



Bir gene karşılık olan DNA bölümlerinin belirlenmesi için, özel sondalar kullanılmaktadır. Bu sondalar radyoaktif olup, sadece aradığımız bölümlere yapışma özelliğine sahiptirler. Bunların radyoaktif oluşu, onları gözleyebilmemize ve böylelikle DNA bölümleri arasında incelemek istediğimiz gene karşılık olanı tecrit etmemize imkân vermektedir.

GENETİK PARMAK İZİ

- İngiltere'den sonra, Amerika Birleşik Devletleri'nde de bir suç failini bıraktığı genetik parmak izinin incelenmesi ile ortaya çıkarmak mümkün olmuştur. Bu izler, biyolojinin yeni silahı olan moleküler sondalar sayesinde tespit edilebilmektedir. Aynı usulle bir çocuğun babası belirlenebilmekte, kalıtsal ya da bulaşıcı hastalıklar teşhis olunabilmekte veya bir sığırın cinsiyeti önceden anlaşılabilmektedir.

Corinne JAMMA

1901'de Alphonse Bertillon tarafından uygulanmaya başlanan parmak izi metodu, kriminolojide yeni bir çıkış açmıştı. 1988'de ise, genetik parmak izi denen yeni bir teknik adli tıpta hemen hemen aynı ölçüde bir heyecan yaratacağı benziyor. Bugün, sadece bir saç teli, bir damla kan ya da spermadan veya biyolojik bir doku parçasından yararlanarak bir kimsenin genetik kimliğini belirlemek mümkün olabilmektedir. İngiltere'de aynı usul babalığın tesbitinde kullanılmaktadır. Nükleik (çekirdekse) ya da moleküler sondalama denen bu yeni teknik, moleküler biyolojinin en son buluşlarından biridir.

Son uygulama, anılan tekniklerin daha geniş ölçüde tanınmasını sağlamıştır ama, moleküler sondalar aslında on senedir genetikçilerin vazgeçilemez bir yardımcı malzemesidirler. Bunların uygulama alanı ise giderek genişlemektedir. Sözü geçen usuller, insanın genetik yapısının incelenmesinde güçlü bir yardımcı, kalıtsal ve bazen de bulaşıcı hastalıkların teşhisinde eşsiz bir araçtır. Bu yöntemle aynı zamanda, sığırların cinsiyeti önceden belirlenebilmektedir. Bu sayede, hayvan yetiştiriciler ileriki yıllarda ineklere isteğe göre erkek ya da dişi embriyon aşılayabileceklerdir. Görülüyor ki, moleküler sondalar hayvan yetiştiriciliği, tıbbi teşhis ve adli davalar gibi birbirinden tümüyle ayrı alanlarda yararlı olabilmektedir. Onun için, bunların özelliklerini anlamamızın ve yeni genetik inceleme usulleri ile tanışmamızın vakti çoktan gelmiş bulunuyor. Ancak daha önce bu sondaların kökeni olan ve çarpışık adına rağmen artık tanıdığımız bir özel molekülün, yani DNA'nın (desoksiribonükleik asit) yapısını biraz açıklamamız gerekir. Bizim genetik yapımızın temel direği olan bu asit, 30.000 - 50.000 gen ihtiva etmektedir. Genler bummuzun biçimi ya da gözlerimizin rengine varıncaya kadar bütün özelliklerimizi belirlerler ve organizmamızın işlemesi için gerekli olan bilgileri saklarlar.

1953'te Watson ile Crick, DNA molekülünün çift helikon yapısını ortaya çıkardılar ve kendilerine bu buluşlarından dolayı 1962 yılında Nobel Ödülü verildi. Molekül, bükülmüş spiral bir merdiven biçimindedir. Merdivenin trapezolan, bir dişi fosfat ve bir şeker olan dezoksiribozdan oluşur. Merdivenin basamaklarında baz çiftleri yer almaktadır. Bunlar dört tanedir: Adenin (A), Sitozin (C), Guanin (G) ve Timin (T). Adenin daima Timin'e, Sitozin de daima Gua-

nin'e bağlanmıştır. Bundan dolayı, ATGCT gibi bir yarım basamak dizisinin karşısında TAACGA dizisi bulunacaktır. Onun için, bu iki DNA bölümü birbirinin bütünleyicisidirler. Sözü ettiğimiz dört baz, genetik alfabenin harflerini meydana getirir. Bu harfleri üçer üçer bir araya getirerek bizim özvarlığımızı belirleyen genetik mesajın kelime ve cümlelerini okuyabiliriz. Bir bilgiyi ifade eden DNA dizisi olan bir gen, aslında üç harflık kelimelerden meydana gelen bir cümledir ve genetik kodu meydana getirmektedir. Böyle bir cümleyle verilen bir emrin sonucunda, hücre bir protein üretmektedir. Bu protein, mesela bir enzim, bir hormon ya da bir antikör olabilir. Bir kelime, yani bir baz üçlüsü, amino asit denen bir protein birimine karşılık olur. Üçlülerin gen düzeyinde sıralanışı ile, belirli bir proteinin karakteristiği olan kendine özel amino asitler zinciri ortaya çıkar.

