

DNA Araçları ve Biyoteknoloji

Prof. Dr. Bektaş TEPE

Genel Biyoloji

Bölüm 20

DNA Araç Kutusuna Giriş

- Son yıllarda biyoloji alanında oldukça dikkat çekici gelişmeler yaşanmaktadır.
- Mamut, Neandertal ve 700.000 yıllık bir ata ait DNA dizilerinin tamamen belirlenmesi bu gelişmelere örnektir.
- Bu başarıların temelinde, 2003 yılında tamamlanan insan genomunun dizilenmesi yer almaktadır.
- İnsan genom projesi, DNA dizileme teknolojilerinde büyük ilerlemelerin önünü açmıştır.

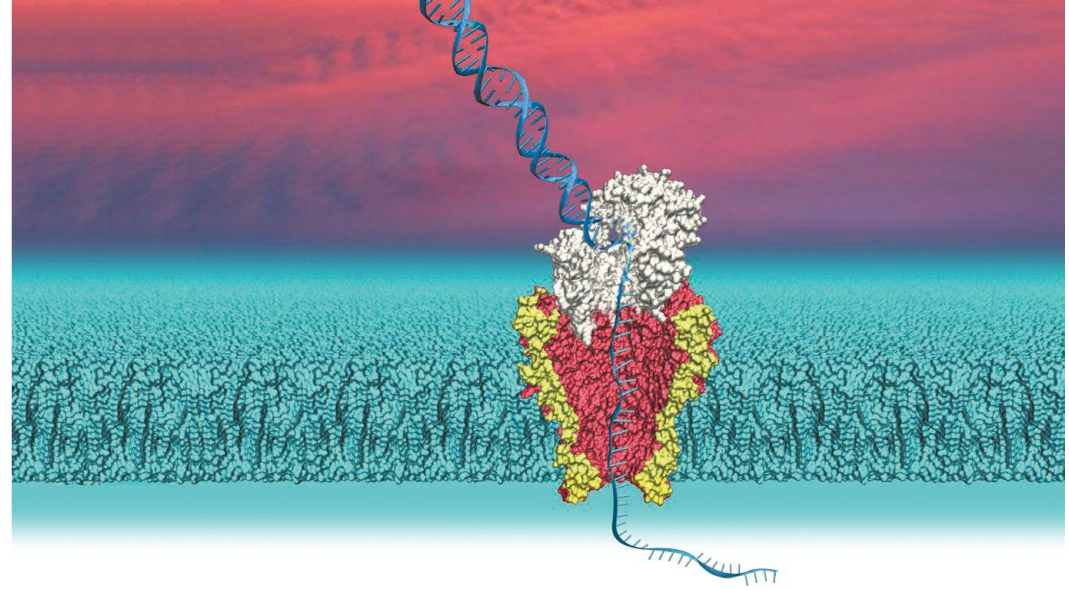


Genom Dizilemenin Gelişimi

- İlk insan genomunun dizilenmesi yıllar sürmüştür ve yaklaşık 1 milyar dolara mal olmuştur.
- Ardından, genom dizileme süresi ve maliyeti hızla azalmaya başlamıştır.
- Bugün bu teknolojiler, çok daha hızlı ve ekonomik hale gelmiştir.
- DNA dizileme biyolojide adeta yeni bir çağ başlatmıştır.

Yeni Nesil Dizileme Teknolojisine Bir Örnek

- Yandaki figürde anlatılan yöntemde tek iplikli bir DNA, membranda bulunan çok küçük bir gözenekten geçirilir.
- Her nükleotidin geçişi elektrik akımında çok küçük değişimlere yol açar.
- Bu değişimler analiz edilerek nükleotid dizisi belirlenir.
- Bu teknikle, sadece sakız paketinden biraz daha büyük bir cihazla yaklaşık 6 saatte insan genomunun dizilenebileceği öngörülmektedir.



DNA Dizileme ve Klonlama

- DNA'nın çift sarmal yapısının anlaşılması, günümüz biyolojik araştırmalarının temelini oluşturmuştur.
- İki ipliğin birbirini tamamlaması, DNA dizileme gibi birçok teknolojinin geliştirilmesine olanak sağlamıştır.
- Bu çalışmaların merkezinde nükleik asit hibridizasyonu yer alır.

DNA Dizileme Nedir?

- Tamamlayıcı baz eşleşmesi prensibinden yararlanılarak DNA'nın nükleotid dizisi belirlenebilir.
- Bu işleme DNA dizileme adı verilir.
- DNA önce küçük parçalara ayrılır ve her bir parça ayrı ayrı dizilenir.
- Elde edilen parçalar birleştirilerek tüm DNA dizisi ortaya çıkarılır.



Sanger (Dideoksi) Dizileme Yöntemi

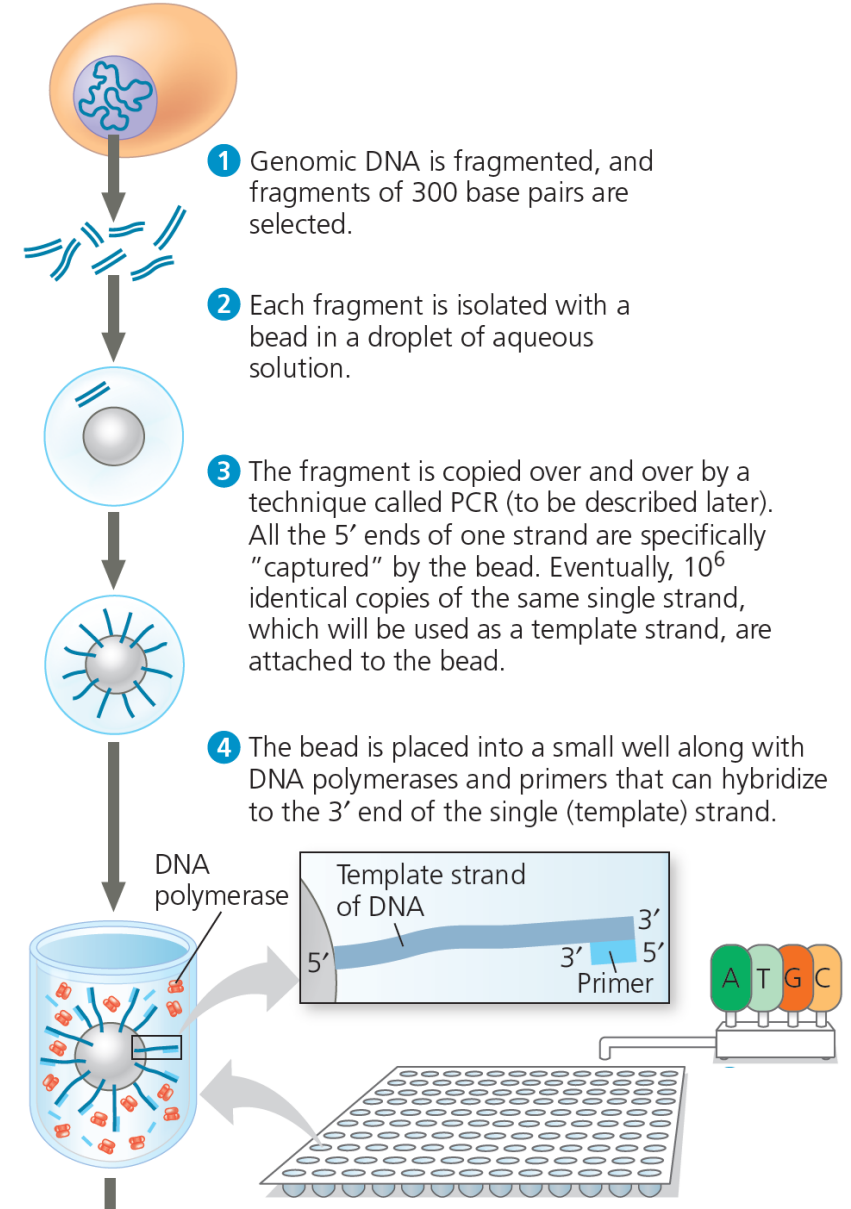
- İlk otomatik dizileme yöntemi, dideoksi-nükleotid zincir sonlandırma tekniği olmuştur.
- DNA'nın tek zinciri, tamamlayıcı kısa zincirlerin üretimi için kalıp görevi görür.
- Bu kısa zincirlerin analiziyle nükleotid dizisi belirlenir.
- Bu yöntem, küçük ölçekli dizileme çalışmalarında hâlâ kullanılmaktadır.

Frederick Sanger'ın Katkısı

- Dideoksi dizileme yönteminin geliştirilmesini sağlayan bilim insanı Frederick Sanger'dır.
- Bu çalışmasıyla 1980 yılında Nobel Ödülü kazanmıştır.
- DNA dizileme teknolojilerinin başlangıcı için kritik bir adımdır.

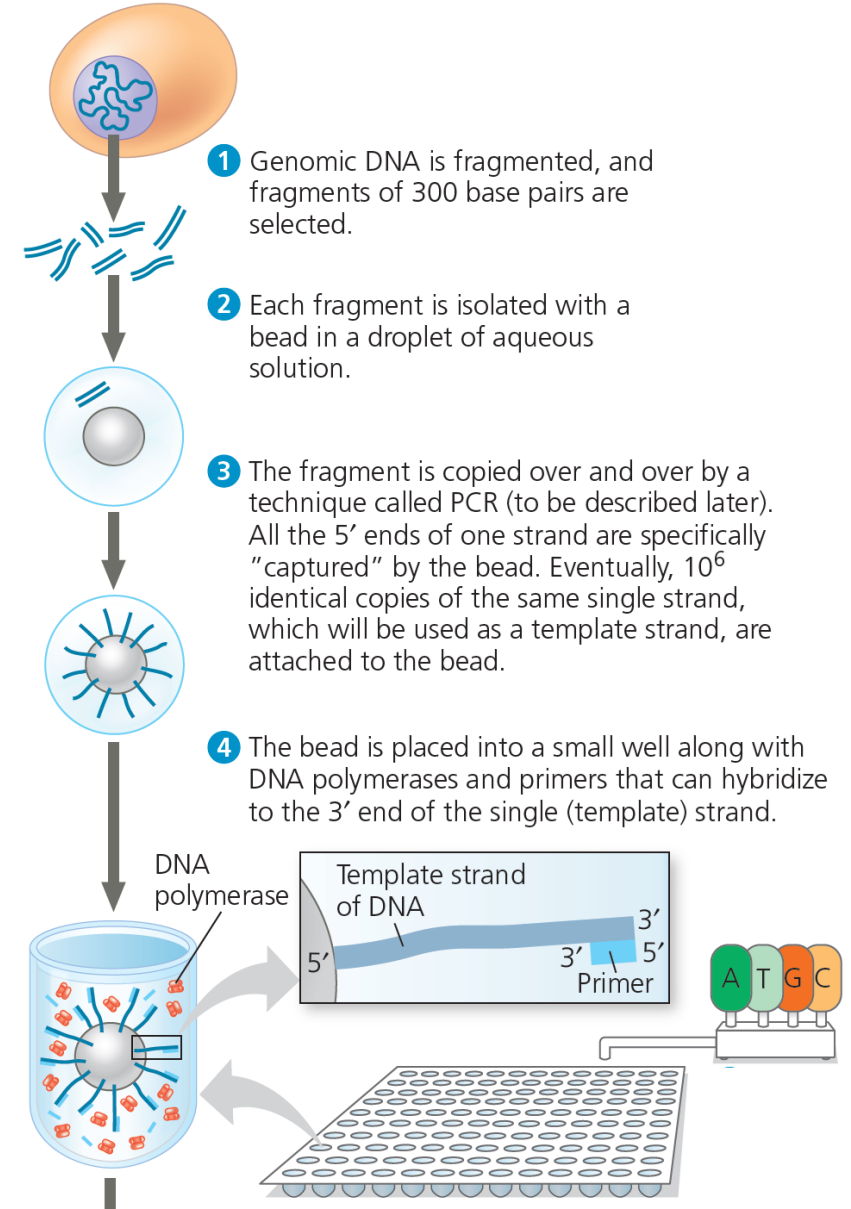
Yeni Nesil (Next-Generation) Dizileme

- Genomik DNA parçalanır ve 300 baz çiftinden oluşan parçalar seçilir.
- Her bir parça, sulu çözeltinin bir damlasında bir boncukla izole edilir.
- Parça, PCR adı verilen bir teknikle tekrar tekrar kopyalanır.
- Bir ipliğin tüm 5' uçları boncuk tarafından özel olarak "yakalanır".
- Sonunda, kalıp iplik olarak kullanılacak olan aynı ipliğin 10^6 özdeş kopyası boncuğa bağlanır.
- Boncuk, tek (kalıp) ipliğin 3' ucuna hibride olabilen DNA polimerazlar ve primerlerle birlikte küçük bir kuyuya yerleştirilir.



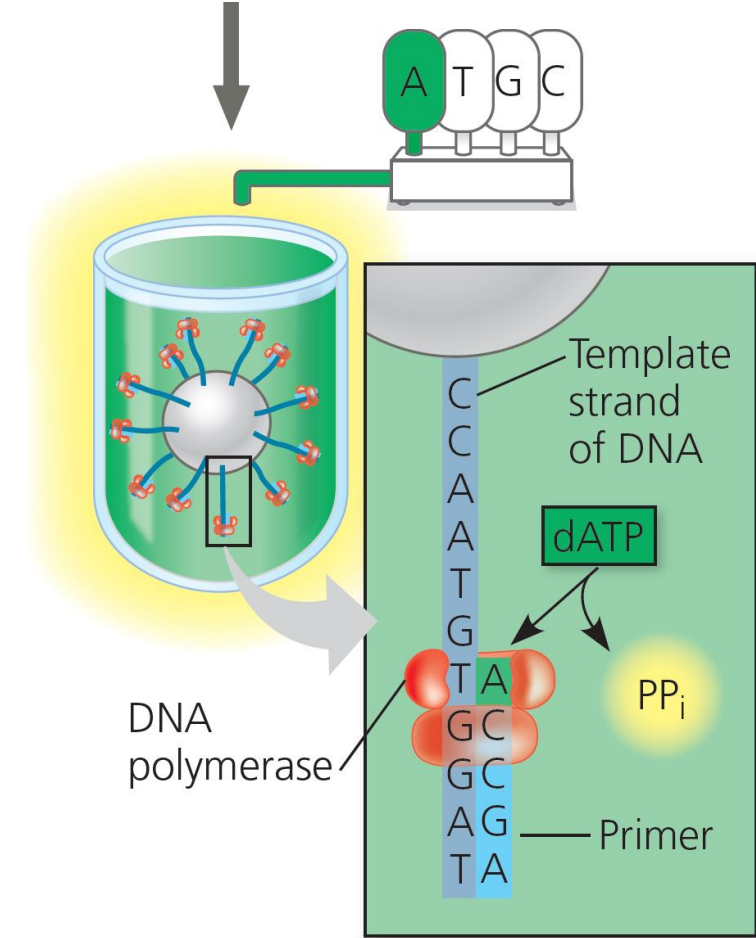
Yeni Nesil (Next-Generation) Dizileme

- Boncuk, tek (kalıp) ipliğin 3' ucuna hibride olabilen DNA polimerazlar ve primerlerle birlikte küçük bir kuyuya yerleştirilir.
- Kuyucuk, çok kuyucuklu bir plakadaki 2 milyon kuyucuktan biridir ve her biri dizilenecek farklı bir DNA parçası içerir.
- DNA sentezi için gerekli olan dört nükleotitten (dNTP'ler) birinin çözeltisi tüm kuyucuklara eklenir ve ardından yıkanır.
- Bu işlem, dört nükleotidin tamamı için sırayla yapılır: dATP, dTTP, dGTP ve ardından dCTP.
- Tüm işlem daha sonra tekrarlanır.



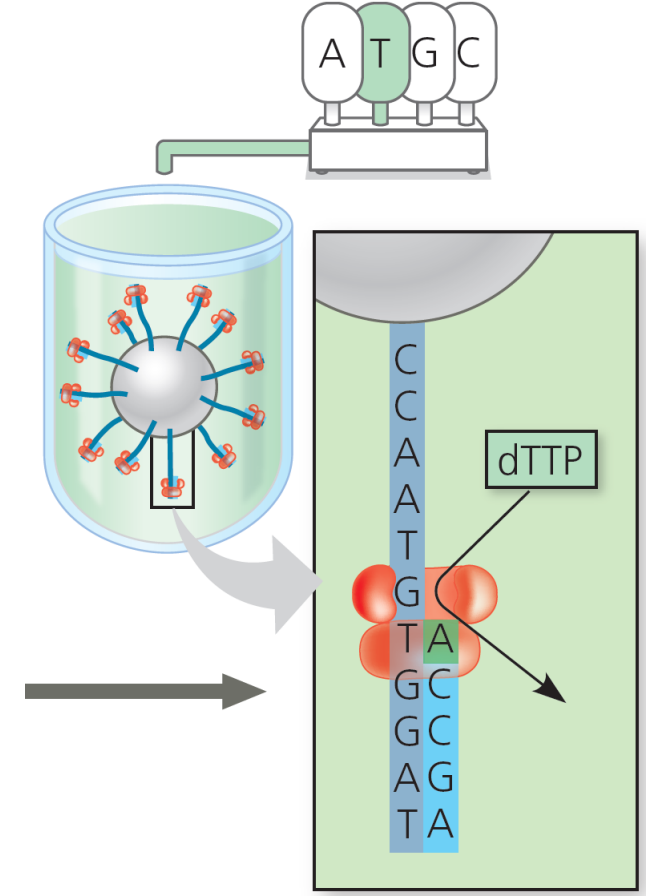
Yeni Nesil (Next-Generation) Dizileme

- Her bir kuyuda, kalıp iplikteki bir sonraki baz (bu örnekte T) eklenen nükleotide (burada A) tamamlayıcı ise, nükleotit büyüyen iplikle birleşerek PP_i 'yi serbest bırakır ve bu da kaydedilen bir ışık parlamasına neden olur.



