

Yeni Nesil CRISPR Teknikleriyle İki Önemli Gen Tedavisi Denemesi

İlay Çelik Sezer [TÜBİTAK Bilim ve Teknik Dergisi



Yaygın olarak kullanılmaya başladığından beri biyoteknolojide çığır açan CRISPR adlı gen değiştirme yöntemi, son zamanlarda türünün ilk örneği niteliğindeki bazı tıbbi tedavi uygulamalarıyla adından söz ettiriyor. Mucidi bilim insanlarına 2020’de Nobel Kimya Ödülü’nü kazandıran bu güçlü yöntem bilim dünyasına tanıtıldığı 2012’den bu yana geliştirilmeye devam etti. Daha etkili ve daha hassas yeni versiyonları oluşturuldu ve bu sayede de tıbbi uygulamalarda kullanılmaya başlandı. CRISPR’ye dayalı gen değiştirme yöntemlerinin çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanıldığı çok sayıda klinik deneme yapılıyor. Hatta klinik onay alan CRISPR temelli iki tedavi bile var. 2025 yılının mayıs ayında duyurulan iki klinik deneme de CRISPR’ye dayalı yöntemlerle ilgili birer “ilk” niteliğindeydi.

Daha önceki gen değiştirme yöntemlerine göre daha kolay uyarlanabilirliği ve kullanılabilirliği, canlı sistemlerde uygulanmasının çok daha kolay oluşu, çok daha düşük maliyetler gerektirmesi ve genel olarak daha etkili bir sistem olması sayesinde CRISPR, ilk kez ortaya konmasının ardından kısa sürede biyoteknoloji ve tıp araştırmalarında yaygın olarak kullanılmaya başladı.

Orijinal versiyon olan CRISPR-Cas9 sisteminin, hedef dışı gen değişiklikleri oluşturma ve alıcı organizmada bağışıklık tepkisi tetikleme riskleri ile hedefe gönderme konusundaki zorluklar gibi bazı eksiklikleri vardı. Zaman içinde geliştirilen yeni versiyonlarda ise özellikle hedef dışı değişiklikler oluşturma riskinin büyük ölçüde bertaraf edilmesinin yanı sıra genlerde çok daha çeşitli değişiklikler yapılması mümkün hâle geldi.

Canlıların genetik materyalinde yani genomunda istenen değişikliklerin hassas biçimde yapılabilmesi, moleküler biyolojideki en önemli ilerlemelerden biri olarak kabul ediliyor. Bu becerinin temel biyolojik süreçlerin aydınlatılmasından tıpta, tarımda ve biyoteknolojide önemli gelişmeler sağlanmasına kadar çok çeşitli uygulama alanları var. Nitekim 2023 yılında CRISPR temelli ilk tıbbi tedavinin onay alması, CRISPR gen değiştirme yönteminde yeni bir dönemin başlangıcı oldu. Bugün CRISPR’ye dayalı yöntemlerle genetik hastalıklar, enfeksiyon hastalıkları ve kanser türleri gibi çeşitli hastalıklara yönelik çok sayıda araştırma ve klinik deneme yapılıyor. Bu çalışmalarda zaman zaman önemli birer aşama sayılan başarılar kaydediliyor. Bu türden iki başarının haberi

de geçtiğimiz mayıs ayında geldi. ABD’de yapılan iki çalışmanın birinde CRISPR temelli kişiselleştirilmiş bir tedavinin ilk klinik uygulaması bir bebek üzerinde yapılırken diğer çalışmada CRISPR temelli tekniklerin en gelişmiş versiyonlarından biri olan birincil düzenleme ilk kez bir hasta üzerinde uygulandı.