Tersine, yapısını bildiğimiz bir proteinden hareket ederek genetik koddan yararlanmak suretiyle cümleyi ortaya çıkarmak, yani proteinin üretimini sağlamış olan gen dizisini bulmak mümkündür. Böylelikle kimyasal sentez yoluyla bu gene karşılık olan DNA bölümünü yeniden oluşturmak ve onu mesela Fosfor 32 ile radyoaktif olarak işaretlemek imkânımız vardır. Dolayısıyla bizim binlerce genden yapılmış mikroskopik kalıtsal malzeme yığınımız arasında tek bir geni bile izleyebiliriz. Şimdi bu moleküler sondaları nasıl kullandığımızı anlatalım: Daha önce dediğimiz gibi, DNA'nın iki bölümü, birbirini bütünleyicidir. Özellikle ısıtma yoluyla bu iki bölüm birbirinden ayrılabilir. Böylelikle DNA, çifte helezonun yarısı olan yalınkat biçimine girer. Bu da parçalara kesilebilir ve parçalardan her biri kendisinin bütünleyicisi ile birleşerek çift sarmallı DNA'yı yeniden oluşturmak özelliğine sahiptir. Moleküler melezleme (hibritleme) denen bu olay, nükleik sondaların kullanılışında yararlandığımız ana esastır. Nitekim, bir proteinden üretilmiş bir sonda, binlerce DNA parçası arasından sadece bu proteinin karakteristik genini ihtiva eden DNA parçasına bağlanacaktır. Modern genetik bir geni tecrit edebilmek için çoğunlukla bu yoldan yararlanılmaktadır.

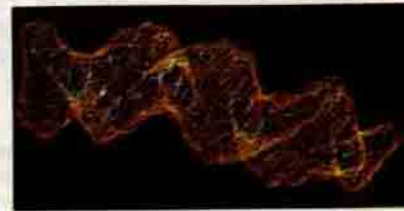
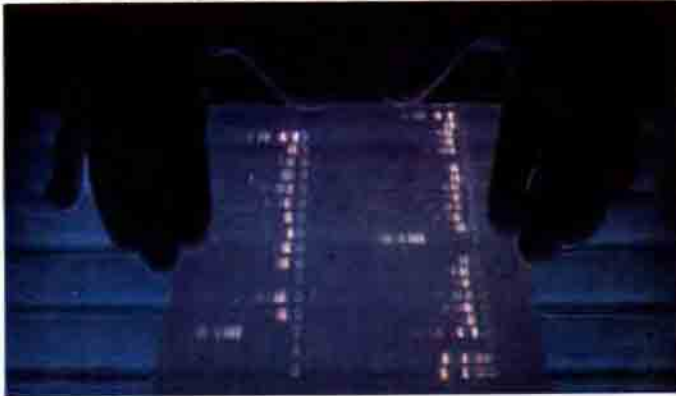
Görmüş olduğumuz gibi, moleküler sondalar