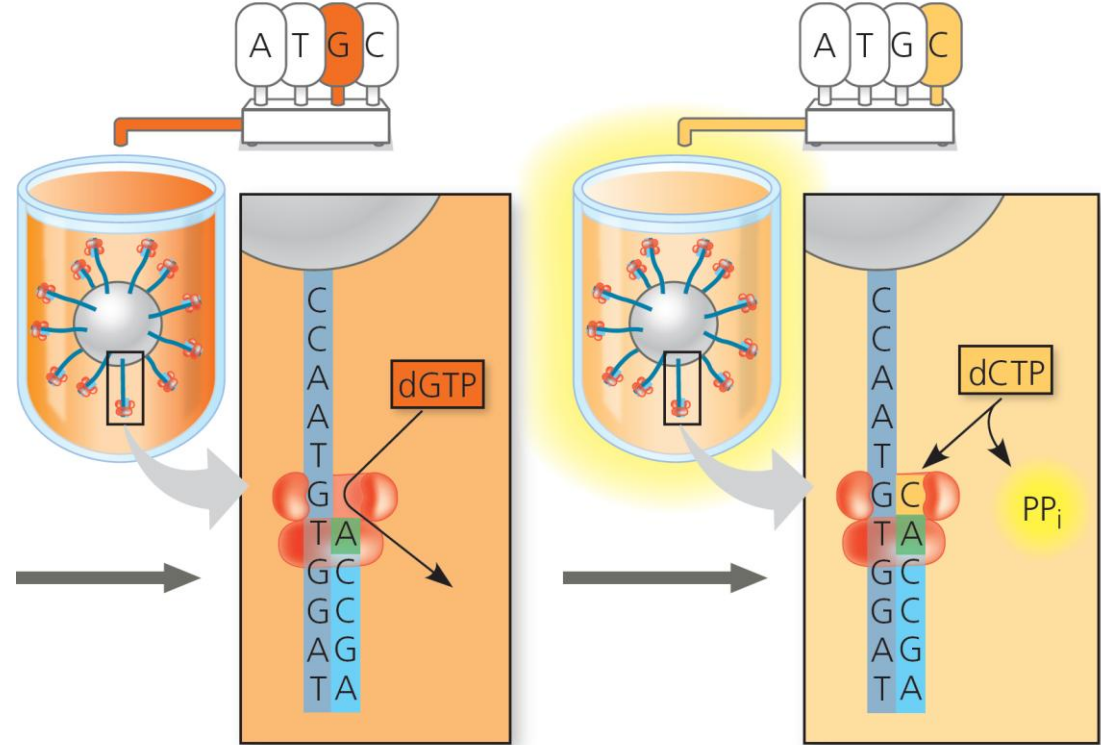
Yeni Nesil (Next-Generation) Dizileme

- Nükleotid yıkanır ve farklı bir nükleotid (burada dTTP) eklenir.
- Nükleotid bir sonraki kalıp baza (burada G) tamamlayıcı değilse, zincire bağlanmaz ve parlama oluşmaz.



Yeni Nesil (Next-Generation) Dizileme

- Dört nükleotidin eklenip yıkanması işlemi, her parçada tam bir tamamlayıcı zincir oluşana kadar tekrarlanır.
- Yanıp sönme deseni, her kuyudaki orijinal parçanın dizisini ortaya çıkarır.



Çoklu Paralel Dizileme (High-Throughput) Teknolojisi

- Aynı anda binlerce ya da yüz binlerce DNA parçası dizilenebilir.
- Parçalar yaklaşık 300 nükleotid uzunluğundadır.
- Yandaki figürde bu sistemleri kullanan makineler gösterilmektedir.
- Tüm genomların hızlı dizilenebilmesini mümkün kılar.

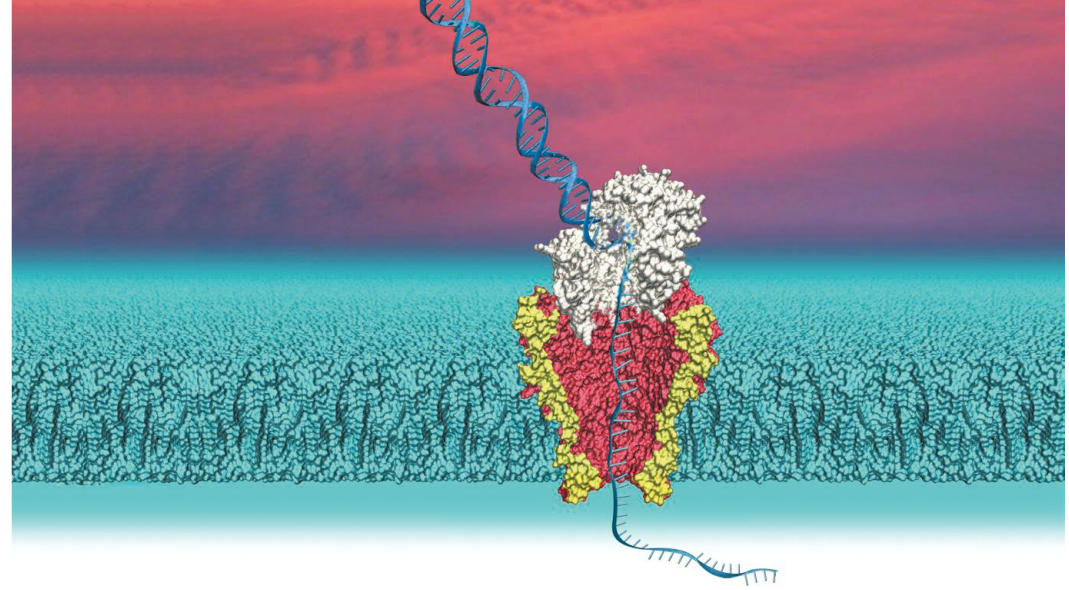


Üçüncü Nesil Dizileme Teknolojileri

- Bazı yöntemlerde DNA kesilmez ve çoğaltılmaz.
- Çok uzun tek bir DNA molekülü doğrudan dizilenebilir.
- DNA zinciri, membranda çok küçük bir gözenekten geçirilir (nanopor yöntemi).
- Her bazın elektrik akımını farklı şekilde kesmesi ile tanımlama yapılır.

Nanopor Dizileme

- Yanda membrana gömülü bir protein kanalı üzerinden geliştirilen model gösterilmektedir.
- Her baz, elektrik akımını farklı süreyle keserek tanımlanabilir.
- 2015'te küçük bir USB cihazı şeklinde ilk nanopor dizileyici satışa sunulmuştur.
- Bu teknoloji, dizilemenin laboratuvar dışına taşınmasını sağlar.



DNA Dizilemenin Bilime Katkıları

- Gelişmiş dizileme teknolojileri biyolojide büyük bir dönüşüm yaratmıştır.
- İnsan genomunun yayımlanmasından kısa süre sonra binlerce genom dizilenmiştir.
- Kanseri hücrelerinin genomu, eski insanlara ait DNA'lar ve bağırsak bakterileri dizilenmiştir.
- Evrim ve genom yapısının anlaşılmasında büyük ilerlemeler sağlanmıştır.

Neden DNA Kopyalamaya İhtiyaç Duyarız?

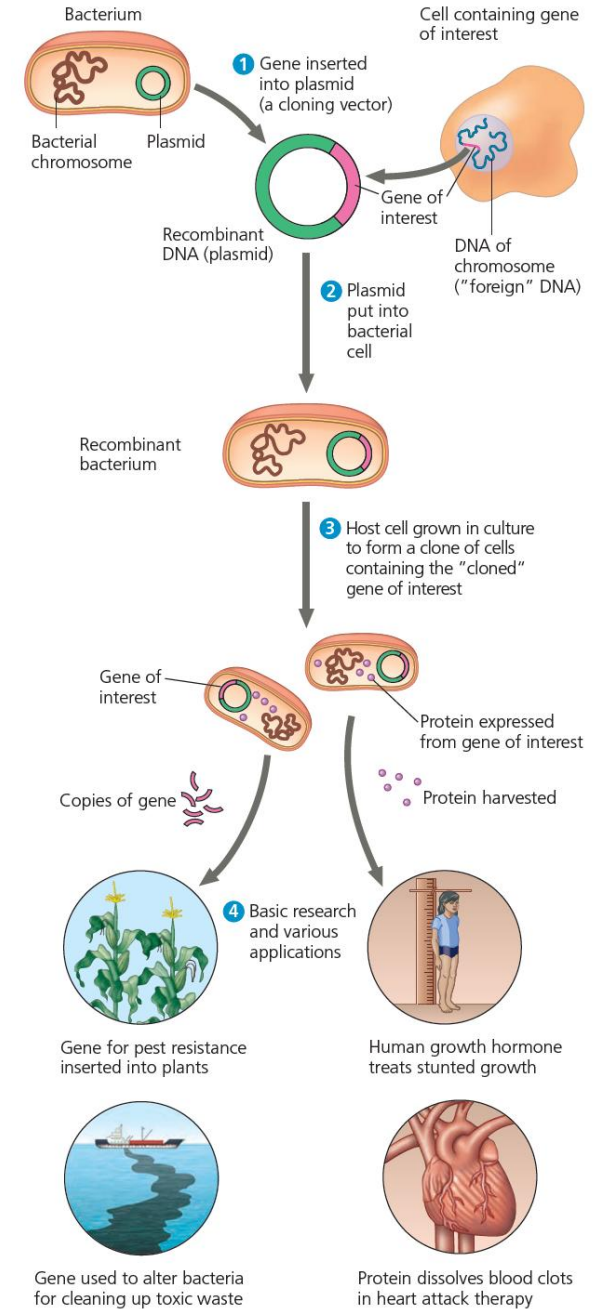
- DNA molekülleri oldukça uzundur ve tek bir molekül yüzlerce hatta binlerce geni taşıyabilir.
- Bir gen çoğu zaman kromozomal DNA'nın çok küçük bir kısmını oluşturur.
- Örneğin insanlarda tek bir gen kromozomun yaklaşık 1/100.000'lik bölümünü kaplar.
- Bu nedenle belirli bir genle doğrudan çalışmak zordur ve özel teknikler gerektirir.

DNA Klonlamanın Amacı

- Bilim insanları belli bir DNA parçasının çok sayıda özdeş kopyasını üretmeye ihtiyaç duyarlar.
- Bu işleme DNA klonlama adı verilir.
- DNA klonlama, genleri ayrıştırıp incelemeyi mümkün kılar.
- Böylece araştırmacılar, hedef genle ilgili deneyler yapabilir ve detaylı analizler gerçekleştirebilir.

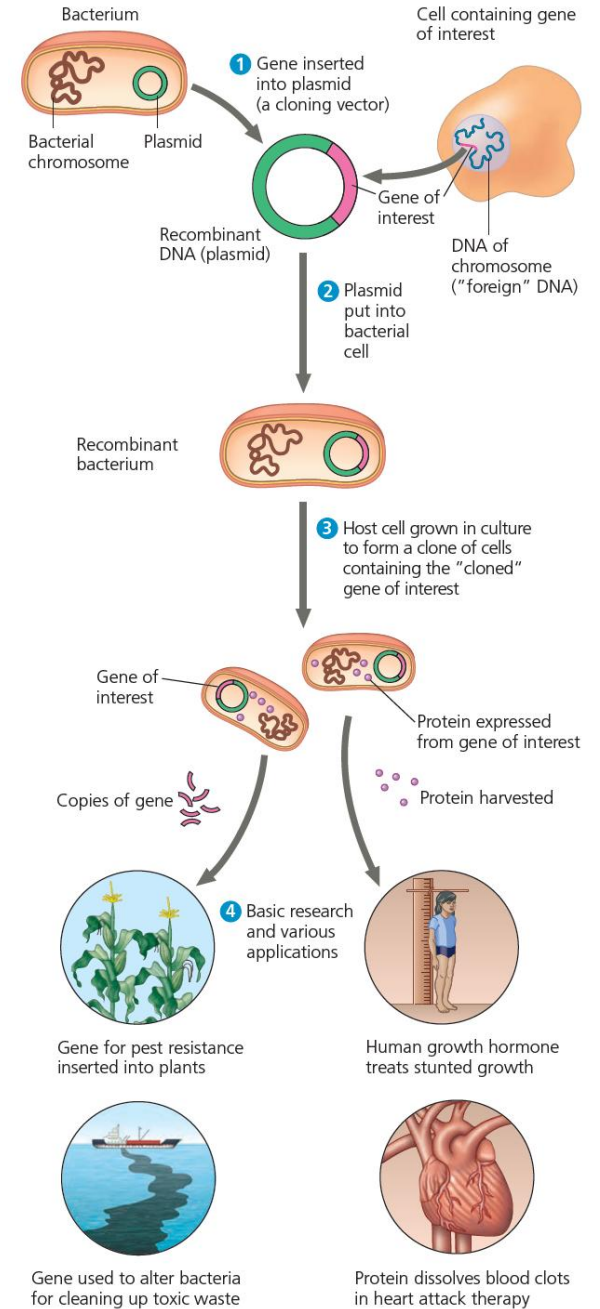
Bakteriler DNA Klonlamada Nasıl Kullanılır?

- Klonlama çalışmalarında en yaygın kullanılan canlılardan biri *E. coli* bakterisidir.
- *E. coli* kromozomu büyük ve dairesel bir DNA molekülüdür.
- Ayrıca bakterilerde plazmit adı verilen küçük, dairesel DNA parçaları bulunur.
- Plazmitler, hücre içinde kromozomdan bağımsız olarak çoğalabilir.



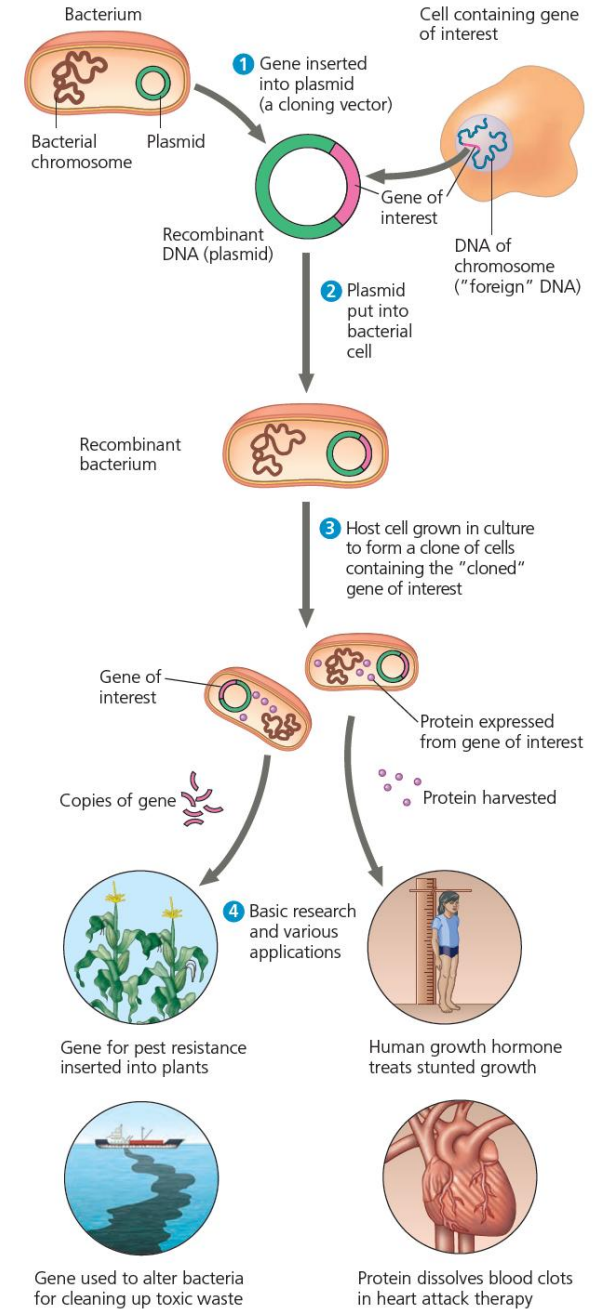
Plazmitlerin Klonlamadaki Rolü

- Plazmitler az sayıda gen içerir ve laboratuvarlarda kolayca manipüle edilebilir.
- Belirli bir ortamda bakteri için avantaj sağlayabilirler ancak yaşam için zorunlu değildirler.
- Bu özel yapıları, onları DNA taşıyıcısı olarak çok kullanışlı hale getirir.



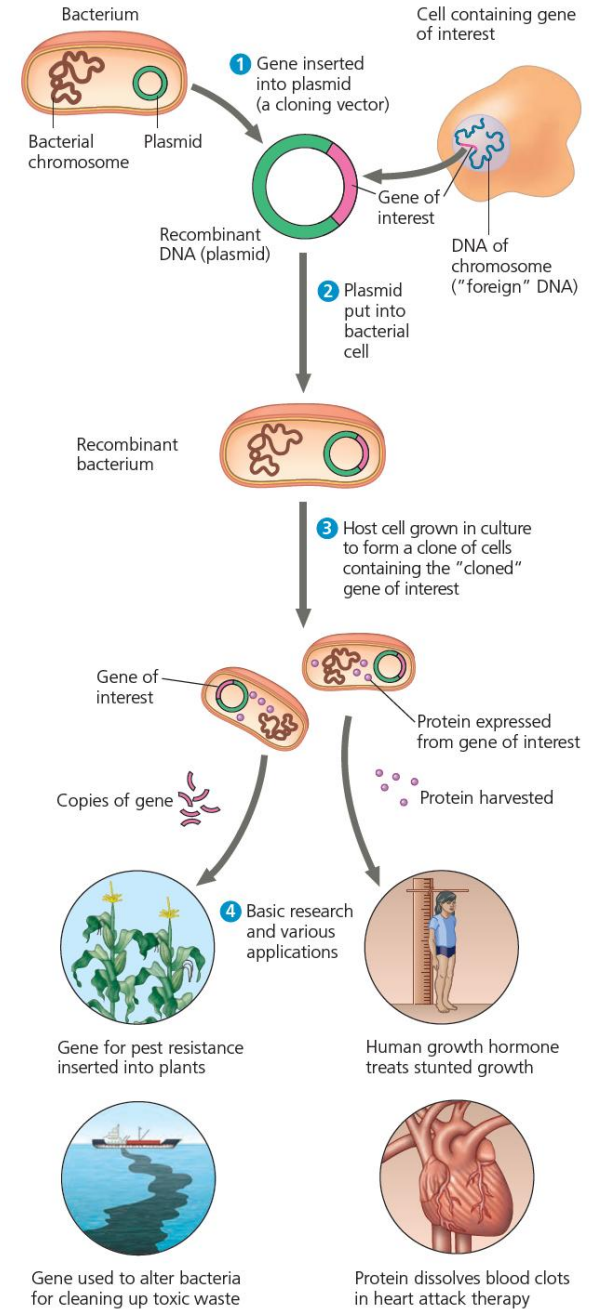
Rekombinant DNA Oluşturulması

- Klonlama için önce bir plazmit elde edilir ve içine “yabancı” DNA parçası eklenir.
- Böylece iki farklı kaynaktan DNA içeren rekombinant bir plazmit oluşturulur.
- Bu plazmit tekrar bakteriye aktarılır ve rekombinant bakteri elde edilir.
- Bakteri bölündükçe rekombinant plazmit de kopyalanır ve çoğaltılmış olur.