İlk Kişiselleştirilmiş CRISPR Tedavisi

Geçtiğimiz mayıs ayında CRISPR temelli ilk kişiselleştirilmiş tedavinin, hayati tehlike oluşturan genetik hastalığı olan bir erkek bebek üzerinde uygulandığı duyuruldu. Philadelphia Çocuk Hastanesi tarafından 15 Mayıs’ta yapılan basın açıklamasında tedavinin hâlihazırda iyileşme sağlamış görüldüğü ancak tedavinin ne kadar işe yaradığının anlaşılması için henüz erken olduğu belirtildi.

Genetik hastalıklar toplumda yaygın olarak ya da toplumun küçük bir kesiminde görülen belirli mutasyonlardan kaynaklanabildiği gibi sadece bir bireyde oluşan, ona özgü mutasyonlar sonucunda da ortaya çıkabiliyor. Genlerde istenen değişikliğin yapılabilme potansiyeli işte bu kişiye özgü mutasyonların da tedavilerin hedefi olabileceği yani kişiselleştirilmiş genetik tedaviler geliştirilebileceği anlamına geliyor. Aslında bu, özellikle de İnsan Genom Projesi’yle başlayan insan genomunun dizilenmesi ve biyolojik işlevlerinin anlaşılmasına yönelik çabalarla birlikte pek çokları tarafından uzun yıllardır geleceğin

tibbının önemli bir unsuru olarak hayal ediliyor. Bu yüzden de CRISPR temelli ilk kişiselleştirilmiş tedavi denemesi hem bilim dünyasında hem de kamuoyunda heyecanla karşılandı.

Sonuçları *New England Journal of Medicine* dergisinde yayımlanan çalışmada KJ Muldoon adlı erkek bebeğe, besinlerdeki proteinleri metabolize etmesini sekteye uğratan, biri annesinden diğeri babasından gelen iki mutasyonunu onarmak amacıyla bir gen değiştirme işlemi uygulandı. Muldoon bebeğin sahip olduğu mutasyonlar, karbamoil fosfat sentaz 1 (CPS-1) adlı önemli bir enzimin normal yani işlevsel biçimde üretilmemesine neden oluyor. Bu da proteinlerin vücutta parçalanması sırasında ortaya çıkan azot içerikli bileşikler işlemiden geçirememesi anlamına geliyor. Sonuçta özellikle beyin için toksik etkiye sahip amonyağın kandaki seviyesi yükseliyor. CPS-1 eksikliği olarak adlandırılan bu hastalığın en etkili tedavi yolu karaciğer nakli. Ancak Muldoon bebeğin karaciğer nakli için uygun yaşa gelmesi için aylarca beklenmesi gerekiyordu. Bu da beyin hasarı hatta ölüm riski demekti. Nitekim CPS-1 eksikliği olan bebeklerin ancak yarısı nakil için uygun yaşa ulaşabiliyor.



Kişiselleştirilmiş gen tedavisi uygulanan Muldoon bebek

Philadelphia Çocuk Hastanesi doktorlarından Rebecca Ahrens-Nicklas, Muldoon bebeğin ailesine kişiselleştirilmiş gen tedavisi seçeneğini sundu. Ahrens-Nicklas ve çalışma arkadaşları o sıralarda CRISPR temelli bir gen değiştirme tekniği olan baz düzenleme üzerinde çalışıyordu. Bu teknik DNA dizilerinde hedeflenen bir bölgede tek bir bazın değiştirilmesine olanak tanıyor.

Ahrens-Nicklas, yöntemi insanlar üzerinde denenebileceği klinik deneme aşamasına geçilebileceğini düşünüyordu. Ailenin de onay vermesiyle zamana karşı yarış başladı. Büyük bir iş birliği ve destek ağıyla yürütülen süreçte araştırmacılar en başarılı baz düzenleme yaklaşımını belirleyip bunu farelerde ve maymunlarda sınamıştı. ABD Gıda ve İlaç Dairesi de tedavi onayı için yapılan başvuruyu hızlı değerlendirme sürecine tabi tuttu. Altı ay gibi kısa bir sürede Muldoon bebeğe ilk tedavi dozu verilmişti. İlk doz sonrası Muldoon bebek yaşının gerektirdiği miktarda proteini güvenli şekilde tüketebiliyor ancak kanındaki amonyak seviyesinin kontrol altında tutulabilmesi için yine de ilaçlara ihtiyaç duyuyordu. İkinci tedavi dozu sonrası doktorların ilaçları azaltması mümkün hâle geldi ama ilaçlar tamamen kesilemedi. Muldoon bebeğin son bir doz daha almasından bu yana doktorlar ilaç dozlarını tedbirli biçimde azaltıyor. Muldoon bebeğin genel sağlık durumunda ise iyileşmeler gözleniyor.



