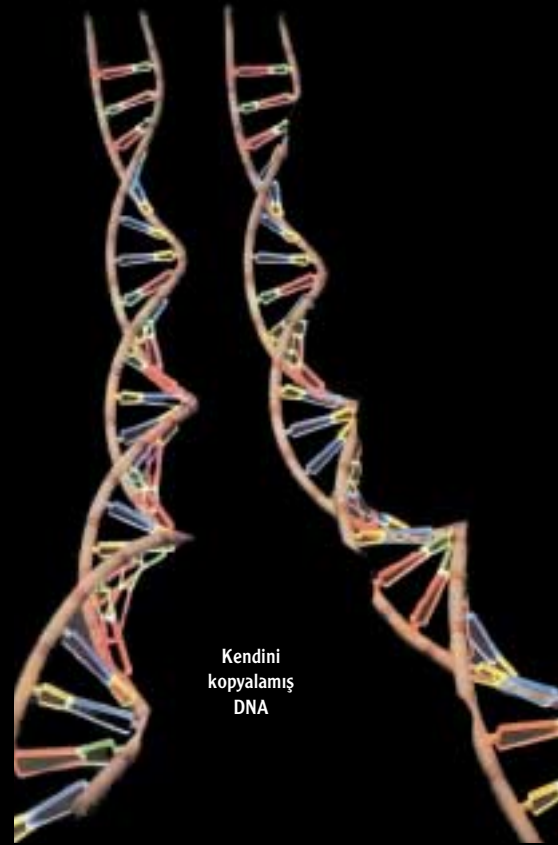
Şifreli basamaklardan oluşan sarmal açılmaya hazır

Sarmal açıldığında yeni şifre birimleri toplanmay başlanıyor

Yeni birimler şifreye uygun olarak bölünen parçalara bitişiyor

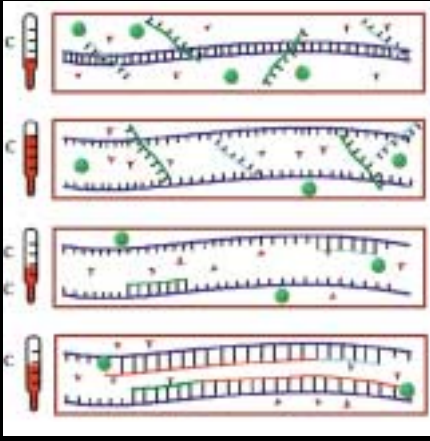


Kendini kopyalamış DNA

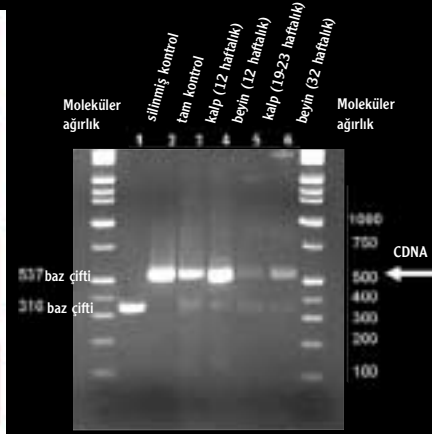




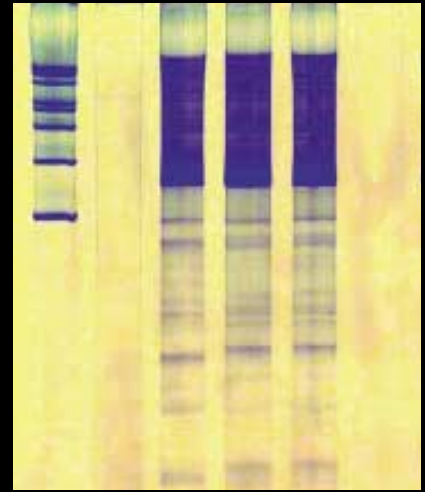
# PCR GENETİK YÖNTEMLERİ



Zincirleme polimeraz reaksiyonunun oluşumu



İnsan cenininden kopyalanmış DNA örnekleri



rilerde bulunan kromozom dışı genetik maddelerdir. Bakteri kromozomuna oranla çok küçük boyutlarda birkaç gen içeren çembersel DNA parçalarıdır. Hücrede bağımsız olarak çoğalabilirler. Hücreden elde edilen plazmitlere, istenen DNA parçası aktarıldıktan sonra, bunlar tekrar bakterilere verilirler. Bu yeni bileşen plazmitler hücre içinde çoğalarak aktarılan (klonlanan) DNA dizilerinin sayılarını artmasına yol açarlar.