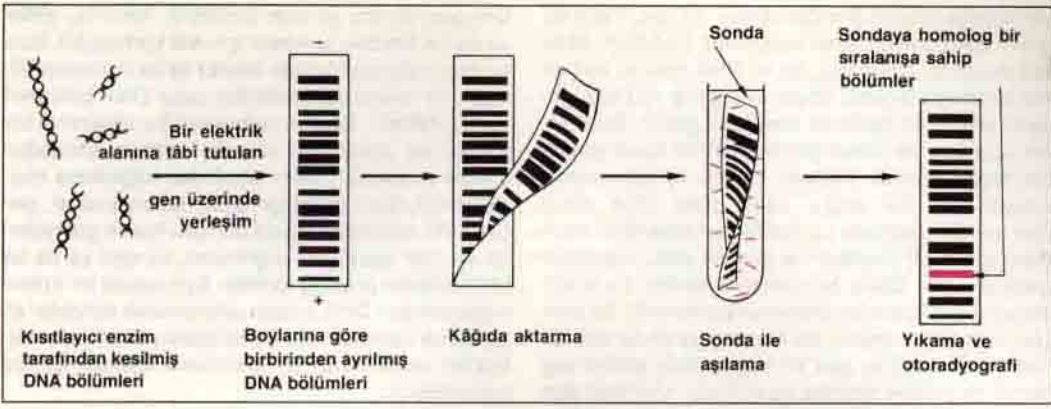
kimyasal sentez ile elde olunabilir; fakat bu, sadece küçük boydaki sondalar için söz konusudur. Bunlar bazı hallerde biyolojik sentez ile de üretilebilmektedir. Bir bakteriye genlerden yapılmış DNA bölümleri yerleştirilebilir. Bakteri çoğalırken bu aşılanmış bölümleri de üretir. Bu sayede, istenen sondadan önemli miktarda üretim yapılması sağlanmış olur. Yüksek ölçüde uzmanlaşmış bazı laboratuvarlar, gerçek birer moleküler sonda bankası haline gelmişlerdir ve özel olarak bir kromozom, bir gen ya da bir DNA bölümü üretmektedirler. Aynı usulle bir mikroorganizmanın DNA'sından yararlanarak sondalar elde etmek mümkündür. Bu sondalar, belirli bir virüs, bakteri ya da parazitin kültürlerini izlemek için de kullanılabilir.

Moleküler sondalar, kendilerini bütünleyen özel DNA dizilerini yakalayan bir olta iğnesi ve eşsiz bir analiz aracıdır. Başvurulan usul, önce analiz etmek istediğimiz bir canlının DNA'sını bölümlere ayırmaktır. Bu da DNA'yı belirli noktalardan parçalayan ve 1970'te keşfedilmiş olan moleküler makaslar ile gerçekleştirilmektedir. Bu moleküler makaslar, kısıtlayıcı enzimlerdir. Daha sonra, karışım bir jele yerleştirilmekte ve bir elektrik alanına tabi tutulmaktadır. Alanda parçalar boylarıyla orantılı olarak kutuplara hareket etmektedir. Bunun üzerine karışım jele bir sünger kâğıdı gibi kapatılan bir yapıya geçirilmektedir. Bölümler yaprak üzerinde boylarıyla orantılı olarak yerleşmiş çok sayıda DNA bandı biçiminde yer almaktadır. Birkaç saat sonra, yapıya önemli miktarda moleküler sonda eklenmektedir. Eğer teşhis olunmasını istediğimiz DNA bölümü yapıya yoksa, yapıya yıkadığımız zaman, bir yere bağlanmamış olan sonda akıp gidecektir. Eğer aradığımız DNA bölümü yapıyatsa, sonda yapıya yapışacak ve melezlenme olayı radyoaktif iziyle ortaya çıkarılabilecektir. Daha da açık söylersek, yaprak üzerinde aradığımız bölüm ve onun bütünleyicisi olan sondanın birleşmesini gösteren bir bant gözlenecektir. Eğer elimizde şu veya bu gen ya da DNA bölümüne özel bir sonda varsa, belirtmiş olduğumuz teknikte aradığımız gen ya da bölümü belirlememiz mümkün olur.

Morötesi ışınlarıyla DNA görünür hale getiriliyor.

DNA'nın çifte helezonu.





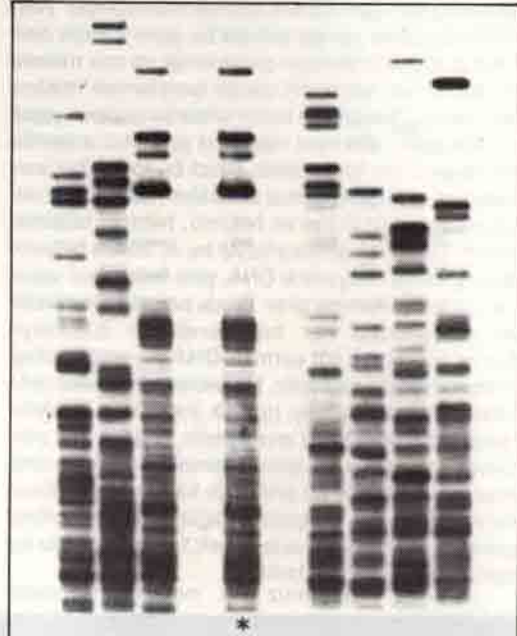
MOLEKÜLER MELEZLEME USULÜ

Uygun bir moleküler sonda kullanarak, istediğimiz DNA bölümünü "avlayabiliriz". Böylelikle 10 haftalık bir embriyonun hücrelerinde anormal bir genin varlığını ortaya çıkarabilmemiz, bir bakteri ya da virüsü DNA analizi ile teşhis etmemiz ya da diğerleri arasında bir kişinin genetik parmak izini belirlememiz mümkün olur.