CRISPR (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats) canlı hücrelerdeki DNA üzerinde istenen değişikliklerin hassas ve etkin biçimde yapılabilmesini sağlayan çığır açıcı bir gen düzenleme tekniği. Tekniğin en yaygın olarak kullanılan orijinal versiyonu olan CRISPR-Cas9 sistemi, bir kılavuz RNA molekülünü (gRNA) kullanarak Cas enzimini genomu oluşturan DNA'nın belirli bir dizisine yönlendiriyor. Cas enzimi hedef bölgeye bağlandıktan sonra DNA'yı hedeflenen noktadan kesiyor. Bu da genin etkisizleştirilmesi, bir mutasyonun onarılması ya da DNA'ya yeni bir genetik materyal eklenebilmesine olanak sağlıyor. Sistemin birincil düzenleme, baz düzenlemesi ve CRISPR-Cas12 gibi daha yeni ve gelişmiş versiyonlarında hassasiyet daha da geliştirilerek hedef dışı değişiklik riskleri en aza indirildi ve böylece CRISPR platformunun tıbbi tedavilerde kullanılma potansiyeli büyük ölçüde artırıldı. CRISPR, bakteriler ve arkelerde bulunan doğal bir bağışıklık sisteminden uyarlanarak geliştirildi. Bu sistem, önceki enfeksiyonlardan kalan genetik dizileri kullanarak yabancı virüs DNA'sını tanıyıp kesiyor.

Tedavinin başka hastalara ya da nadir hastalıklara da uygulanıp uygulanamayacağı ise doğal olarak sadece teknik değil aynı zamanda ekonomik bir soru. Çünkü birkaç yüz kişiyi tedavi etmeye yönelik gen tedavileri bile uygulama başına hayli yüksek maliyetler gerektiriyor. Ancak yine de çalışma, tekniğin prensipte işe yaradığını göstermesi açısından bir kilometre taşı niteliğinde.

Birincil Düzenleme İlk Kez Bir Hastaya Uygulandı

Sonuçları 19 Mayıs 2025'te duyurulan bir başka tıbbi denemede ise CRISPR ailesinin en gelişmiş üyesi olan birincil düzenleme yöntemi ilk kez tedavi amacıyla kullanılarak 18 yaşında kronik granülomatöz hastası bir gence uygulandı. Kronik granülomatöz, nötrofiller de dâhil olmak üzere çeşitli bağışıklık hücrelerinin işlevini sekteye uğratan tehlikeli bir hastalık. Prime Medicine adlı şirket tarafından geliştirilen tedavi, hastanın kan kök hücrelerinin DNA'sındaki iki bazlık eksikliğin vücut dışında düzeltilip genetik düzeltme yapılan bu hücrelerin hastaya geri verilmesi şeklindeydi. Tedaviden sonraki bir ay içinde genç adam herhangi bir ciddi sağlık sorunu yaşamadı ve bu bir ay sonunda nötrofillerinin yaklaşık üçte ikisinde, bozukluğu kronik granülomatöze neden olan enzimlerin yeniden işlev kazanmış olduğu görüldü. Bu sonuç her ne kadar ümit verici olsa da tedavinin uzun vadede başarılı olup

olmadığı aylar sonra anlaşılabilecek.