## 2) Polimeraz Zincirleme Reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction-PCR)

Polimeraz Zincirleme reaksiyonu, doğanın DNA'yı kopyalamasını taklit eden bir tekniktir. Çift sarmal durumunda olan DNA, bu tekniğin ilk aşamasında yüksek ısıda (90° C) çift sarmal DNA molekülünün eş dizileri birbirinden ayrılır.

İkinci aşamada, ısının 50-60° C'a düşürülmesiyle, ortamda bulunan ve çoğaltılmak istenen DNA dizisinin uç kısımlarına eş 20-40 nükleotidlik yapay DNA dizileri (primerler), ayrılmış DNA dizilerinin eş bölgelerine bağlanırlar ve DNA sentezini gerçekleştirecek proteinin (DNA polimeraz enzimi)

bağlanacağı küçük çift sarmal bölgeyi oluştururlar.

Son aşamadaysa, uygun ısıda (70° C) DNA polimeraz ortamdaki deoksiribonükleotidleri kalıp tek dizi DNaya eşliyerek (A'nın karşısına T, G'nin karşısına C getirerek) yeni bir çift sarmal DNA oluşturur. Yaklaşık 1-4 dakika süren bu üçlü döngü, otomatik ısısız döngü aletinde 30 kez tekrarlanarak DNA molekülünün primerlerle sınırlanmış bir bölgesi milyonlarca kez çoğaltılabilir.

## DNA Dizi Analizi

DNA'nın nükleotid dizisini saptamak için birkaç yöntem kullanılmaktadır. Burada örnek olarak bir yöntem verilmektedir.

DNA, 4 deoksiribonükleotid trifosfat (dATP, dGTP, dCTP ve dTTP) molekülünün birbirine bağlanmasıyla oluşan dev bir polimerdir. Her yeni nükleotid, bir önceki nükleotidin 3'-OH ucuna eklenir.

Dideoksi nükleotid trifosfat (ddNTP) ise 3' OH içermez, dolayısıyla böyle bir molekül DNA sentezi sıra-

sında zincir uzamasını durdurur ve zincirin son nükleotidini oluşturur.

Dizisi saptanacak DNA, tek dizi halinde hazırlanır. Bu kalıp DNA yanına:

- dört deoksiribonükleotidden de (dATP, dGTP, dCTP, dTTP) bol miktarda içeren bir karışım;

- her biri ayrı floresan molekülle işaretlenmiş (ayrı renkler veren) dört dideoksinükleotid trifosfat içeren (ddATP, ddCTP, ddGTP, ddTTP) bir karışım ve

- DNA polimeraz eklenir.

Deoksiribonükleotidler bağlandı-ça DNA zinciri uzamaya devam eder. Rastlantısal olarak dideoksi bağlandığında zincir uzaması durur. Bu yolla farklı boylarda birçok DNA parçası elde edilir.

Sonraki aşamada, karışım molekülleri boylarına göre ayıran jel elektroforesi ile birbirlerinden ayrılırlar. Jel üzerindeki değişik floresan renkler veren bantlar izlenerek, dizi analizi gerçekleştirilir.