İşte böylece, kişilerin genetik parmak izleri ortaya çıkarılabilmektedir. 1985'te İngiliz Alec Jeffreys, DNA'da onlarca kere tekrarlanan ve "minisatellit" denen motifler olduğunu gösterdi. Tekrarlanan bu motiflerin sayısı, çok kere insandan insana değişmektedir. Bu motiflerin sayısındaki bir değişiklik, kendini bunları ihtiva eden bölümlerin sayısındaki bir değişiklik şeklinde gösteriyor. Dolayısıyla her kişinin karakteristik boyda minisatellitli bulunmaktadır. Minisatellitler büyük ölçüde değişebileceğinden, her kişinin kendine özel boyda bir bölümler dizisi olacaktır. Yukarıda belirtilen usul sayesinde, minisatellit dizisine karşılık olan bantlar ile onlara özel olan radyoaktifleştirilmiş sondaları ve yaprak üzerinde her bir kişiye özel dizilişlerini gözleyebiliriz. Bu diziliş, genetik bir kimlik kartı gibidir. Cinsiyeti aynı olup da aynı genetik parmak izine sahip iki kişinin bulunması ihtimali, dört milyonda birdir. Sözünü ettiğimiz teknik, İngiltere'de Cellmark Diagnostics firması tarafından piyasaya sürülmüş olup, sadece 1000 Frank (yaklaşık olarak 227.000 Türk Lirası) gibi nisbeten düşük bir ücret karşılığında babalık incelemesi yapılmasına imkân vermektedir. Bir insanın genetik malzemesinin yarısı babasından geldiğinden, bir çocuk ile babası arasında ortak bantlar mevcuttur.

Nasıl sadece bir kimseye özel DNA dizilişleri varsa, sadece erkeklerde olan Y kromozomuna özel DNA dizilişlerine de rastlanmıştır. Fransız Millî Tıp Araştırmaları Enstitüsü (INRA), sığırlardaki Y kromozomuna özel olan ve sekiz günlük bir embriyonun cinsiyetini belirlememize imkân veren bir sonda geliştirmiş bulunmaktadır.

Vermiş olduğumuz iki örnek, yani genetik parmak izi ve cinsiyetin belirlenmesi, artık moleküler sondaların kullanılışı için ne kadar geniş alanlar açıl-



BİR SUÇLUNUN GENETİK PARMAK İZİYLE TEŞHİSİ

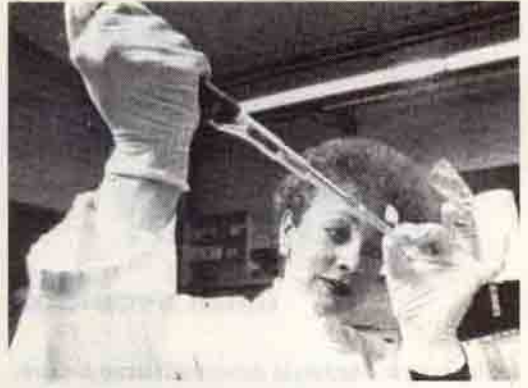
Bu sekiz genetik izden biri, suç mahallinde bulunan bir kan damlasından alınan hücrelerden elde edilmiştir. Bu sayede, genetik parmak izi buna tatıp uyan suçlu (3 numaralı sanık) teşhis olunabilmiştir. Böylelikle Robert Melias, babasının araştırılması için de kullanılabilen bu usulle suçluluğu belirlenen ilk kişi olmuştur.

miş olduğunu göstermektedir. Bu sondalar, bir DNA şeridindeki bilgiler kadar değişik olabilir. Ancak en önemli rolü tıbbi teşhis alanında oynayacaklardır.

Bu DNA avcılığı sayesinde, gebeliğin onuncu haftasından başlayarak daha şimdiden on kadar kalımsal hastalığın doğum öncesi teşhisi yapılabilmektedir. Bazı sondalar, bir kan hastalığı olan *orak hücreli anemiye*, ağır solunum ve sindirim hastalıklarına yol açan *mukovisidoza*, felç ve bazen ölüme kadar giden *Duchenne miyopatisine* sebep olan genleri ortaya çıkarabiliyor. Kalıtım hastalıklarının sayısının üç binden fazla olduğu tahmin edilmektedir ve araştırmalar bunlar üzerinde yoğunlaştırılmıştır. Asıl bu alanda moleküler sondalardan daha çok şey beklenmektedir. Konserolojide de çok işe yarayacaklardır; çünkü bunlar onkojen denen kanser genlerinin analiz ve teşhisinde aynı biçimde eşsiz birer yardımcıdır.