Birincil düzenleme yöntemi, CRISPR-Cas9'dan farklı olarak DNA'nın iki zincirinin birden kesilmesine gerek kalmaksızın DNA'da istenen dizinin silinmesini, araya yeni dizi eklenmesini ya da bir dizinin başka bir diziyle değiştirilmesini sağlayan çok gelişmiş bir CRISPR tekniği.

Kronik granülomatöze yönelik yapılan tıbbi denemenin şimdilik başarılı görünen sonuçlarına karşın Prime Medicine, PM359 olarak adlandırdığı bu tedaviyi geliştirmeye yönelik yeni çalışmalar yapmayacağını açıkladı. Bu tedavi, hastanın hücrelerine yönelik genetik müdahale hücre dışında yapıldığı için zorluklar ve ek maliyetler içeriyor. Şirket bunun yerine kistik fibrozis gibi daha yaygın hastalıklara vücut içinde uygulanabilecek genetik tedaviler geliştirmeye yönelecek.

Şirketin kurucularından, Broad Institute of MIT and Harvard'da kimyasal biyolog David Liu, bu kararın nadir hastalıklara yönelik gen düzenleme tedavilerinin karşı karşıya olduğu engellere ayna tuttuğunu, her ne kadar teknolojiye geline nokta çok çeşitli gen tedavilerine imkân tanıyacak düzeyde olsa da bunların uygulanabilirliğinin nihayetinde ekonomik etmenlere bağlı olduğunu belirtiyor. Sonuç olarak Prime Medicine şirketi birincil düzenlemeye dayalı tedaviler geliştirmeye devam edecek ancak doğrudan vücuda verilebilecek tedavilere odaklanacak.

Öte yandan Liu kendi laboratuvarında giderek artan oranda, bütün bir geni değiştirmeyi içeren böylece hastalığa ilgili gendeki hangi mutasyon sebep olursa olsun, işe yarayabilecek gen tedavileri geliştirmeye yöneldiklerini söylüyor. ■

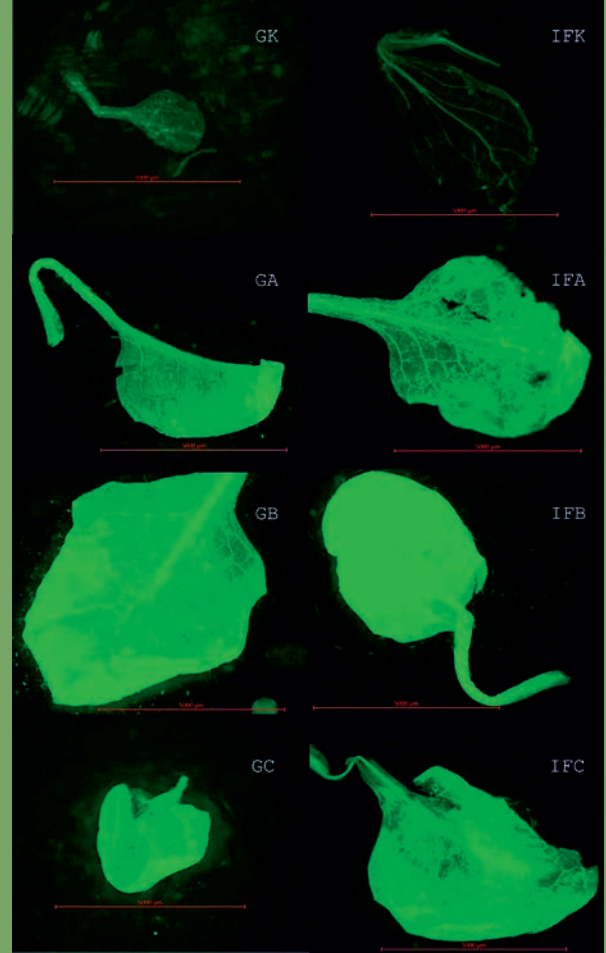


Bilim dünyasına 2012'de tanıtılan CRISPR sistemini geliştiren Emmanuelle Charpentier (solda) ve Jennifer Doudna (sağda), bu başarılarından dolayı 2020'de Nobel Kimya Ödülü'ne layık görüldü.