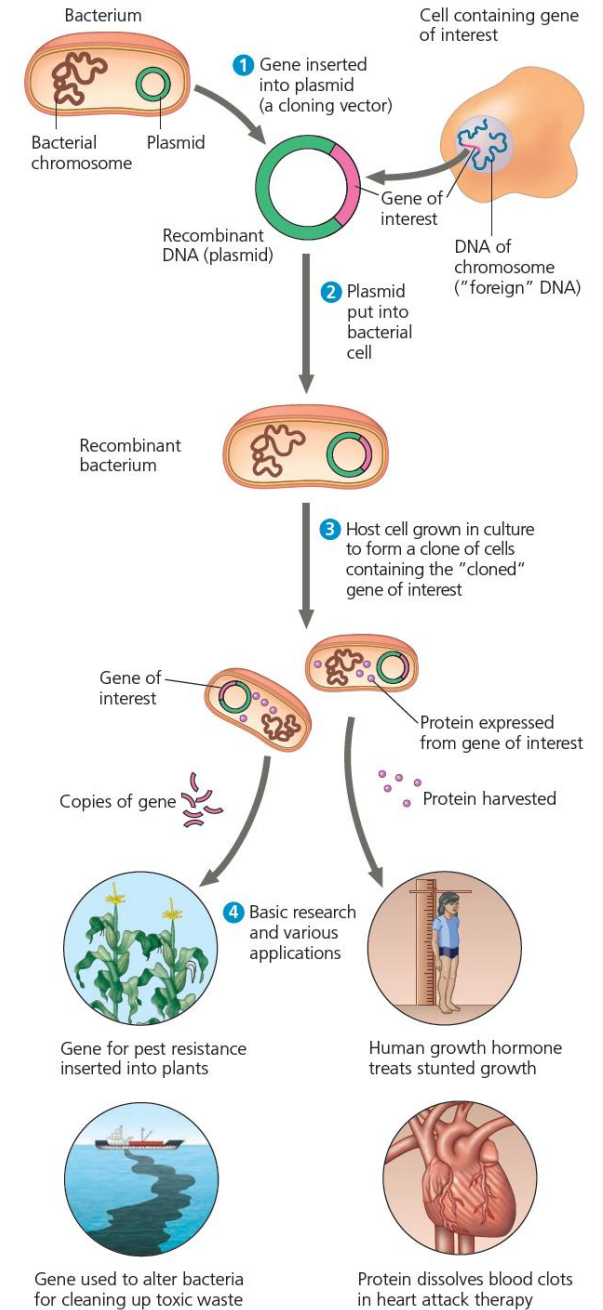
Gen Klonlamanın Sonuçları

- Bölünen bakteriler, genetik olarak özdeş büyük bir hücre popülasyonu oluşturur.
- Yabancı DNA ve taşıdığı genler de bu süreçle birlikte klonlanmış olur.
- Tek bir genin çok sayıda kopyası böylece elde edilir.



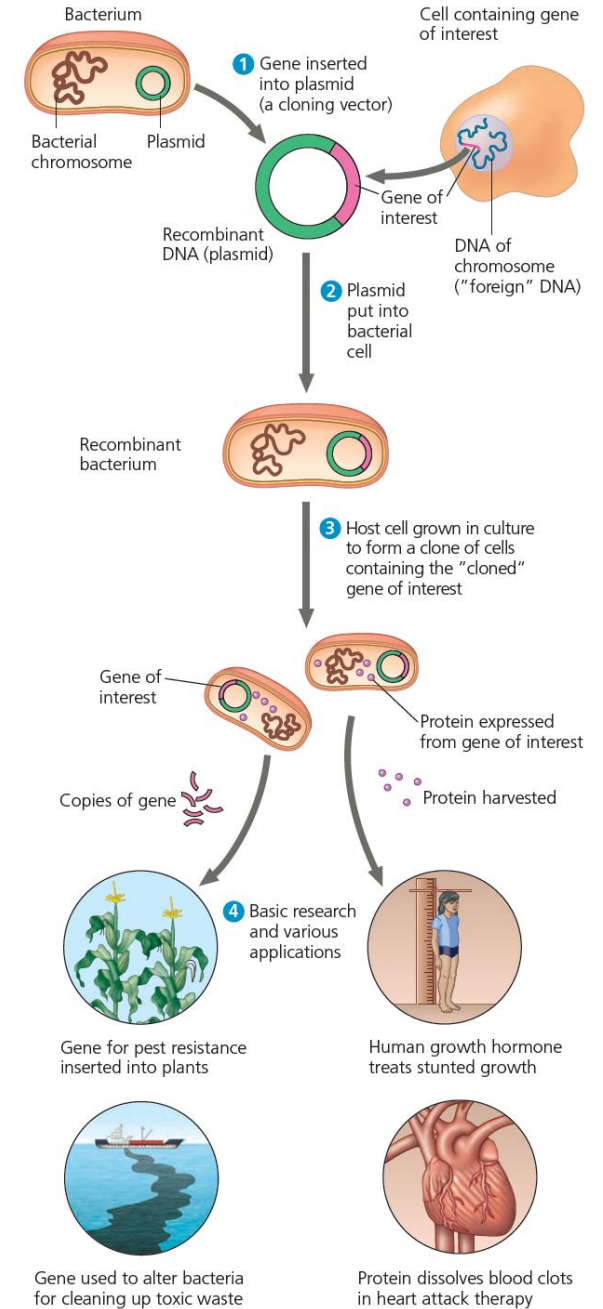
Klonlama Vektörü Olarak Plazmitler

- Yandaki figürde plazmit, yabancı DNA'yı taşıyan bir klonlama vektörü gibi davranır.
- Plazmitler kolay elde edilir, laboratuvarlarda test tüpünde kolayca düzenlenir.
- Daha sonra bakterilere kolayca yeniden kazandırılabilirler.



Gen Klonlamanın Uygulamaları

- Bir genin çok sayıda kopyası bilimsel araştırmalar için izole edilebilir.
- Yeni bir metabolik özellik kazandırmak için başka türlere aktarılabilir.
- Örneğin bazı bitkilere zararlı canlılara karşı direnç sağlayacak genler taşınabilir.
- Bu şekilde elde edilen canlılar genetiği değiştirilmiş (GM) organizmalar olarak adlandırılır.



Tıbbi ve Endüstriyel Kullanımlar

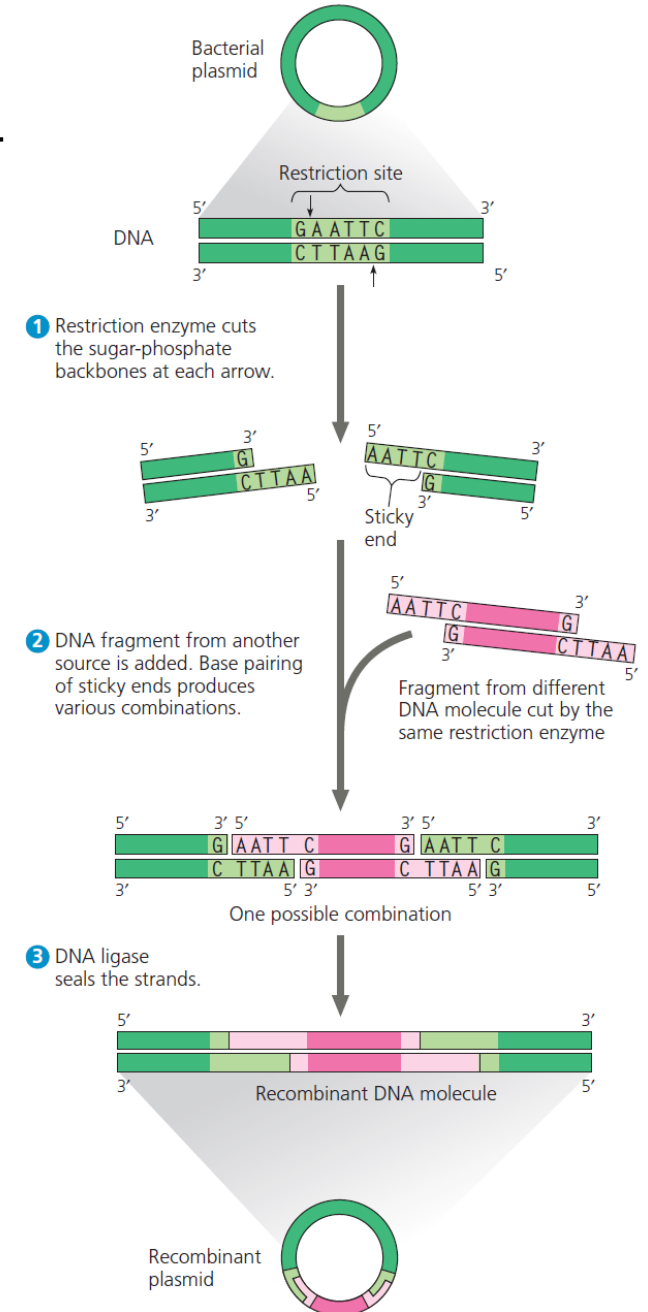
- Klonlanan genlerden üretilen proteinler tedavi amaçlı kullanılabilir.
- Örneğin insan büyüme hormonu bakterilerde üretilmektedir.
- Hücrelerde toplam DNA'nın çok küçük bir bölümünü oluşturan genlerin çoğaltılması bu yüzden kritik öneme sahiptir.

Restriksiyon Enzimleri Nedir?

- Gen klonlama ve genetik mühendisliği, DNA'yı belirli noktalardan kesebilen enzimlere dayanır.
- Bu enzimlere restriksiyon endonükleazlar veya restriksiyon enzimleri denir.
- İlk kez 1960'lı yıllarda bakteriler üzerinde yapılan çalışmalarda keşfedilmiştir.
- Bakteriler, bu enzimleri yabancı DNA'ya karşı bir savunma aracı olarak kullanır.

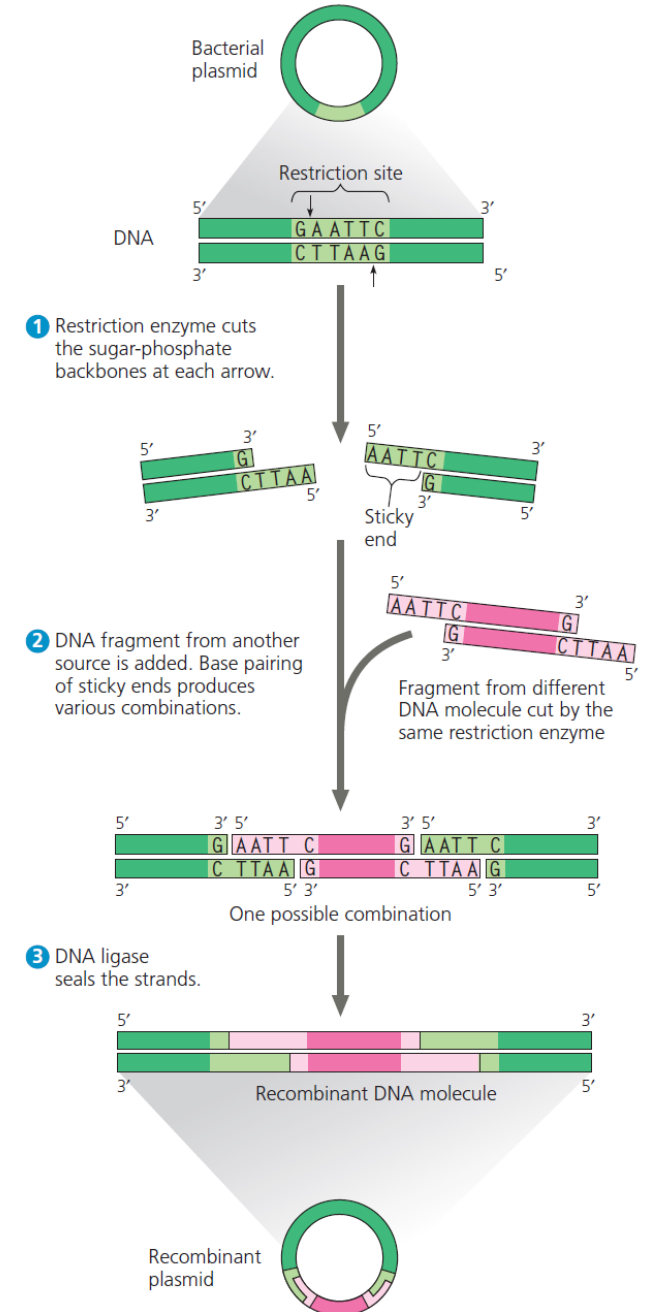
Restriksiyon Enzimlerinin Çalışma Mantığı

- Her restriksiyon enzimi belirli ve kısa bir DNA dizisini yani restriksiyon bölgesini tanır.
- DNA'yı bu bölgelerde keserek belirli uzunlukta DNA parçaları oluşturur.
- Bakteri DNA'sı, kendi enzimlerinden metil grupları sayesinde korunur.



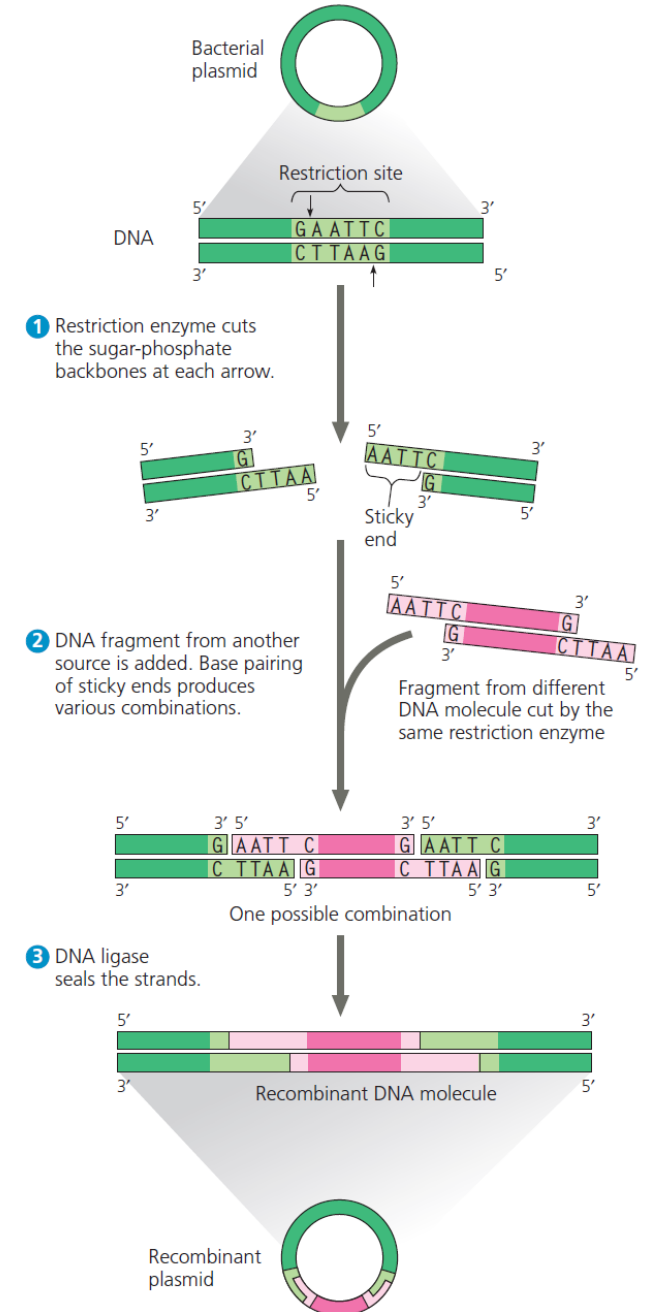
Restriksiyon Enzimleri ile Rekombinant DNA

- Yandaki figürde bir plazmid üzerindeki tek restriksiyon bölgesinin kesimi gösterilmektedir.
- Plazmid ve yabancı DNA aynı enzimle kesildiğinde uçlar birbirine uyum sağlar.
- Böylece iki farklı kaynaktan DNA birleştirilerek rekombinant bir plazmid oluşur.
- Bu birleştirme DNA ligaz enzimi sayesinde kalıcı hale gelir.



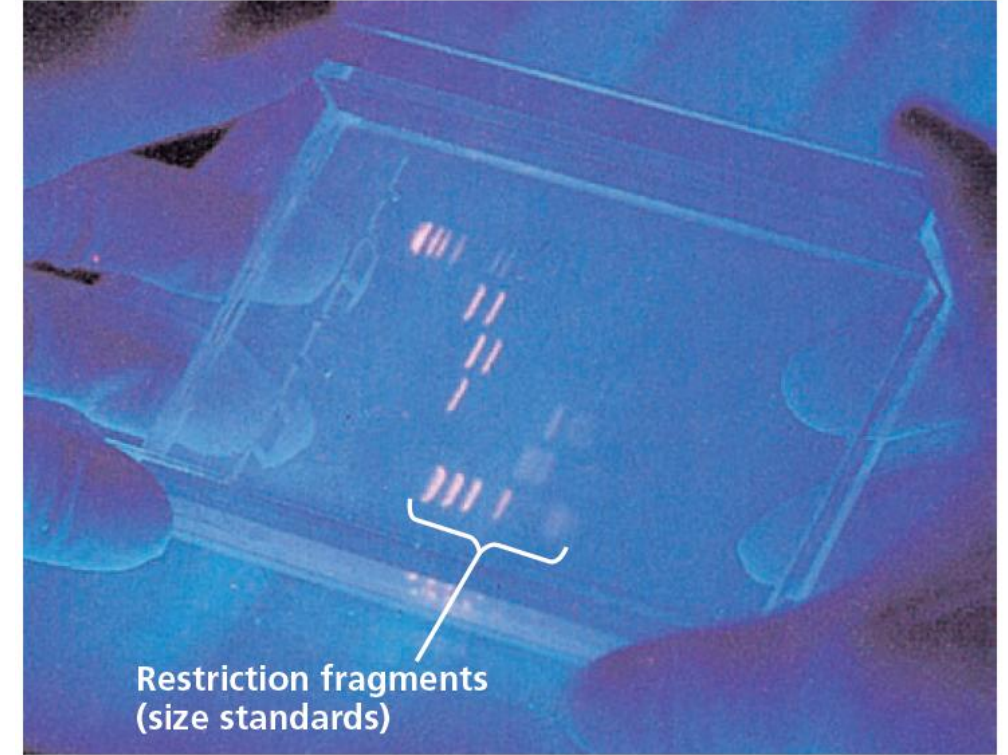
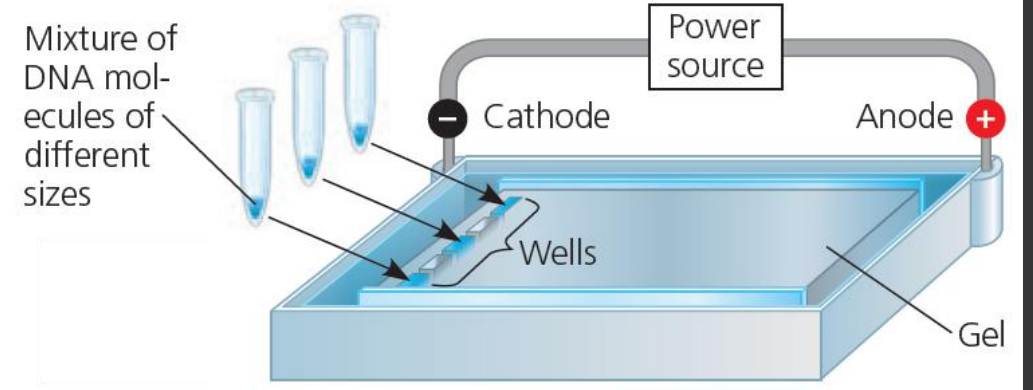
Restriksiyon Parçalarının Oluşumu

- Enzimler DNA'nın şeker-fosfat omurgasını iki zincirde de çapraz şekilde kesebilir.
- Bu kesimler sonucunda tek zincirli kısa çıkıntılar oluşur ve bunlara “yapışkan uçlar” denir.
- Yapışkan uçlar, tamamlayıcı dizilere geçici olarak bağlanabilir.
- Uygun eşleşmeler ligaz ile kalıcı bağlara dönüşür.