Moleküler sondalarla bulaşıcı hastalıklara sebep olan mikroorganizmaların izlenmesinin geleceği de umutlu görünmektedir. Belki özelleşmede onları geçen monoklonal antikorların yerini alamayacaklardır ama, bu antikorlar DNA'ya uyarlanmadıklarından, moleküler sondalar kendi genetik malzemelerini bizim hücrelerimize aşıl原因 virüslerin, meselâ rahim kanserine yol açan *papilloma* virüsünün ya da *hepatit B* virüsünün izinin ortaya çıkarılması çabalarında özellikle etkili olabileceklerdir. Moleküler sondalar, diğer çeşitli parazitlerin ve gıda maddelerinde üreyen *Salmonella* gibi bakterilerin teşhisinde de kullanılabilirler.

Moleküler sondalar geleceğin teşhis araçları olacak ve monoklonal antikorların bize şimdiden sağladığı geniş imkânları bütünüyleceklerdir ama; bugün için, ancak duyarlı aletlerle donatılmış ve çok uzmanlaşmış laboratuvarların işi olarak kalmaktadırlar. İleride radyoaktif olmayan moleküller tarafından işaretlenmiş "soğuk" sondaların geliştirilmesi ve



BİR DNA ÖRNEĞİNİN DOZAJI

Moleküler melezlemenin bir safhası : Bir elektrik alanına tabi tutulan jel üzerine yerleştirilmiş DNA bölümleri, boylarıyla orantılı olarak kutuplara doğru hareket edeceklerdir.

özellikle moleküler melezleme usullerinin otomatikleştirilmesi ile moleküler sonda uygulamasının genelleştirilmesi sağlanabilecektir. Çeşitli sanayi şirketleri bu usulleri basitleştirmeye çalışmaktadırlar ve şimdiden bazı başarılar sağlamışlardır. Applied Biochemical firması, bir DNA ekstraktörünü piyasaya çıkarmıştır. Otomatikleştiricilerin buluşları ve teknolojik ilerlemeler sayesinde, moleküler sondalar ileri yıllarda şüphesiz olağan temel deney aracı haline gelecek ve tıp ile veterinerlikteki teşhis kadar, tarım ve gıda alanında da kullanılacaklardır. Moleküler sondaların teşhiste kullanılması henüz başlangıç aşamasındaysa da, Biofutur dergisine göre, bunların satışının 1992'de 600 milyon Dolara (yaklaşık 780 milyar Türk Lirasına) hatta 1 milyar Dolara (yaklaşık 1 trilyon 300 milyar Türk Lirasına) erişeceği tahmin olunmaktadır.

Sciences et Avenir'den çev.: Dr. Ergin KORUR

SİZ OLSAYDINIZ?

Satranç Dünyası'ndaki soruların cevapları

Çözüm I :

1..Kh1 2.Fxh3 Vh3!! 3.Sxh3 Vxh1 4.Sg4 f5 5.Sf4 Ve4 mat. (Kourkounakis-Flear, Kreta 1984)

Çözüm II :

1.Axf7! Sxf7 2.dxe6 Sf8 (2..Sxe6 3.Fxb7 Axb7 4.Ve4 ve 5.Vxb7 ya da 2..Se7 3.Fxb7 Axb7 4.Fg5 Ff6 5.Ad5 Sf8 6.Fxf6 Axf6 7.e7) 3.Fxb7 Axb7 4.Ad5 Fe5 (4..Ac5 5.Vf4 Ff6 6.e7 Axe7 7.Vxf6) 5.Kc7 kazanır. 6.Kf7 önlenemez. (Castagna-Herold, Biel 1984)

Çözüm III :

1..Ad4! 2.cxd4 Fg4 3.Vxb7 Kab8 4.Vxa7 Vxb1! 5.Kxb1 Fb4 mat. (Srinivas-Ravikumar, Warangal 1984)

MOLEKÜLER MELEZLEMENİN BİR SAFHASI

Bir elektrik alanına tabi tutulan jel üzerine yerleştirilmiş DNA bölümleri, boylarıyla orantılı olarak kutuplara doğru hareket edeceklerdir.