İlk Türk Astronotumuz Alper Gezeravcı'nın Uzayda Yaptığı CRISPR Deneyi

Çok çeşitli uygulama alanlarına yönelik olarak taşıdığı büyük potansiyelden dolayı moleküler biyolojinin en gözde konularından biri konumunda olan CRISPR yöntemi Türk Astronot ve Uzay Bilim Misiyonu kapsamında, Uluslararası Uzay İstasyonu'nda (ISS) gerçekleştirilen 13 bilimsel çalışmadan birine de konu oldu. CRISPR-GEM adlı deney kapsamında bitkiler üzerinde CRISPR'ye dayalı karmaşık bir genetik müdahale uzay koşullarında başarıyla gerçekleştirildi. Türkiye'nin ilk astronotu Alper Gezeravcı tarafından gerçekleştirilen deneyde, bitki dokusuna "Agroinfiltrasyon" adı verilen bir gen aktarım tekniği uygulandı. Bu teknikle, CRISPR sistemini aktive eden genetik bileşenleri taşıyan bir plazmid (gen aktarımı çalışmalarında aktarılabilecek geni ya da genleri taşıyan halkasal DNA molekülü), bitki hücrelerine aktarıldı.

Deneyin başarısını izlemek amacıyla, gen düzenleme işleminin başarılı olması durumunda üretilerek belirteç işlevi görmesi için yeşil floresan proteini (GFP) kodlayan gen de plazmide eklendi. GFP gen düzenleme çalışmalarında sıklıkla belirteç olarak kullanılan bir protein. Dünya'ya dönen örneklerde yapılan genetik analizlerde GFP'nin varlığı doğrulanarak, gen aktarımının başarıyla gerçekleştiği ortaya kondu. Gelecekte uzay istasyonlarında, Ay'da ya da Mars'ta kurulacak uzay üslerinde bitki temelli yaşam destek sistemleri, besin üretimi ve biyoyakıt sentezi gibi hayati faaliyetler kapsamında bitkiler ya da başka organizmalar üzerinde genetik değişiklikler yapılması gerekebilir. Yine uzun süreli uzay görevlerinde astronotlarda ortaya çıkan çeşitli sağlık sorunları için görev sırasında gen tedavileri uygulama ihtiyacı ortaya çıkabilir. Dolayısıyla gen düzenleme tekniklerinin etkinliğinin ağırlıksız ortamda test edilmesi önem taşıyor. İşte CRISPR-GEM kapsamında hem CRISPR tabanlı gen düzenleme hem de Agrobacterium aracılı infiltrasyon yöntemlerinin ağırlıksız ortamdaki işlevliklerinin test edilmesi bu anlamda değerli deneyler. Proje yürütücüsü Tuğçe Celayir'den alınan bilgiye göre uzaydan gelen örnekler üzerindeki analizler tamamlandı ve ek moleküler incelemelerle bilimsel yayın sürecine geçildi.



GFP üretimine bağlı floresan sinyallerin yer ve uzay örneklerinde karşılaştırılması.

Yeryüzü (G) ve uzayda (IF) işlenen gruplara ait yaprak örnekleri incelendiğinde gen aktarımının başarıyla gerçekleştiği A, B ve C örneklerinde (GFP) üretimine bağlı parlama görülürken kontrol gruplarında (K) ise bu parlama görülüyor.

Kaynaklar

Pacesa, M., Pelea, O., Jinek M., "Past, present, and future of CRISPR genome editing technologies", *Cell*, Cilt 187, Sayı 5, s. 1076–1100, 2024. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2024.01.042>

Ledford, Heidi, "World's first personalized CRISPR therapy given to baby with genetic disease", *Nature*, 15 Mayıs 2025. <https://www.nature.com/articles/d41586-025-01496-z>