Rekombinant Plazmidleri Kontrol Etmek

- Çok sayıda kopyalanmış olan rekombinant plazmidler tekrar aynı enzimle kesilerek kontrol edilir.
- Beklenen şekilde iki DNA parçası ortaya çıkmalıdır; biri plazmid, diğeri eklenen DNA boyutundadır.
- Bu parçaları boylarına göre ayırmak için jel elektroforezi yapılır.
- Jel, bir karışım içindeki DNA parçalarını uzunluğuna göre ayırmaya yarar.

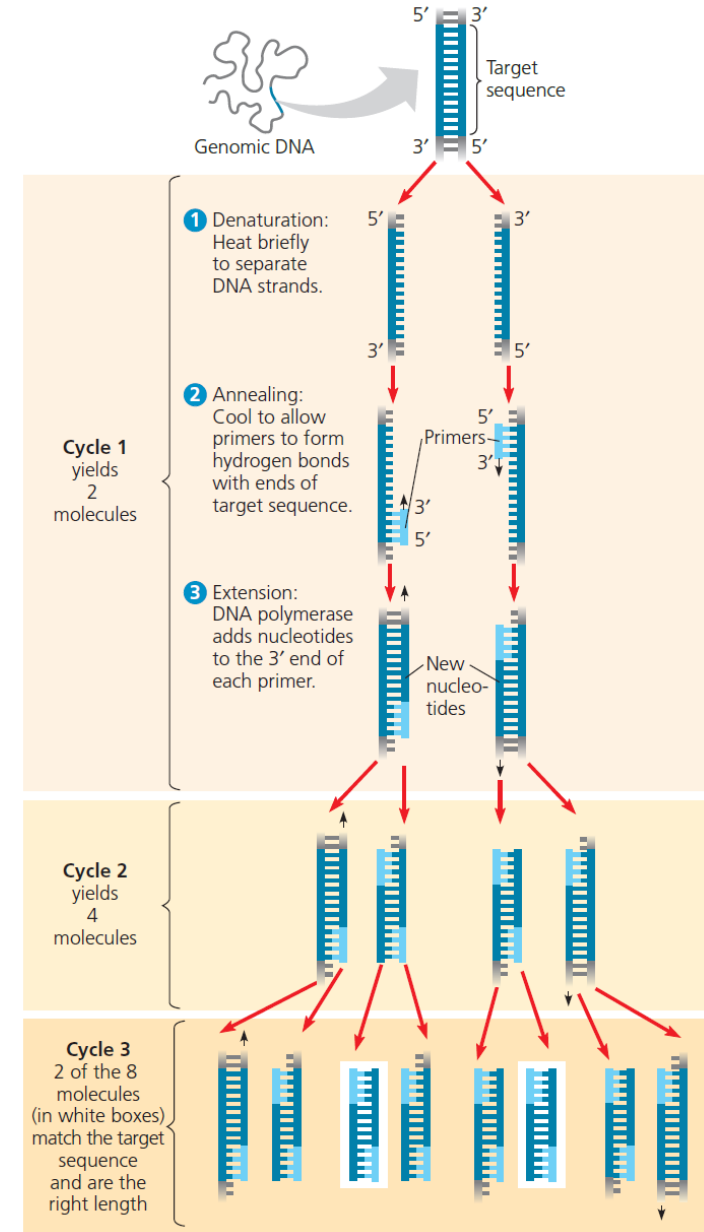


PCR ve DNA Klonlama İlişkisi

- Yabancı DNA'yı elde etmenin en yaygın yollarından biri PCR ile çoğaltmaktır.
- PCR sayesinde genom içindeki hedef DNA bölgesi, milyonlarca kez kopyalanabilir.
- Bu DNA daha sonra plazmite aktarılmak için hazır hale gelir.

PCR'ın Temel Prensipleri

- PCR'da üç aşama dögüsel olarak gerçekleşir: ısıl ayrıştırma, primer bağlanması ve uzama.
- Bu dögülerde DNA miktarı her seferinde iki katına çıkar.
- Hedef DNA çok küçük miktarda bile bulunsa çoğaltılabilir.



PCR'da Kullanılan Özel DNA Polimerazlar

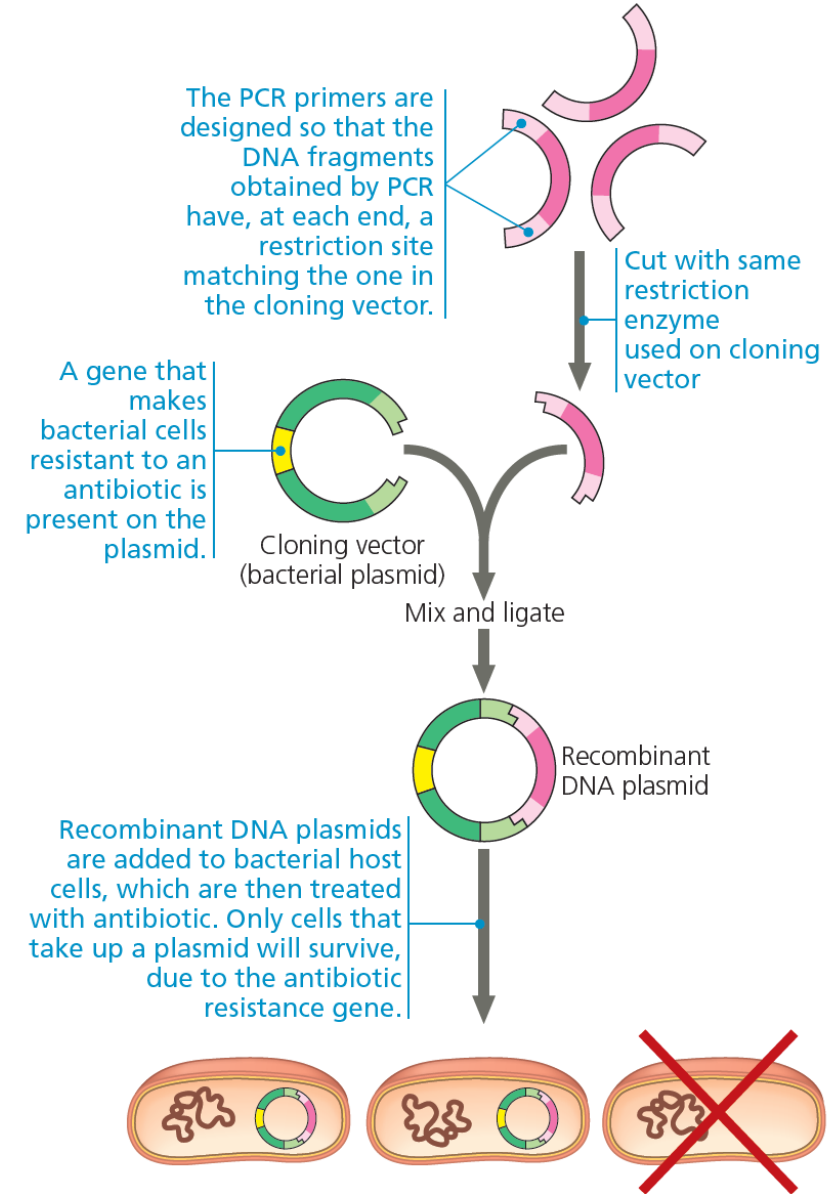
- Isıya dayanıklı enzimler sayesinde PCR işlemi otomatik hale gelmiştir.
- Taq polimeraz, sıcak su kaynaklarında yaşayan bir bakteriden elde edilmiştir.
- Pfu polimeraz ise daha doğru çalışan fakat daha pahalı bir polimerazdır.

PCR'ın Önemi ve Hızlı Sonuç Alma

- PCR hem hızlı hem de son derece spesifiktir.
- Hedef DNA bütünün %0.001'inden az olsa bile çoğaltılabilir.
- Primerler yalnızca hedef bölgeye bağlandığı için doğruluk yüksektir.

PCR ile Klonlama Birlikte Nasıl Kullanılır?

- PCR'da kullanılan primerlerin uçlarına restriksiyon bölgeleri eklenebilir.
- Böylece PCR ürünü ve plazmit aynı enzimle kesilir.
- Kesilen DNA ve plazmit ligaz ile birleştirilerek klonlama gerçekleştirilir.
- Hatasız olan rekombinant plazmitler seçilerek süreç tamamlanır.



PCR'ın Uygulamaları

- Eski fosillerden DNA çoğaltılabilir (ör: yünlü mamut).
- Adli bilimlerde çok küçük biyolojik örneklerden DNA elde edilebilir.
- Genetik hastalık tanısında tek embriyonik hücre yeterli olabilir.
- Virüs tespitinde viral genler PCR ile çoğaltılarak belirlenebilir.

Klonlanan Genlerin İfade Edilmesi

- Bir gen, konak hücrelerde klonlandıktan sonra, bu genin ürünü olan protein büyük miktarlarda üretilir.
- Bu proteinler hem araştırma amaçlı hem de çeşitli uygulamalarda kullanılabilir.
- Klonlanmış genler hem bakteriyel hem de ökaryotik hücrelerde ifade edilebilir ve her yöntemin kendine has avantajları ve sınırlamaları vardır.

Bakteriyel İfade Sistemleri

- Ökaryotik genlerin bakterilerde doğru şekilde ifade edilmesi bazı farklılıklar nedeniyle zor olabilir.
- Promotörler ve DNA kontrol dizilerindeki uyumsuzluklar bu zorlukların başında gelir.
- Bu uyumsuzlukları aşmak için sıklıkla ekspresyon vektörleri kullanılır.

Ekspresyon Vektörlerinin Rolü

- Ekspresyon vektörleri, güçlü bir bakteriyel promotöre sahip olacak şekilde tasarlanır.
- Bu promotörün hemen ardında, ökaryotik genin doğru okuma çerçevesinde yerleştirilebileceği bir restriksiyon bölgesi bulunur.
- Böylece bakteri, yabancı geni tanır ve yüksek seviyede protein sentezler.

İntron Sorunu ve cDNA Kullanımı

- Çoğu ökaryotik gen intron içerir; bu durum bakteriler için ifade sürecini bozar çünkü bakterilerde RNA işleme (özellikle intron çıkarılması) gerçekleşmez.
- İntronlar geni hem gereksiz yere uzatır hem de bakterinin proteini doğru üretmesini engeller.
- Bu problem, sadece ekzonları içeren cDNA kullanılarak çözülür.

Ökaryotik İfade Sistemleri

- Uyum sorunlarını aşmak için ökaryotik genler, ökaryot hücrelerde (örneğin mayalarda) de ifade ettirilebilir.
- Mayalar, bakteri kadar kolay kültüre edilir ve plazmid taşırlar.
- Böylece hem klonlama hem de doğru protein üretimi sağlanabilir.

Post-Translasyonel Modifikasyon Gereksinimi

- Birçok ökaryotik protein, fonksiyon kazanmak için sentez sonrası modifikasyonlara ihtiyaç duyar.
- Örneğin glikozilasyon (karbonhidrat eklenmesi) veya lipid eklenmesi gibi işlemler bakterilerde gerçekleşmez.
- Hatta bazı memeli proteinleri, mayalarda bile doğru şekilde modifiye edilemeyebilir.

İleri Ökaryotik Konaklar

- Bu nedenle bazı memeli hücre hatları ve böcek hücreleri (rekombinant DNA taşıyan bakulovirüs ile enfekte edilebilen) konak olarak kullanılır.
- Bu hücreler memeli proteinlerinin modifikasyonlarını daha doğru yapabilir.

Rekombinant DNA'nın Ökaryot Hücrelere Alınması

- DNA, elektroporasyon adı verilen kısa elektrik darbesi ile hücre içine geçirilebilir.
- Alternatif olarak, DNA mikro iğnelerle doğrudan hücre içine enjekte edilebilir.
- Bitki hücrelerinde ise *Agrobacterium tumefaciens* kullanılarak DNA aktarımı yapılabilir.

DNA'nın Ekspresyonu ve Fonksiyonel Analiz

- Eğer hücreye giren DNA, rekombinasyon yoluyla genomun bir parçası olursa ifade edilir.
- Farklı gen versiyonlarının hücrede ifade edilmesi, araştırmacılara protein fonksiyonlarını inceleme imkânı sağlar.

Türler Arası Gen İfadesi: Evrimsel Kanıtlar

- Bir türün geni, çoğu zaman çok farklı bir türde de çalışabilir.
- Bu durum, canlıların ortak evrimsel kökene sahip olduklarını gösterir.
- Tütün bitkisine aktarılan ateşböceği geni veya fare geninin sinekte ifade edilmesi buna örnektir.

Pax-6: Evrimsel Korunumun arpıcı Bir Örneği

- Pax-6 geni hem omurgalılarda hem de meyve sineklerinde göz gelişiminden sorumludur.
- Fare Pax-6 geni, meyve sineği embriyosunda bile bileşik göz oluşumunu tetiklemiştir.
- Aynı şekilde sinek Pax-6 geni, omurgalı embriyosunda göz gelişimini başlatabilmiştir.

Sonuç: Gen İfadesinde Evrensel Mekanizmalar

- Farklı türlerdeki hücreler benzer genetik ifade mekanizmasını kullanır.
- Bu ortaklık, rekombinant DNA teknolojilerinin temel dayanağıdır.
- Tüm canlıların çok eski bir ortak ataya sahip olduğunun güçlü bir göstergesidir.

Gen İfadesi ve Fonksiyonunun Araştırılması

- DNA teknolojisi, genlerin nasıl çalıştığını anlamak için önemli bir araçtır.
- Bir genin ne zaman ve nerede ifade edildiğini incelemek, o genin hücre içindeki rolüne dair ipuçları verir.
- Böylece, biyolojik bir sistemin işleyişi daha iyi anlaşılır.

Gen İfadesi Analizi: Neden Önemli?

- Farklı hücre tiplerinin hangi genleri ifade ettiği belirlenerek işlevsel farklılıklar ortaya konabilir.
- Kanser hücreleri ya da embriyonik dokular gibi özel hücrelerde ifade edilen genler özellikle araştırılır.
- Bu analizlerde, hücrelerin hangi mRNA'ları ürettiğine bakmak en temel yöntemdir.

Tekil Gen İfadesinin İncelenmesi

- Gelişimde rol oynadığı düşünülen bir genin, embriyonun hangi hücrelerinde aktif olduğu belirlenmek istenir.
- Bunun için, o gene ait mRNA'nın nerede bulunduğu araştırılır.
- Bu yaklaşım, genin işlevsel olarak hangi hücrelerde görev yaptığını gösterir.

Nükleik Asit Problemleri ve Hibridizasyon

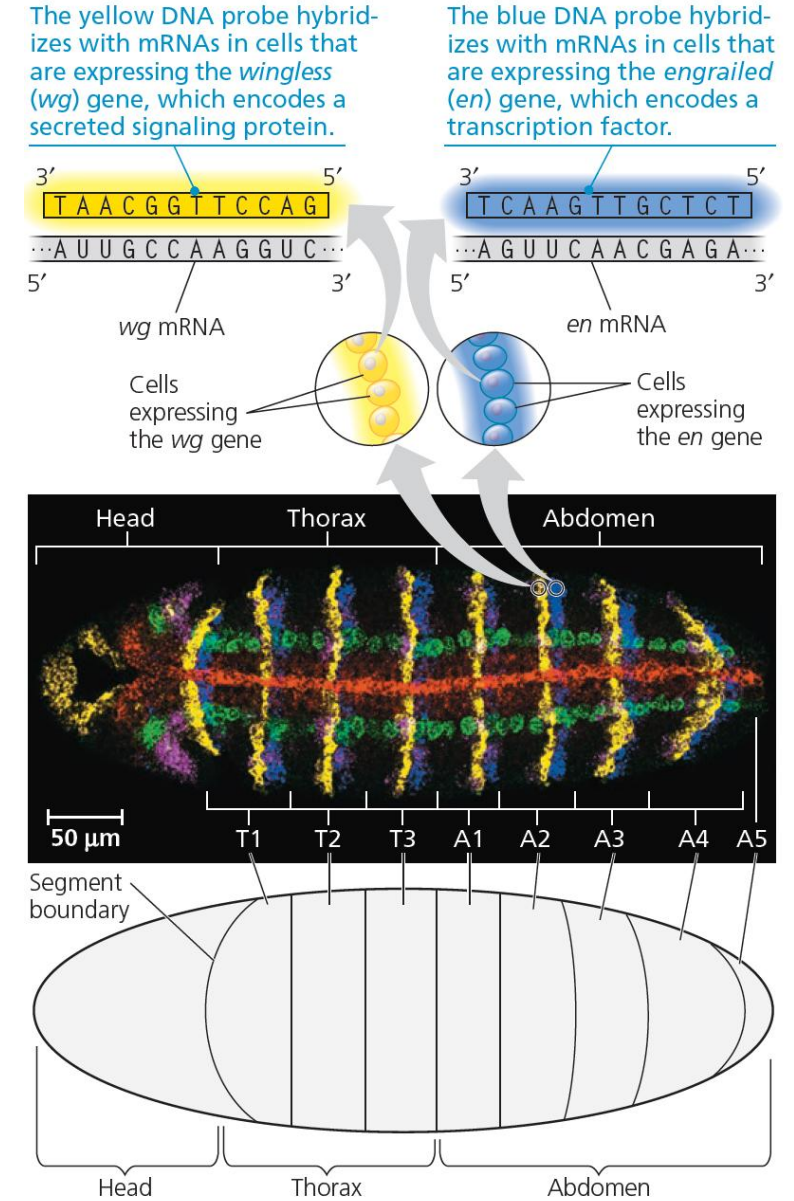
- mRNA'yı tespit etmek için tamamlayıcı diziye sahip nükleik asit problemleri kullanılır.
- Klonlanan gen, prob sentezi için kalıp gibi kullanılır.
- Prob molekülleri floresan etiketlidir ve hedef mRNA ile eşleştiğinde sinyal verir.