Beyazıt Çırakoğlu  
Marmara Üniv. Tıp Fak.ve  
TÜBİTAK GMBAE

# KALITSAL GENETİK

Kalıtıl (genetik) hastalıklar, genlerimizdeki bozukluklardan kaynaklanırlar. Gen bozukluğu çok ender olduğundan, böyle bir bozukluk genelde kuşaktan kuşağa geçerek, genetik yapımızın bir parçası olur. Kalıtıl hastalıkların büyük çoğunluğunda, hastanın annesi ve babası sağlıklıdır. Hatta laboratuvar tetkikleriyle bile, bir klinik bulguya rastlanmayabilir. Bunun nedeni, genlerimizin çift kopya olmaları ve hasta anne-babasından genin sadece tek kopyasının hatalı olmasıdır. Ailede daha önce bir genetik hastalık görülmemişse, böyle taşıyıcılar da taşıyıcı olduklarını bilmezler. Aslında hepimiz bazı kalıtıl hastalıkların taşıyıcısıyız. Her bireyde yaklaşık 50 gende bozukluk olduğu tahmin ediliyor. Ama yaklaşık 35.000 genimiz olduğu göz önüne alındığında, gen bozuklukları sayıca önemsiz kalır. Akriba evliliklerinde taşıyıcılık önem kazanır; çünkü anneye babanın aynı genlerde bozukluk taşıma olasılıkları yüksektir. Dolayısıyla çocuklarının belli bir geninin iki kopyasının da bozuk olma olasılığı çok yüksektir (%25). Erkek çocuklar, bu tür çekinik (resesif) kalıtıl hastalıklara yakalanma açısından daha şanssızdırlar. Tek X kromozomu taşımaları, o kromozomdaki bir gendeki bozukluğun hastalık olarak kendini göstermesine yol açar. Örneğin, Duchenne tipi kas hastalığı 3300 erkek çocuğun birinde görülmesine karşın, bu hastalık kızlarda yok denecek kadar azdır. Anne ve taşıyıcı kız kardeşlerin oğullarında hastalığın çıkma olasılığı %50'dir. X kromozomu geçişli başka genetik hastalıklara/bozukluklara örnek olarak hemofili (kanın pıhtılaşmaması) ve renk körlüğünü örnek verebiliriz.

Kalıtıl hastalıkların bir kısmındaysa hastanın anne ya da babası mutlaka hastadır. Diğer bir deyişle, hastalık her kuşakta görülür. Hastalık zinciri kırılıp, hastalığın bir hastanın çocuğunda görülmesi durumunda, hastalık artık o çocuğun hiçbir çocuğunda görülmez. Baskın (dominant) dediğimiz bu hastalıklar daha nadirdir. Kuşaktan kuşağa geçebilmesi için, bir baskın hastalık ya ölümcül hastalık olmamalı, ya da geç yaşta

ortaya çıkmalıdır. Erken öldüren bu tür bir hastalığın kuşaktan kuşağa geçme şansı yoktur.

Kalıtıl hastalıkların bir kısmıysa ne çekinik, ne de baskındır. Onlar birçok gendeki bozukluktan, hatta çevre et-

menlerinin de katkılarıyla ortaya çıkarlar. Bunlara örnek olarak bazı kalp hastalıklarını verebiliriz.

Her gen bozukluğu hastalığa neden olmaz. Bazıları renk körlüğü ve bitişik parmaklar gibi, yaşamı çok az etkileyen kusurlar olarak ortaya çıkarlar. Bazılarına, bazı toplumlarda istenen özellikler bile ortaya çıkarabilir. Gözün iris tabakasında kahverengi pigmentin yapımı için gerekli enzimlerden biri bozuksa, göz mavi olur.

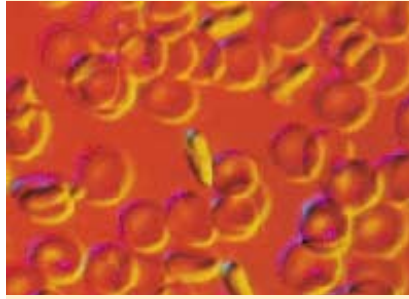
Bazı kalıtıl hastalıklar yaygındır; sık görülürler. Bazılarına yalnızca belli ülkelerde siktir. Örneğin hemoglobin genindeki bozuklukların yol açtığı talassemi hastalığı, Akdeniz, Afrika ve Hindistan'da yaygındır. Kıbrıs halkının %14'ü çekinik geçişli bu hastalığın taşıyıcısıdır. Taşıyıcılığın bu kadar sık olması nedeniyle, evlenecek çiftlere taşıyıcılık testi zorunluluğu konulmuştur. Bu test, kolayca kan örneğine uygulanabilmektedir. Ancak kalıtıl hastalıkların büyük çoğunluğu için bu tür bir test yoktur, taşıyıcılık ancak hastalıktan sorumlu gende bir bozukluğun bulunmasıyla belirlenir. Bu da masraflı, zaman alan ve çok daha zor yöntemlerin uygulanmasını gerektirir.