In Situ Hibridizasyon Yöntemi

- Prob içeren çözelti, bütün haldeki embriyolara uygulanır ve prob, ilgili mRNA ile hücre içinde bağlanır.
- Bu nedenle yöntem “yerinde inceleme” anlamına gelen *in situ* hibridizasyon olarak adlandırılır.
- Farklı problemlerin farklı renklerde etiketlenmesiyle göz alıcı görüntüler elde edilir.

In Situ Hibridizasyon Yöntemi

- Yanda, *Drosophila* embriyosunda ifade edilen bir genin ifadesini tespit etmek için uygulanan *in situ* hibridizasyon örneği görülmektedir.
- Sarı DNA probu, salgılanan bir sinyal proteinini kodlayan kanatsız (wg) genini ifade eden hücrelerdeki mRNA'larla hibritleşir.
- Mavi DNA probu, transkripsiyon faktörünü kodlayan engrailed (en) genini ifade eden hücrelerdeki mRNA'larla hibritleşir.
- Her bir hibritin oluşturduğu bant deseni, ilgili genin embriyoda tam olarak nerelerde yoğunlaştığını gösterir.

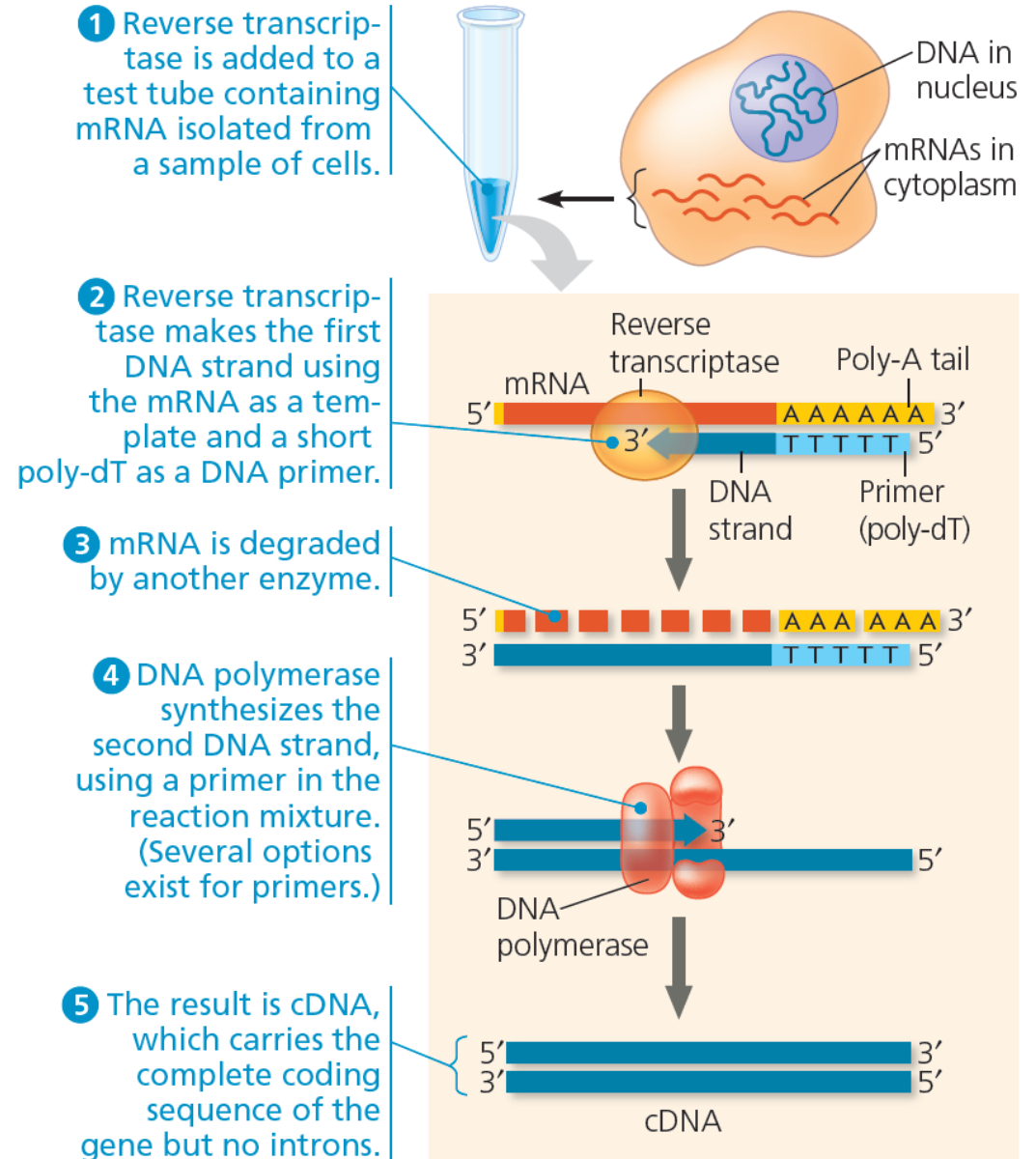


RT-PCR ile mRNA Karşılaştırılması

- Aynı anda birden fazla örnekteki mRNA miktarlarını karşılaştırmak gerektiğinde RT-PCR (revers transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonu) tercih edilir.
- Bu yöntem ile belirli bir genin farklı dokularda veya gelişim evrelerinde ifade düzeyi incelenebilir.
- RT-PCR, tek gen ekspresyon analizi için yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir.

RT-PCR: cDNA Oluşturulması

- Hücre örneğinden izole edilen mRNA'yı içeren bir test tüpüne revers transkriptaz eklenir.
- Revers transkriptaz, mRNA'yı kalıp olarak ve kısa bir poli-dT'yi DNA primeri olarak kullanarak ilk DNA zincirini oluşturur.
- mRNA başka bir enzim tarafından parçalanır.
- DNA polimeraz, reaksiyon karışımındaki bir primeri kullanarak ikinci DNA zincirini sentezler.
- Sonuçta genin tüm kodlama dizisini taşıyan ancak intron içermeyen cDNA ortaya çıkar.



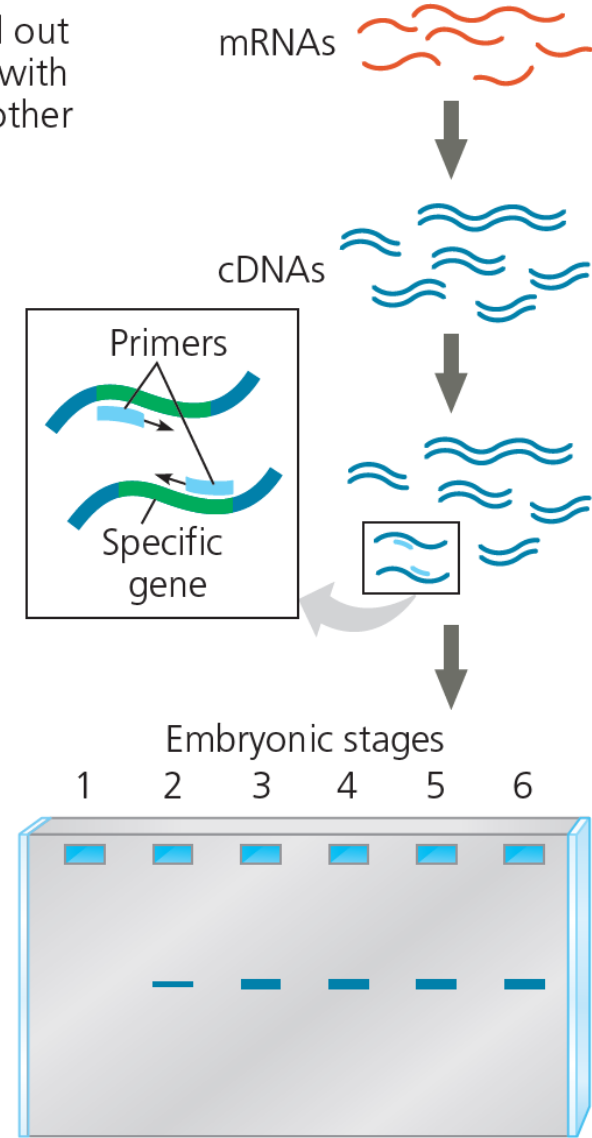
Gen İfadesinin Doğrulanması: PCR Aşaması ile Amplifikasyon

- Örneğin; *Drosophila* embriyolarının farklı gelişim aşamalarından alınan mRNA'lar cDNA'ya dönüştürülür
- Böylece genin zaman içinde ne kadar ifade edildiği analiz edilebilir.
- Daha sonra cDNA, PCR ile çoğaltılır
- PCR ürünleri jel üzerinde bantlar oluşturur; bu bantlar genin ifade edildiği örnekleri gösterir.
- Bantların varlığı, ilgili mRNA'nın o örnekte bulunduğunu kanıtlar.

1 cDNA synthesis is carried out by incubating the mRNAs with reverse transcriptase and other necessary components.

2 PCR amplification of the sample is performed using primers specific to the *Drosophila* gene of interest.

3 Gel electrophoresis will reveal amplified DNA products only in samples that contained mRNA transcribed from the specific *Drosophila* gene.



Kantitatif RT-PCR (qRT-PCR)

- Gelişmiş bir yöntem olan qRT-PCR, floresan boyalar ile eşzamanlı ölçüm yapar.
- Böylece elektroforeze gerek kalmaz ve nicel veri elde edilir.
- Farklı dokular arasındaki mRNA düzeyleri sayısal olarak karşılaştırılabilir.

Genlerin Birlikte Çalışmasını Anlamak

- Genler, bir organizmanın yapı ve işlevini birlikte oluşturan etkileşimli bir sistemdir.
- Biyologlar, genlerin beraber nasıl çalıştığını anlamaya büyük önem verir.
- Tüm genom dizilerinin elde edilmesi, bu araştırmaların kapsamını genişletmiştir.

Sistem Yaklaşımı ile Gen İfadesi Analizi

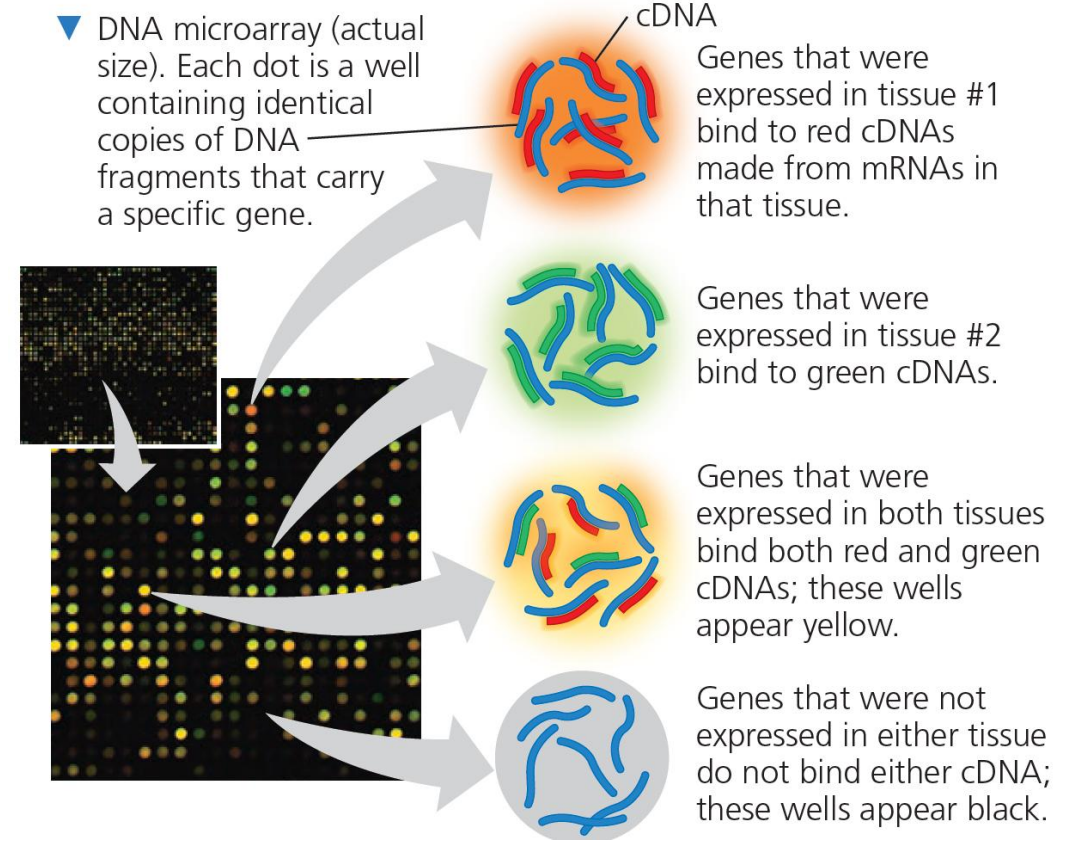
- Bir türün tüm genomu bilindiğinde, farklı dokularda hangi genlerin aktif olduğu araştırılabilir.
- Amaç, tüm genom boyunca ifade edilen gen ağlarını ortaya çıkarmaktır.
- Bu çalışmalar, hücresel işleyişin bütüncül şekilde yorumlanmasını sağlar.

DNA Mikroarray Teknolojisine Giriş

- DNA mikroarray, yüzlerce–binlerce gen parçasını içeren, cam bir yüzey üzerine yerleştirilmiş DNA noktalarından oluşur.
- Bu teknoloji, aynı anda çok sayıda genin ifade durumunu incelemeyi sağlar.
- Mikroarray, bilgisayar çipine benzediği için DNA çipi olarak da adlandırılır.

Mikroarray'in İşleyişi

- İncelenen hücrelerden elde edilen mRNA'lar cDNA'ya dönüştürülerek floresanla etiketlenir.
- Farklı örnekler farklı renkte etiketlenir ve aynı deneyde test edilebilir.
- Çip üzerinde ise ilgilenilen canlının tam gen seti bulunur.
- cDNA karışımı çip üzerine uygulandığında çipteki genlerden komplementer olan ile renkli hibridizasyon noktaları oluşur.
- Çip üzerindeki renkli noktalar, hangi genlerin ifade edildiğini gösterir.



Mikroarray Teknolojisinin Yeri ve Gelişimi

- Mikroarray kullanımı 1995 sonrası hızla artmıştır.
- Zamanla daha gelişmiş uygulamalar ortaya çıkmış ve aktif olarak kullanılmaktadır.
- Ancak yeni teknolojiler nedeniyle mikroarray kullanımı günümüzde azalmaktadır.

RNA-Seq: Yeni Nesil Yaklaşım

- Çalışılan dokudan mRNA'lar izole edilir.
- mRNA'lar benzer büyüklükteki küçük parçalara kesilir.
- mRNA'lar revers transkriptaz enzimi kullanılarak aynı boyuttaki cDNA'lara dönüştürülür.
- cDNA'lar dizilenir.
- Kısa diziler bilgisayar tarafından genom dizisine eşlenir.
- Elde edilen veriler, bir dizinin kaç kez mevcut olduğu da dahil olmak üzere, belirli bir dokuda hangi genlerin hangi düzeyde ifade edildiğini gösterir.

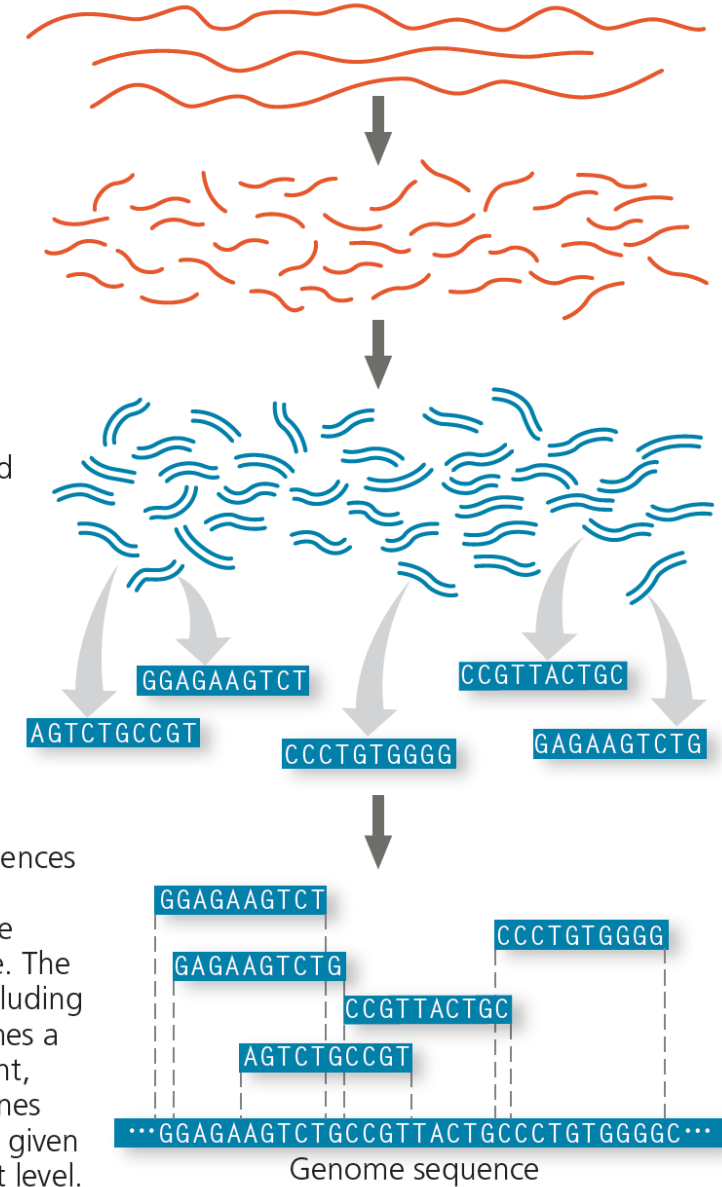
1 mRNAs are isolated from the tissue being studied.

2 mRNAs are cut into similar-sized, small fragments.

3 mRNAs are reverse-transcribed into cDNAs of the same size.

4 cDNAs are sequenced.

5 The short sequences are mapped by computer onto the genome sequence. The resulting data, including the number of times a sequence is present, indicate which genes are expressed in a given tissue and at what level.



RNA-Seq'in Avantajları

- Hibridizasyona bağılı olmadığı için gen dizileri önceden bilinmese de kullanılabilir.
- Çok düşük ya da çok yüksek ifade düzeyleri bile doğru ölçülebilir.
- Alternatif splicing gibi mRNA varyasyonları ayrıntılı biçimde analiz edilebilir.

Onay ve Karşılaştırmalı Analizler

- RNA-seq sonuçlarının çoğu, tek gen düzeyinde RT-PCR ile doğrulanır.
- Böylece hem geniş ölçekli tarama hem de güvenilir doğrulama bir arada sağlanır.

Hastalık İncelemelerinde Kullanımı

- DNA teknolojileri, binlerce genin aynı anda ölçülmesini mümkün kılmıştır.
- Örneğin, meme kanseri dokuları ile sağlıklı dokuların ifade profilleri karşılaştırılabilir
- Bu analizler daha doğru teşhis ve daha etkili tedavi yaklaşımlarına katkı sağlar.

Büyük Resim: Gen Ağlarının Keşfi

- Gen etkileşim ağları, hücre ve organizma düzeyindeki işleyişi anlamamıza yardımcı olur.
- Mikroarray ve RNA-seq, canlıların hayati sistemlerini oluşturan gen topluluklarını ortaya çıkarır.
- Bu yöntemler, genlerin koordineli çalışmasını anlamada güçlü bir bilimsel temel sunar.

Bir Genin Ne İŖe Yaradığı Nasıl AnlaŖılır?

- Bir genin DNA dizisi, diğer tŖrlerdeki benzer dizilerle karŖılaŖtırılarak olası iŖlevi tahmin edilir.
- BaŖka bir tŖrde benzer genin gŖrevi biliniyorsa, ilgili genin de benzer bir role sahip olduğu dŖŖŖnŖlebilir.
- Genin ne zaman ve nerede ifade edildiğine dair veriler, iŖlevle ilgili çıkarımları gŖçlendirir.
- Daha net kanıt için, gen devre dıŖı bırakılarak hŖcre veya organizmada oluŖan deđiŖiklikler gŖzlenir.

Genleri Devre Dışı Bırakarak İşlev Öğrenme

- Bilim insanları uzun süredir genetik materyali belirli bir şekilde değiştirme yöntemleri geliştirmektedir.
- *In vitro* mutagenез yöntemiyle, klonlanmış bir gene kasıtlı mutasyonlar eklenir ve hücreye yeniden verilerek genin normal kopyaları etkisiz hale getirilir.
- Ortaya çıkan hücresel ya da organizma fenotipi, gen ürününün normal işlevi hakkında ipuçları sağlar.
- Bu teknik 1980'lerde geliştirilmiş ve araştırmacılar farelerde istenen genleri devre dışı bırakmayı başarmıştır.

Büyük Başarı: Nobel Ödülü

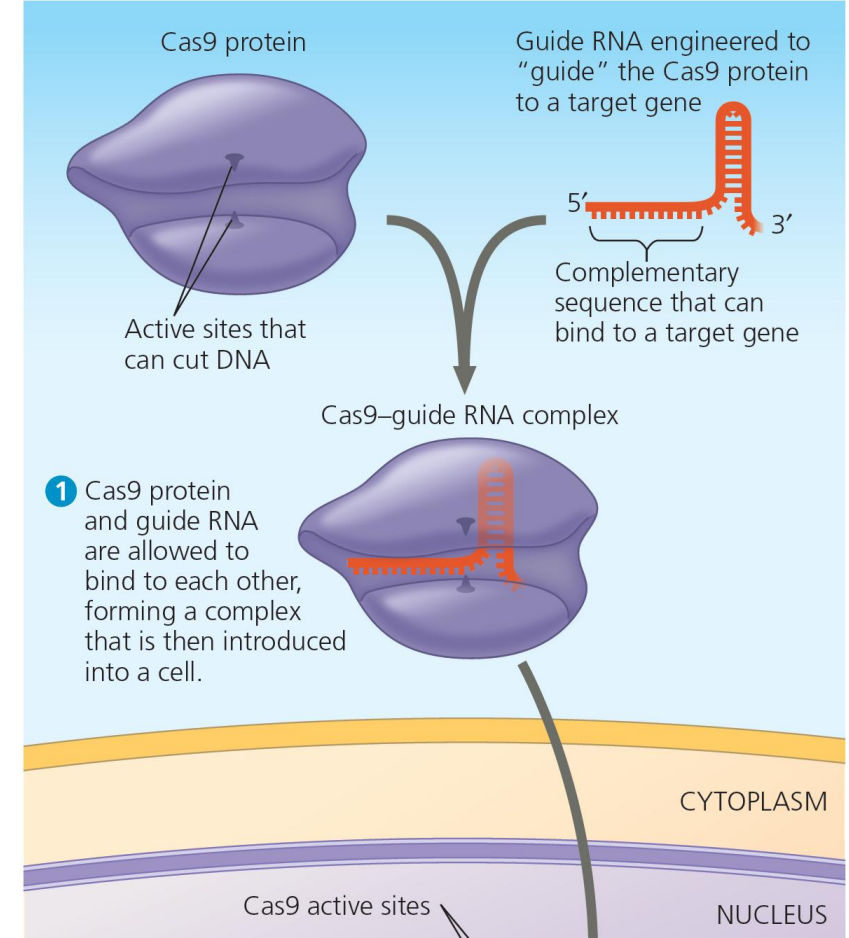
- Fare genlerini hedefli şekilde devre dışı bırakmaya yönelik bu teknik, gelişim ve yetişkin fizyolojisi çalışmalarında devrim yaratmıştır.
- Mario Capecchi, Martin Evans ve Oliver Smithies bu çalışmaları sayesinde 2007 Nobel Ödülü'nü almıştır.

CRISPR-Cas9: Yeni Nesil Gen Düzenleme

- Son 10 yılda geliştirilen CRISPR-Cas9, gen düzenleme alanında büyük bir devrim yaratmıştır.
- Cas9, bakterilerin virüslere (bakteriyofajlara) karşı savunma sisteminde görev yapan bir proteindir.
- Cas9, “kılavuz RNA” ile birlikte çalışarak hedef DNA dizisini tanır ve çift zincirli kesim yapar.
- Bu sistem Jennifer Doudna ve Emmanuelle Charpentier’in araştırmalarıyla açıklığa kavuşmuştur.

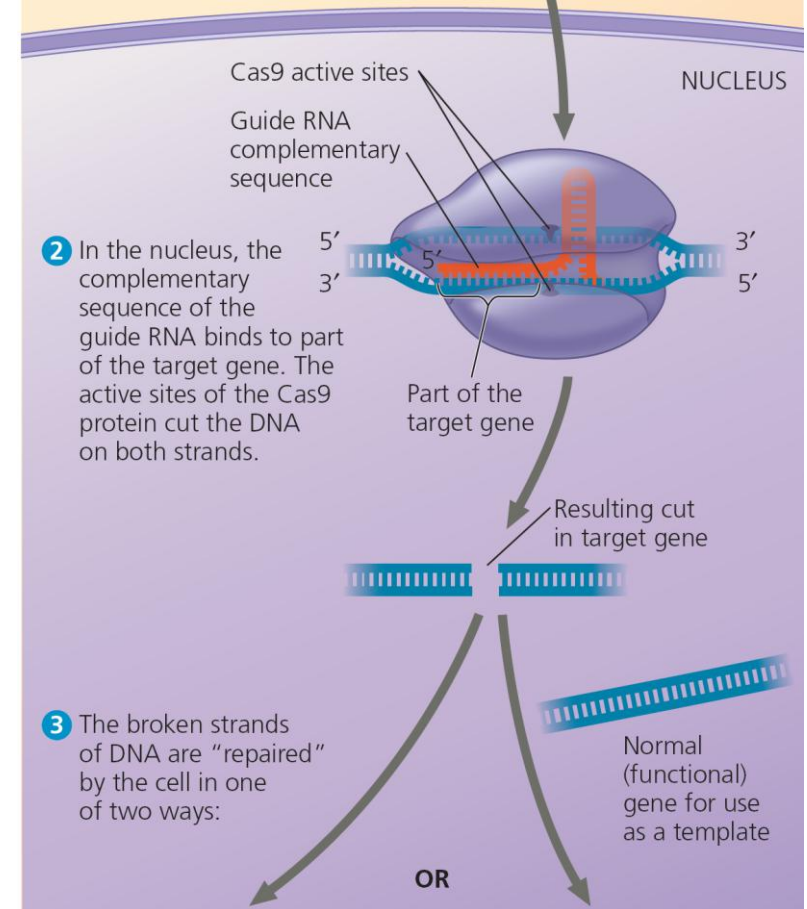
CRISPR Nasıl Hedef Seçiyor?

- Cas9 farklı dizileri kesebilen bir endonükleazdır; yönlendirme işlemini kılavuz RNA sağlar.
- Cas9 proteini ve rehber RNA'nın birbirine bağlanmasına izin verilir ve daha sonra hücreye sokulan bir kompleks oluşturulur.



CRISPR Nasıl Hedef Seçiyor?

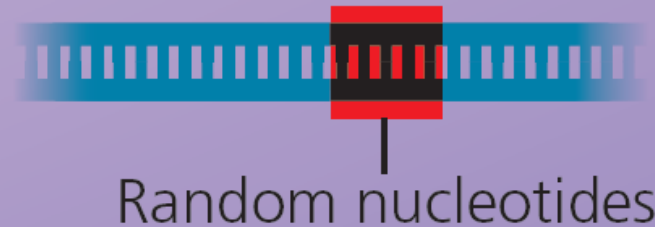
- Çekirdekte, kılavuz RNA'nın tamamlayıcı dizisi hedef genin bir kısmına bağlanır.
- Cas9 proteininin aktif bölgeleri, DNA'yı her iki iplikçikten de keser.



CRISPR Nasıl Hedef Seçiyor?

- DNA'nın kırık zincirleri hücre tarafından iki şekilde "onarılır":
- 1) Bilim insanları, hedef geni normal işlevini incelemek için devre dışı bırakabilir.
- Herhangi bir kalıp sağlanmaz ve onarım enzimleri rastgele nükleotidler ekleyerek ve/veya silerek geni işlevsiz hale getirir.

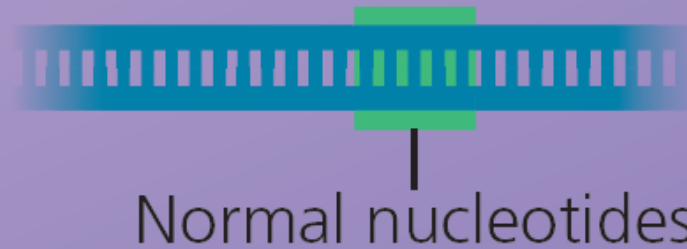
Scientists can disable ("knock out") the target gene to study its normal function. No template is provided, and repair enzymes insert and/or delete random nucleotides, making the gene nonfunctional.



CRISPR Nasıl Hedef Seçiyor?

- 2) Hedef gende bir mutasyon varsa, genin normal bir kopyası sağlanarak onarılabilir.
- Onarım enzimleri, normal geni kalıp olarak kullanır ve doğru gen dizisini sentezler.

If the target gene has a mutation, it can be repaired by providing a normal copy of the gene. Repair enzymes use the normal gene as a template and synthesize the correct gene sequence.



Genleri Etkisizleştirme (Knock-Out)

- Kesilen DNA, bazen hatalı onarıldığı için gen artık çalışamaz.
- Bu yöntemle genler devre dışı bırakılarak o genin işlevi anlaşılabılır.
- CRISPR, bakteri, balık, fare, böcek, insan hücreleri ve bitkiler dahil birçok organizmada başarıyla kullanılmaktadır.
- Teknoloji, gen işlevi araştırmalarında son derece etkili bir araçtır.

Mutant Genlerin Onarılması

- Araştırmacılar CRISPR'ı yalnızca gen bozmak için değil, hatalı genleri düzeltmek için de kullanmıştır.
- Normal gen parçası da hücreye verilir; kesilen bölgede onarım bu kalıp kullanılarak yapılır.
- Bu uygulama, gen tedavisinde büyük potansiyel taşır.

CRISPR ve Küresel Sağlık: Gen Sürükleme (Gene Drive)

- Bazı çalışmalarda, hastalık taşıyan böceklerin genleri değiştirilerek hastalık yaymaları engellenmeye çalışılır.
- Yeni eklenen allel, kalıtımda avantajlı hale getirilerek popülasyona hızla yayılabilir.
- Bu duruma “gen sürükleme” (gene drive) adı verilir; popülasyonun genetik yapısını kısa sürede değiştirebilir.
- Bu yaklaşım, özellikle sivrisineklerle taşınan bulaşıcı hastalıklara çözüm arayışlarında değerlendirilmektedir.

RNA İnterferans (RNAi): Gen Susturma Yaklaşımı

- RNA interferans (RNAi), belirli genlerin ifadesini sessizleştirmek için kullanılan bir tekniktir.
- Bu yöntemde, hedef gen dizisine uygun sentetik çift sarmallı RNA molekülleri kullanılır.
- Hedef genin mRNA'sının parçalanması veya translasyonunun engellenmesi sağlanır.
- RNAi, genomda kalıcı bir değişiklik oluşturmaz; geçici bir ifade azalmasına yol açar.

RNAi'nin Uygulama Alanları

- Özellikle nematodlar ve meyve sineği gibi model organizmalarda yaygın uygulanır.
- Çok sayıdaki genin fonksiyonunun hızlı ve geniş ölçekli analizine olanak sağlar.
- CRISPR-Cas9'a göre daha hızlıdır, ancak kalıcı gen knockout'u oluşturmaz.

İnsanlarda Gen Fonksiyonu Çalışmaları

- Etik nedenlerle insanlarda genlerin doğrudan knockout edilmesi uygun değildir.
- Bunun yerine belirli hastalıklara sahip büyük insan gruplarının genomları incelenir.
- Bu kişilerde ortak genetik farklılıkların bulunması hedeflenir.
- Bu farklılıkların, hastalıkla ilişkili bozuk genlerden kaynaklı olabileceği düşünülür.

Genome-Wide Association Studies (GWAS)

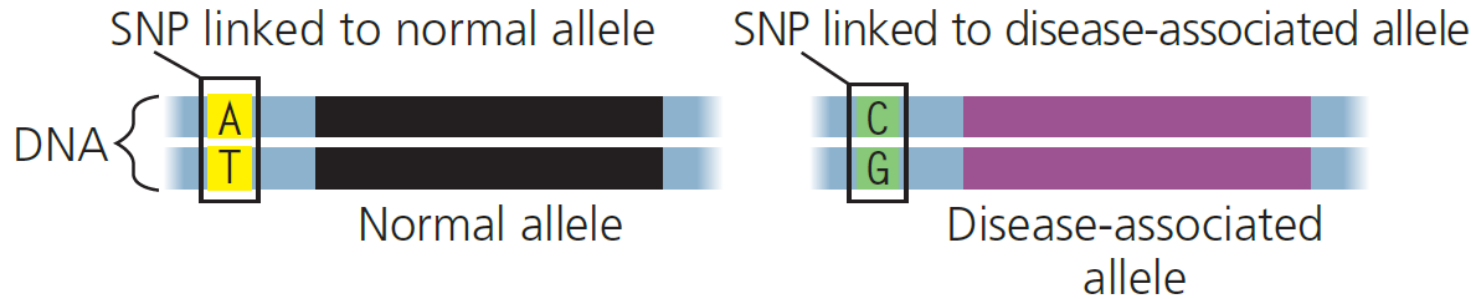
- Bu geniş ölçekli çalışmalar, popülasyonda değişkenlik gösteren genetik belirteçleri araştırır.
- Genlerdeki dizilim farklılıkları farklı allellerin oluşmasına neden olur.
- Kodlamayan DNA bölgelerinde de küçük nükleotid farklılıkları görülebilir.
- Bu DNA dizisi farklılıkları genel olarak polimorfizm olarak adlandırılır.

Tek Nükleotid Polimorfizmleri (SNP'ler)

- İnsan genomunda tek bazlık farklılıklar oldukça yaygındır.
- Popülasyonun en az %1'inde görülen bu farklılıklar SNP olarak adlandırılır.
- İnsan genomunda milyonlarca SNP bulunur ve bunlar kodlayan ya da kodlamayan bölgelerde yer alabilir.
- SNP tespiti için tüm genomun dizilenmesine gerek yoktur; mikrodizi, RNA-seq veya PCR kullanılabilir.

SNP'lerin Hastalık Araştırmalarındaki Rolü

- Hastalıklı bireylerin tamamında görülen bir SNP belirlenirse, o bölge ayrıntılı dizilenir.
- Genellikle ilgili SNP hastalık nedenini direkt oluşturmaz, çünkü çoğu kodlamayan bölgelerde yer alır.
- Ancak SNP ile hastalıkla ilişkili allel birbirine çok yakınsa, bağlı kalıtım nedeniyle birlikte aktarılır.
- Bu sayede araştırmacılar hedef geni dar bir bölgede arayabilir.



Hastalıklarla İlişkilendirilmiş SNP Örnekleri

- Şimdiye dek SNP'ler ile diyabet, kalp hastalıkları ve bazı kanser türleri arasında bağlantılar bulunmuştur.
- Araştırmalar, bu hastalıklarda etkili olabilecek genlerin belirlenmesi yönünde devam etmektedir.

Moleküler Yaklaşımlardan Organizma Düzeyine

- Bu kısımdaki yöntemler, ağırlıklı olarak DNA ve protein düzeyinde çalışmalara odaklanmaktadır.
- Ancak biyologlar, çok hücreli canlıların klonlanması gibi daha ileri organizma düzeyi teknikler de geliştirmektedir.
- Bu çalışmaların önemli bir amacı, tüm doku tiplerini oluşturabilen kök hücreleri elde edebilmektir.
- Kök hücrelerin genetik olarak yönlendirilmesi, hastalık tedavilerinde yeni imkânlar sunabilir.

Organizma Klonlama Kavramı

- Bilim insanları, tek bir hücreden çok hücreli canlılar klonlama yöntemlerini geliştirmektedir.
- Bu süreçte ortaya çıkan bireyler, hücreyi veren canlıya genetik olarak birebir benzer olur.
- Buna organizma klonlama denir ve gen klonlama veya hücre klonlamadan ayrılır.
- İlgi, özellikle kök hücre üretme potansiyeli nedeniyle artmaktadır.

Kök Hücre Nedir?

- Kök hücreler, uzmanlaşmamış hücrelerdir ve süresiz bölünebilir.
- Uygun koşullarda farklı uzmanlaşmış hücre tiplerine dönüşebilirler.
- Bu özellikleriyle hasarlı dokuların yenilenmesinde büyük umut vaat ederler.

Klonlama Araştırmalarının Başlangıcı

- İlk klonlama çalışmaları 50 yıl önce, temel biyolojik sorulara yanıt aramak için yapılmıştır.
- Amaçlardan biri, tüm hücrelerin aynı genlere sahip olup olmadığını anlamaktı.
- Temel soru şudur: Bir farklılaşmış hücre, yeniden tüm canlıyı oluşturabilir mi?
- Yanıt için bitki ve hayvanlar üzerinde deneyler yapılmıştır.