Taşıyıcılık belirlenebilirse, taşıyıcı anne-babanın çocukları %25 olasılıkla hasta olacağından, embriyo anne karında 10. haftalıkken, torbanın dışından alınan çok ufak bir parçada gen incelenerek bir bozukluk bulunup bulunmadığı saptanabilir. Doğum öncesindeki bu tanı sonucunda, aile hamileliğin sonlandırılıp sonlandırılmamasına karar verir. Bu tür bir uygulama için hastalığın ağırlığı göz önüne alınır. Örneğin, bir aile sağlıklı için bu uygulamayı yapmak istememişti.

## Yaygın Hastalıklar

Bazı kalıtıl hastalıklar dünya çapında ya da belli coğrafi bölgelerde çok yaygındır. Buna bir örnek olarak sistik fibrozisi verebiliriz. Bu hastalığın batı toplumlarında çok yaygın olduğu bilinmektedir; hastalık 2000 kişiden birinde görülür. Tekrarlayan akciğer enfeksi-

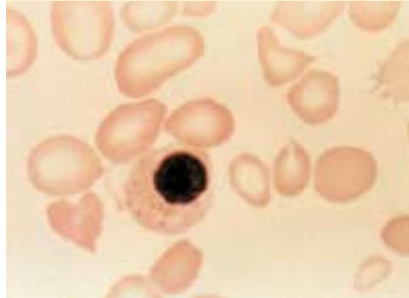
## Thalassemi Hastalığının Nedenleri



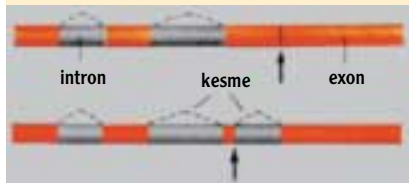
Akdeniz ülkelerinde yaygın bir kansızlık biçimi olan talassemi hastalığı, kesilme (splicing) sürecindeki oluşan hatalardan kaynaklanır.



Normal kırmızı kan hücreleri, akciğerlerden oksijen taşıyan hebglobinin önemli bir parçası olan beta-globinin doğru kesilmiş kopyalarını taşırlar.



Thalassemi hastalarında kırmızı kan hücrelerinin biçimleri bozulmuştur. Bazen bu hücreler olgunlaşmamış biçimde bulunurlar ve bir hücre çekirdeği içerirler (normalde alyuvarlarda hücre çekirdeği bulunmaz). Bu durum, beta-globin genindeki bir nokta mutasyondan kaynaklanır. Sonuçta, hatalı bir beta-globin proteini sentezlenir; bu da akut kansızlığa yol açar.



Oklar beta-globin geninde talassemi hastalığına yol açan nokta mutasyonlarının oluşabileceği noktalara iki örnek gösteriyor.

# İK HASTALIKLAR

yonu, ishal, yağlı dışkı, gelişme geriliği ve terde yüksek tuz hastalığın önemli belirtileri olmakla birlikte, genelde hepisi birarada gözükmediğinden, hastada tanının konulması zordur. Beş-on yıl öncesine kadar toplumumuzda hastalığın çok nadir olduğu sanılıyordu. Hastalığa özgü klinik belirtiler sergileyen hastalardan kan örneği sağlamak amacıyla, tıp doktorlarıyla işbirliği yaptık. Moleküler genetik çalışmalarımız sonucunda, hastalığın toplumumuzda yaygın olduğu anlaşıldı. Toplumumuzdaki gen bozukluklarının türünü belirlediğimiz gibi, on-onbeş ailede fetusta genetik tanı amaçlı analizler yaptık. Bazı ailelerde küçük kardeşin de hasta olup olmadığını anlamak için analiz yaptık; çünkü, hastalık belirtileri çocuklarda tam olarak ortaya çıkmıyordu.