Bitkilerde Klonlama ve Totipotensi

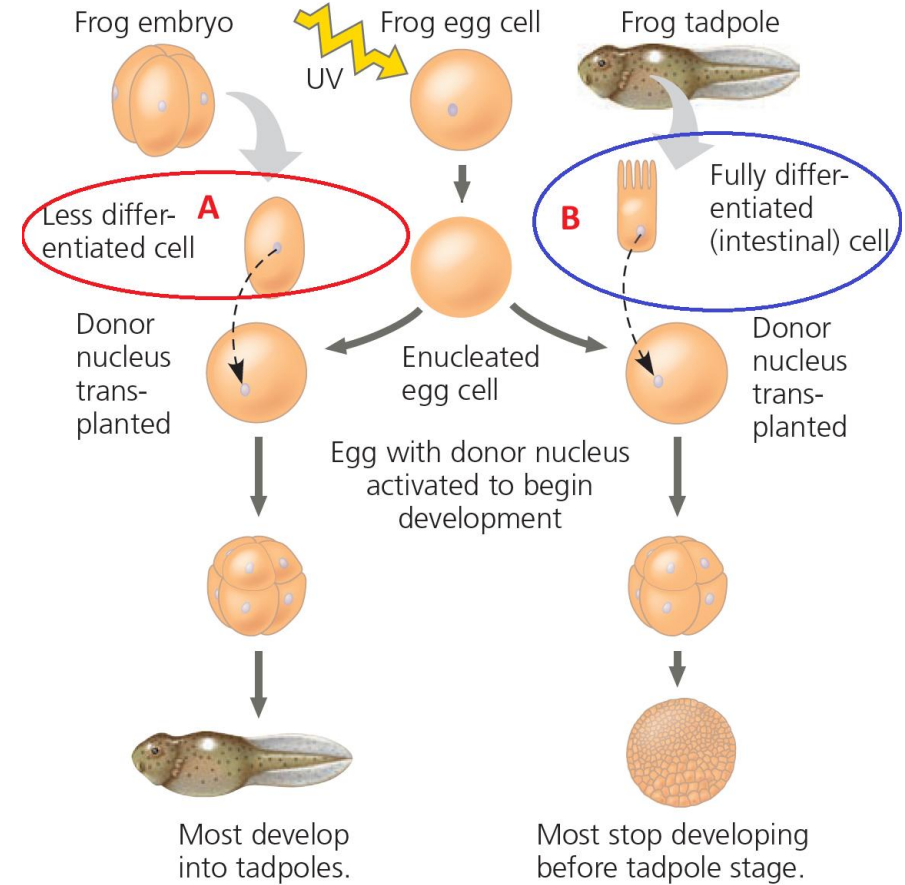
- 1950'lerde, F. C. Steward ve ekibi havuç bitkisi ile önemli bir başarı elde etti.
- Kökten alınan farklılaşmış hücreler, kültürde yeni bitkiler oluşturdu.
- Bu deneyler, bitkilerde DNA'nın kalıcı şekilde değişmediğini gösterdi.
- Bu potansiyeli taşıyan hücrelere totipotent hücre denir.

Bitki Klonlamanın Uygulamaları

- Tarımda bitki klonlama yaygın olarak uygulanır.
- Özellikle orkide gibi türlerde ticari çoğaltmanın tek yolu olabilir.
- Hastalıklara dayanıklı bitkilerin aynı özellikleriyle çoğaltılması sağlanır.
- Evde dal kesip köklendirmek de bir klonlama örneğidir.

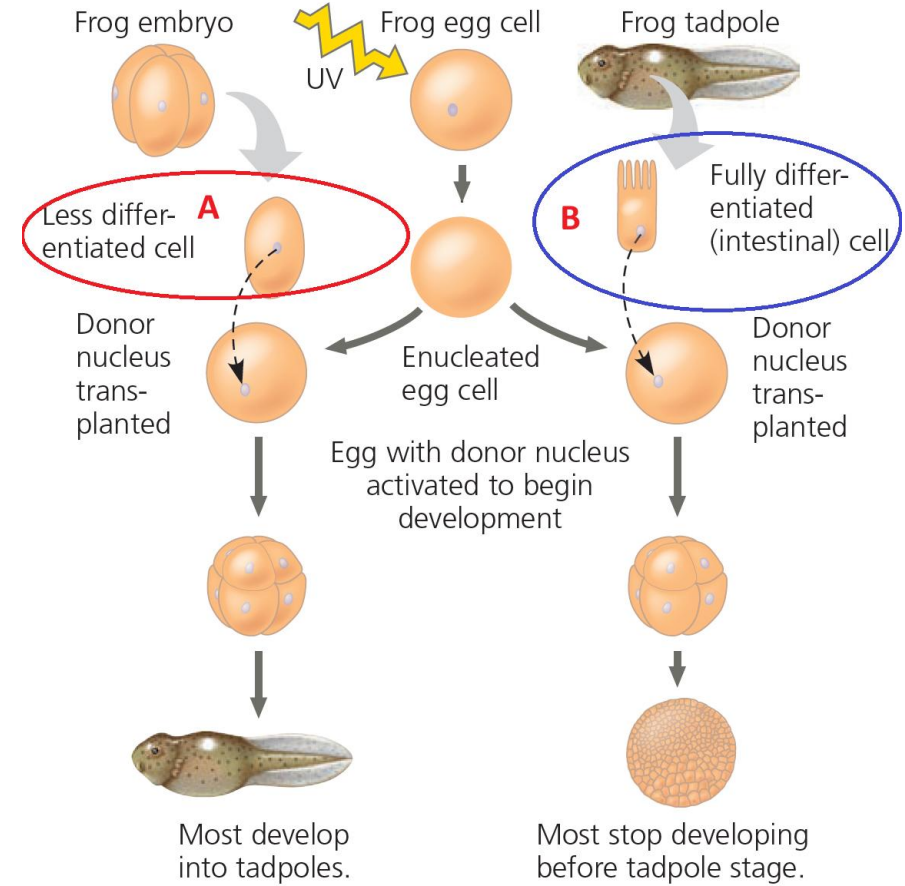
Hayvanlarda Klonlama: Nükleer Transplantasyon

- Hayvan hücreleri kültürde bölünmez, bu yüzden farklı bir yöntem gerekmiştir.
- Çekirdeği çıkarılmış bir yumurtaya, farklılaşmış hücre çekirdeği aktarılır.
- Bu yönleme somatik hücre nükleer transferi denir.
- Bu deneyler, *Rana pipiens* ve *Xenopus laevis* türü kurbağalarda yapılmıştır.



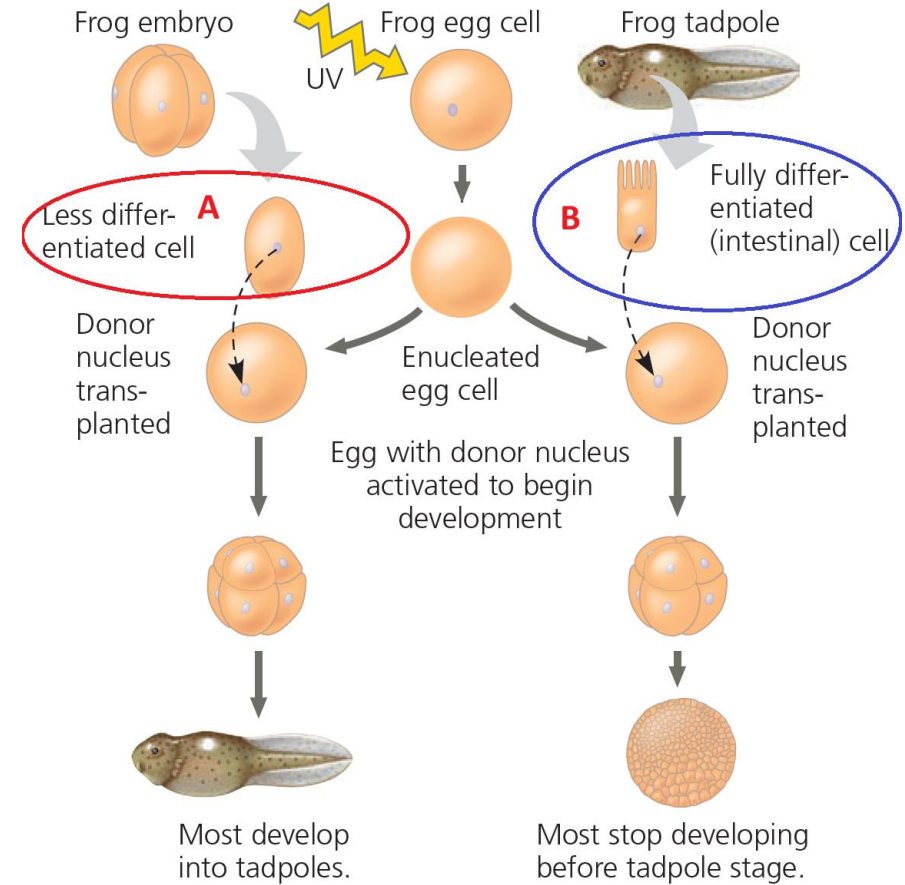
Hayvanlarda Klonlama: Nükleer Transplantasyon

- Nakledilen çekirdekler, hücreleri nispeten farklılaşmamış erken bir embriyodan alındığında (A), alıcı yumurtaların çoğu kurbağa yavrusuna dönüşmüştür.
- Ancak çekirdekler bir kurbağa yavrusunun tamamen farklılaşmış bağırsak hücrelerinden alındığında (B), yumurtaların %2'sinden azı normal kurbağa yavrusuna dönüşmüş ve embriyoların çoğu çok daha erken bir aşamada gelişmeyi durdurmuştur.



Nükleer Potansiyelin Yaşa Bağlı Değişimi

- John Gurdon, çekirdeğin gelişim potansiyelinin yaşla azaldığını ortaya koydu.
- Donör hücre çekirdeği ne kadar yaşlıysa, başarı oranı o kadar düşüyordu.
- Bu bulgu, farklılaşma sırasında çekirdekte değişiklikler olduğunu gösterdi.
- Gurdon, bu çalışmalarla 2012 Nobel Tıp Ödülünü aldı.



Memelilerde Üreme Amaçlı Klonlama

- Kurbağalardan sonra, memelilerde de erken embriyo çekirdekleri kullanılarak klonlama başarıldı.
- Ancak uzun süre, tam farklılaşmış hücrelerden klonlamanın mümkün olup olmadığı bilinmiyordu.
- 1997'de Dolly adlı koyun, erişkin meme hücresi çekirdeğinden klonlandı.
- Yüzlerce embriyodan sadece biri başarıyla doğdu.



Epigenetik Yeniden Programlama Sorunları

- Dolly, 6 yaşında akciğer enfeksiyonu nedeniyle öldü.
- Başka bir klon koyunda olağandışı akciğer hastalığı görüldü.
- Bu durum, çekirdeğin tam yeniden programlanamamasıyla (re-programming) ilişkili olabilir.
- Yeniden programlama, kromatin yapısını değiştiren epigenetik süreçler içerir.

Klonlanmış Hayvanlarda Farklılıklar

- Aynı hücre hattından klonlanan inekler bile davranışsal farklılıklar gösterebilir.
- İlk klon kedi CC (Carbon Copy), ebeveynine göre farklı renk desenine sahiptir.
- Bu farklılık, X kromozomu inaktivasyonu gibi rastlantısal olaylardan kaynaklanır.
- Doğal “klonlar” olan tek yumurta ikizleri bile tamamen aynı değildir.



Klonlama Verimliliğinde Sorunlar

- Nükleer transplantasyon çalışmalarında, klon embriyoların yalnızca çok az bir kısmı doğuma kadar normal gelişim gösterebilir.
- Dolly örneğinde olduğu gibi, birçok klon hayvanda gelişimsel kusurlar ortaya çıkabilir.
- Klonlanmış farelerde obezite, zatürre, karaciğer yetmezliği ve erken ölüm gibi ciddi sorunlar gözlenmiştir.
- Normal görünen klonlar bile gizli kusurlar taşıyabilir.

Epigenetik Düzen Bozuklukları

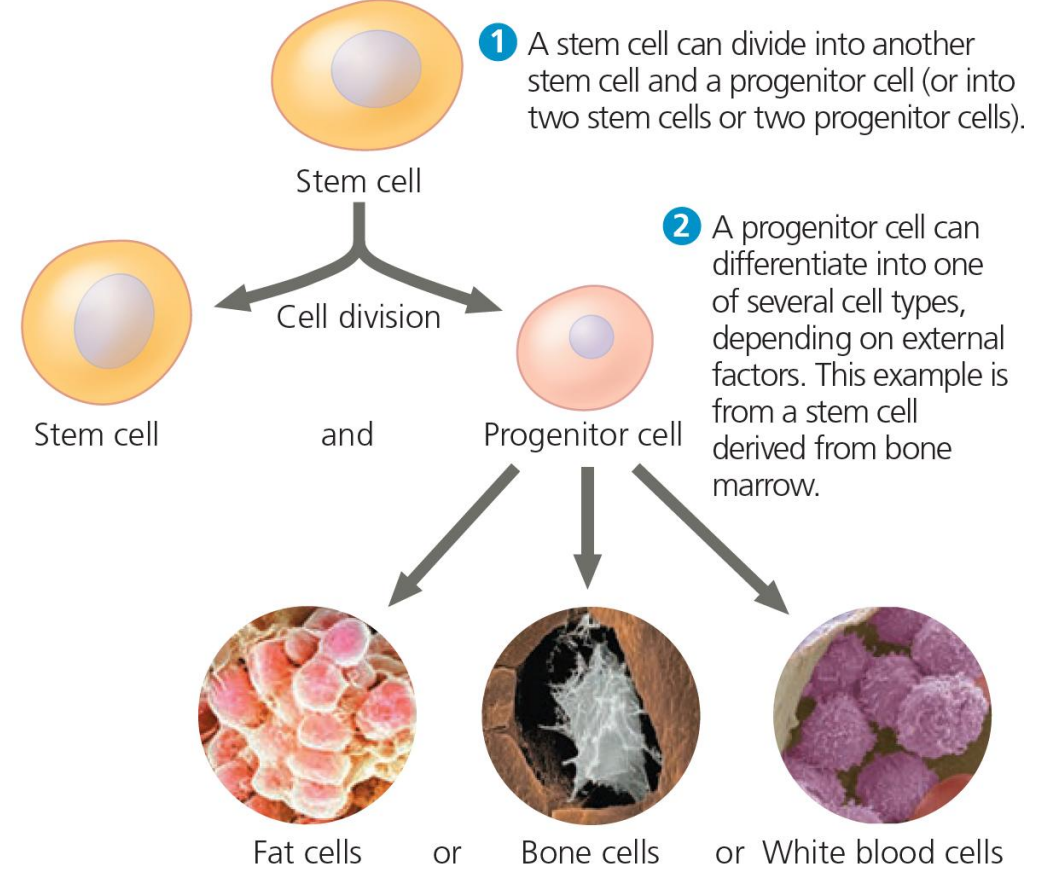
- Tam farklılaşmış hücre çekirdeklerinde çok az gen aktiftir, diğerleri baskılanmıştır.
- Bu durum, histon asetilasyonu veya DNA metilasyonu gibi kromatin yapısındaki epigenetik değişikliklerden kaynaklanır.
- Klonlama sırasında bu değişikliklerin uygun şekilde geriye döndürülmesi gerekir.
- Ancak bu süreç tam başarılamadığı için gen düzenlenmesi çoğu kez hatalı olur.

DNA Metilasyonunun Rolü

- Klon embriyolarının DNA'sında, normal embriyolara göre daha fazla metil grubu bulunmuştur.
- Fazladan metil grupları, normal gen ifadesi düzenini bozarak gelişim hatalarına neden olur.
- Başarı, donör çekirdeğin döllenmiş yumurta kromatini gibi yeniden yapılandırılabilmesine bağlıdır.
- Bu nedenle daha kesin ve tam bir epigenetik yeniden programlama gereklidir.

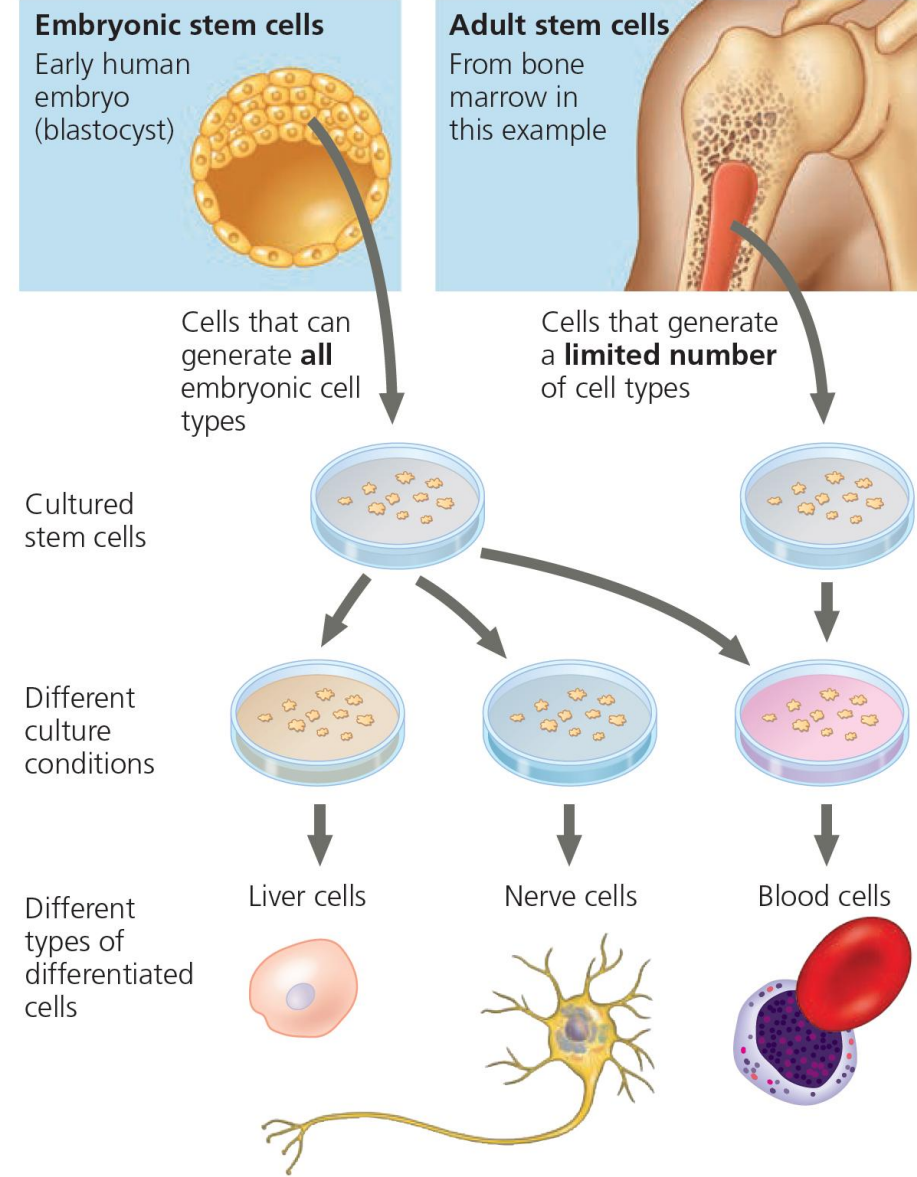
İnsan Embriyolarında Kök Hücre Hedefi

- İnsanlarda klonlama denemeleri, çok erken embriyo aşamalarını geçememiştir.
- Amaç üreme değil, tedavi amaçlı kök hücreler üretmektir.
- Kök hücreler, hem sürekli bölünebilir hem de uygun koşullarda çeşitli uzmanlaşmış hücrelere dönüşebilir.
- Böylece hem kendilerini yeniler hem de farklı doku hücreleri oluşturabilirler.