## Nadir Hastalıklar

Yaygın kalıtsal hastalıklardan sorumlu genlerin büyük çoğunluğunun bilinmesine karşın, ender hastalıklar için durum böyle değil. Bir hastalıktan sorumlu gen şöyle tarif edilebilir: Belli

bir işlevi olan gen, yapısındaki bozukluk nedeniyle proteini hatalı kodlar hale gelmiştir. Bilindiği gibi, proteinler genler tarafından kodlanırlar. Örneğin, kas hücresi için zorunlu olan distrofin proteinini kodlayan distrofin genindeki bir bozukluk, distrofin proteininin yapılamamasına neden olur. Sonuç olarak da, kas hücreleri bozulur; bir kas hastalığı ortaya çıkar.

Ender bir hastalığın sorumlu genini bulmaya yönelik genetik araştırmalar, günümüzde çok önem kazanmıştır. Önce geniş bir aile ya da birçok küçük ailede genetik araştırmayla genin yeri, yani hangi kromozomun neresinde olduğu saptanır. Daha sonra, veri bankalarındaki bilgiler ışığında o bölgedeki genler araştırılır. En uygun aday gen belirlenerek, genin hastalardaki yapısında bir bozukluk olup olmadığı incelenir. Gende bir bozukluk bulunursa, o genin hastalıktan sorumlu olduğu anlaşılır. Laboratuvarımızda da sürdürmekte olduğumuz bu tür araştırmalar sonucunda, hem hastalıklardan sorumlu genler bulunmakta, hem de genlerimizin işlevleri anlaşılmaktadır. Kanserler-

den sorumlu genler bile bu şekilde bulunabilmektedir. Evrim sürecinde kanser oluşumunu engelleyen genler oluşmuştur. Bu tür birçok gen bilinmektedir. Bazı ailelerde böyle bir genin yapısı bozuktur ve bu, kuşaktan kuşağa geçer. Bu kişilerde kanser oluşma olasılığı yüksektir.

## Ailede Genetik

Bir hastada genetik bir hastalıktan kuşulanılıyorsa ve hastalıktan sorumlu gen belliyse, önce hastanın o geninde bir bozukluk olup olmadığı araştırılır. Genin bozuk olduğu belirlenirse, hastalığın genetik tanısı konulmuş olur. Genetik tanı, klinik tanının aksine, çok kesindir. Çünkü birçok hastalık, benzer klinik işaretler verir. Örneğin, kol ve bacakların "O" biçimini almasına neden olan hastalıktan sorumlu bir düzine gen biliniyor. Bu genlerin herhangi birindeki bozukluk, bir diğerkindeki bozuklukla aynı klinik tabloyu sergiler. Ailedeki hastalıktan sorumlu genin saptanmasıysa, taşıyıcı bireylerin belirlenmesine ve riskli gebeliklerde doğum öncesinde tanıyı mümkün kılar.

Genetik tanının hastaya yararı nedir? İlk olarak, hastalığın tedavisi varsa, hasta ondan yararlanabilir. Örneğin, bebekteki ishal sistik fibrozisten kaynaklanıyorsa, bunun tedavisi enfeksiyonlarınkinden çok farklıdır. Bazı hastalıklar için gen tedavisi de mümkün olmaktadır. Gen tedavisinde hedef, gerekli dokuya genin bozuk olmayan bir kopyasının verilmesidir. Bu düzgün kopya, hücrenin genetik dokusunun bir parçası konumuna girip hastalığı ortadan kaldıracaktır. Bu yöntem şimdilik en iyi şekilde bazı kan hastalıkları için uygulanabilmektedir.

Genetik tanı, taşıyıcıların belirlenmesi, tedavi gibi, genetik ve tıp bilimlerinin sunduğu hizmetlerden hastanın yararlanabilmesi için, hastalıktan sorumlu genin belirlenmiş olması gerekir.

Prof. Dr. Aslı Tolun  
Boğaziçi Üniv. Moleküler Biyoloji ve Genetik Böl.  
TÜBA Üyesi