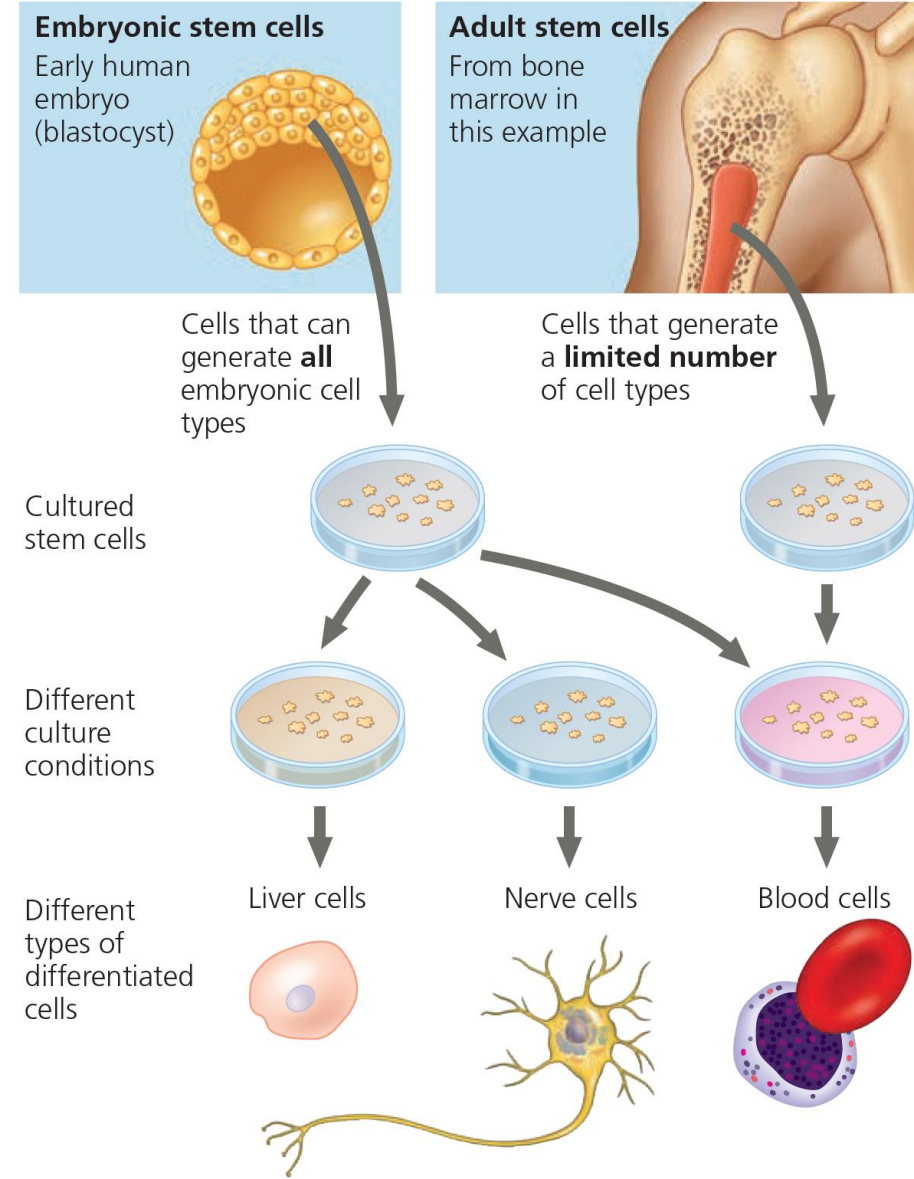
Embriyonik Kök Hücreler (ES Hücreler)

- Erken embriyolardan, blastula / blastosist aşamasında kök hücreler izole edilebilir.
- ES hücreleri kültürde süresiz bölünebilir ve uygun koşullarda pek çok hücre tipine dönüşebilir.
- Hatta deneysel olarak yumurta ve sperm hücrelerine bile dönüşmeleri sağlanabilmektedir.
- Bu özellikleri nedeniyle tıbbi uygulamalarda büyük potansiyel taşırlar.



Yetişkin Kök Hücrelerin Özellikleri

- Yetişkin dokularda da sınırlı sayıda kök hücre bulunur ve ihtiyaç halinde doku yenilenmesini sağlar.
- ES hücrelerinden farklı olarak, tüm hücre tiplerine dönüşemezler; belirli tiplerle sınırlıdır.
- Örneğin kemik iliğinde bulunan kök hücreler, tüm kan hücrelerini oluşturabilir.
- Deri, saç, göz ve diş pulpasında da kök hücreler tespit edilmiştir.



Yetişkin Kök Hücrelerin Laboratuvar Kullanımı

- Yetişkin kök hücreler doku kültüründe büyütülebilir.
- Belirli büyüme faktörleri eklenirse, çeşitli uzmanlaşmış hücre tiplerine dönüşebilirler.
- Ancak hiçbiri, ES hücreleri kadar geniş bir dönüşüm potansiyeline sahip değildir.
- Bilim insanları bu hücreleri tanımlama, ayırma ve çoğaltma yöntemlerini geliştirmektedir.

Tıbbi Uygulama Potansiyeli

- Hem embriyonik hem yetişkin kök hücreleri, doku yenilenmesine yönelik araştırmalarda değerlidir.
- Amaç; örneğin tip 1 diyabet için insülin üreten hücreler veya Parkinson hastalığı için beyin hücreleri elde etmektir.
- Kemik iliği nakilleri, yetişkin kök hücrelerin klinik kullanımı için mevcut bir örnektir.
- Bu çalışmalar, hastalık tedavilerinde devrim yaratma potansiyeline sahiptir.

Pluripotensi ve Etik Tartışmalar

- ES hücreleri pluripotenttir; yani çok sayıda farklı hücre tipine dönüşebilirler.
- 2013'te insan blastosistlerinden nükleer transfer yoluyla ES hücreleri üretildiği bildirilmiştir.
- Daha önce bu hücreler, bağışlanmış embriyolardan ya da eski kültürlerden elde ediliyordu.
- Bu durum, etik ve politik tartışmaları da beraberinde getirmiştir.

Tedavi Amaçlı Klonlama (Therapeutic Cloning)

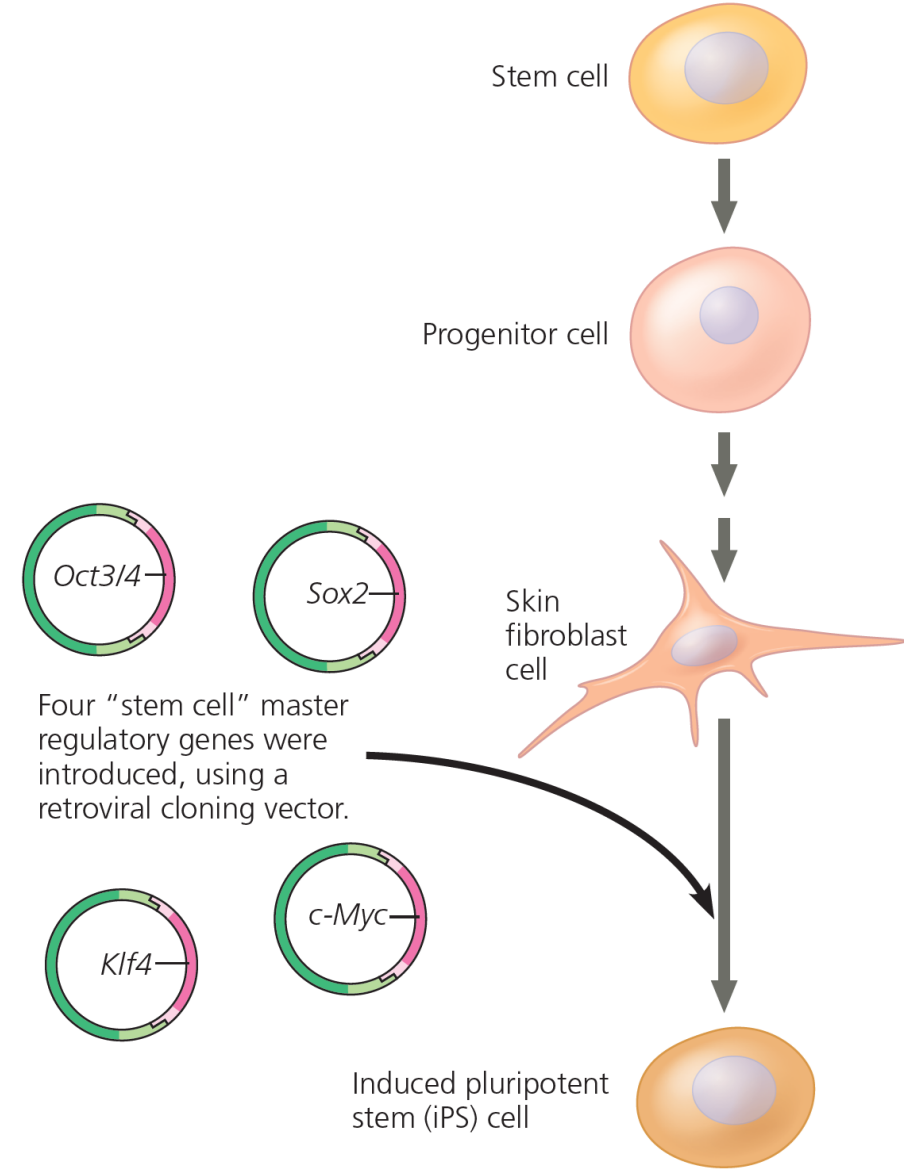
- Belirli bir hastalığı olan bireylerden çekirdek alınıp klon embriyo oluşturulabilir.
- Böylece hasta ile genetik olarak uyumlu ES hücreleri elde edilebilir.
- Amaç, bu hücreleri kullanarak bağışıklık reddi olmadan tedavi sağlamaktır.
- İnsanların üreme amaçlı klonlanması geniş ölçüde etik dışı kabul edilirken, tedavi amaçlı klonlama konusunda farklı görüşler bulunmaktadır.

Hücresel Yeniden Programlama: Geriye Dönüş!

- Araştırmacılar, farklılaşmış hücreleri yeniden kök hücresi benzeri özelliklere döndürebilmektedir.
- 2007 yılında ilk kez fare deri hücreleri, ardından insan deri ve diğer organ hücreleri başarıyla yeniden programlanmıştır.
- Bu işlem sırasında dört temel “kök hücre” düzenleyici gen, retrovirüs aracılığıyla hücreye aktarılmıştır.
- Bu şekilde oluşturulan hücreler, iPS hücreleri (indüklenmiş pluripotent kök hücreler) olarak adlandırılır.

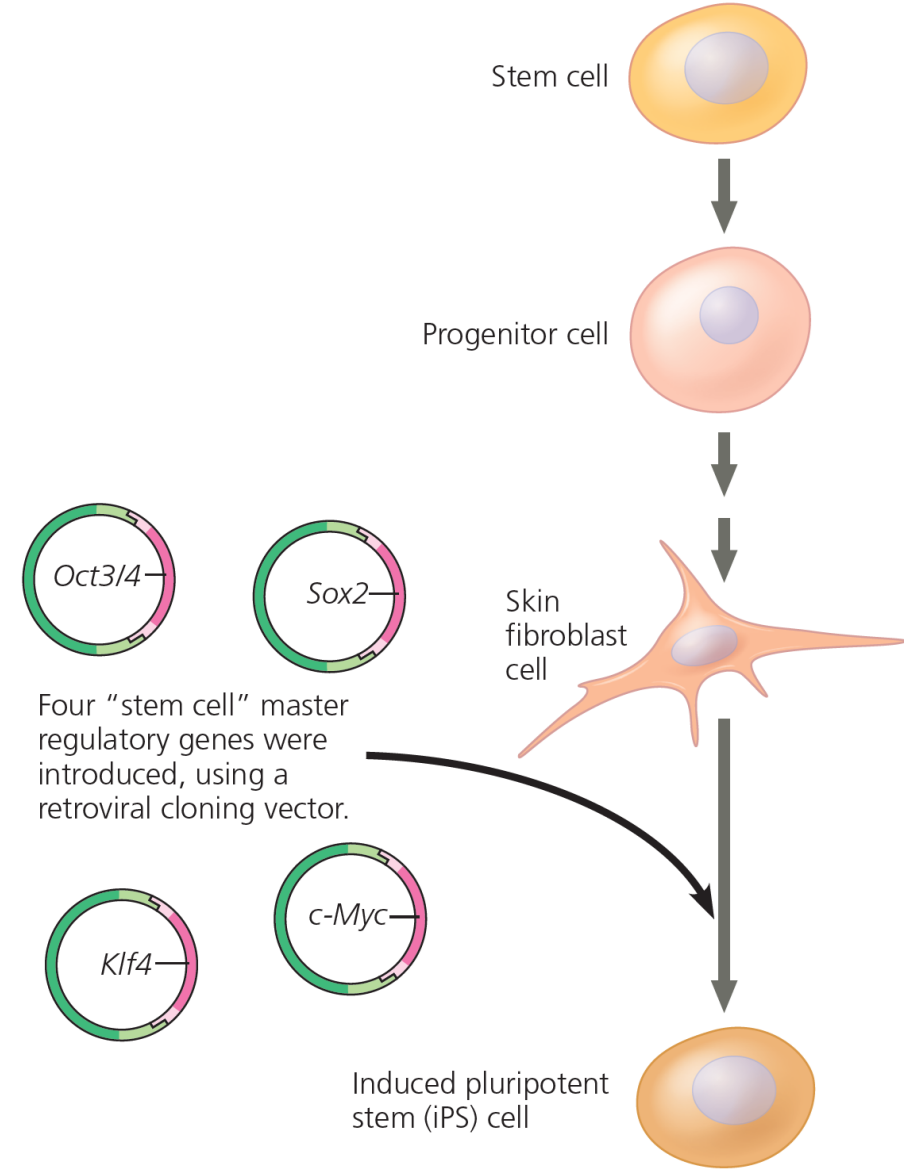
iPS Hücrelerinin  zellikleri

- iPS hücreleri, farklılaşmış hücrelerin yeniden pluripotent hale getirilmesiyle elde edilmektedir.
- Japonya'daki Kyoto  niversitesi'nden Shinya Yamanaka ve ekibi, tamamen farklılaşmış insan deri fibroblast hücrelerine dört gen yerleştirmek için retroviral bir vektör kullandılar.
- Hücreler daha sonra kök hücre büyümesini destekleyecek bir ortamda kültüre alındı.
- İki hafta sonra, hücreler embriyonik kök hücrelere benziyordu ve aktif olarak b l n yorlardı.



iPS Hücrelerinin Özellikleri

- Gen ifade örüntüleri, gen metilasyon örüntüleri ve diğer özellikleri de embriyonik kök hücreleriyle uyumluydu.
- iPS hücreleri, kalp kası hücrelerinin yanı sıra diğer hücre tiplerine de farklılaşabildi.
- Shinya Yamanaka, bu çalışma sayesinde 2012 Nobel Tıp Ödülü'nü John Gurdon ile paylaşmıştır.
- Yöntem, laboratuvar açısından nispeten basit fakat biyolojik olarak büyük bir başarıdır.



iPS vs. ES Hücreleri

- iPS hücreleri, birçok açıdan embriyonik kök hücrelerin (ES) işlevlerine benzer özellik gösterir.
- Yine de gen ifadesi ve hücre bölünmesi gibi bazı fonksiyonlarda farklar vardır.
- Bu nedenle ES hücreleri, kök hücre tedavilerinin gelişiminde hâlâ önemli bir araştırma konusudur.
- Bu farklar tamamen anlaşılana kadar, her iki hücre tipi üzerinde çalışmalar devam edecektir.

iPS Hücrelerinin Birinci Kullanım Alanı: Hastalık Modelleri

- Hastalıklı bireylerden alınan hücreler, iPS hücrelerine d n st r lerek hastalığın laboratuvar ortamında modellenmesi sağlanır.
- Tip 1 diyabet, Parkinson, Huntington, Down sendromu gibi birçok hastalık için iPS hücre hatları oluşturulmuştur.
- Bu sayede hastalık mekanizmaları ve yeni tedavi yaklaşımları daha iyi anlaşılabilmektedir.
- Tedavi geliştirme süreçlerine önemli katkılar sunmaktadır.

İkinci Kullanım Alanı: Rejeneratif Tıp

- Hastanın kendi hücreleri iPS hücrelerine dönüştürülerek işlev kaybına uğramış dokuların yerine kullanılabilir.
- Örneğin, pankreasta insülin üreten hücreler bu yolla üretilebilir.
- 2014'te iki araştırma grubu, hem iPS hem ES hücrelerinden insülin üreten hücre geliştirmeyi başarmıştır.
- Ancak bağışıklık sisteminin bu hücreleri yok etmesini engelleyecek güvenli yöntemler henüz geliştirilme aşamasındadır.

Pluripotent Aşama Olmadan Doğrudan Yeniden Programlama

- Farklılaşmış hücreler, doğrudan başka bir hücre tipine dönüştürülebilir.
- İlk örnekte, pankreastaki bir hücre türü doğrudan başka bir hücre türüne yeniden programlanmıştır.
- Benzer şekilde, deri fibroblastları sinir hücrelerine dönüştürülebilmektedir.
- Bu yaklaşım, çok çeşitli kişiye özel tedavi imkânları sunarak araştırmalarda büyük ilgi görmektedir.

Etik Tartışmalar Açısından iPS Hücreleri

- iPS hücrelerinin üretiminde insan yumurtası veya embriyosu kullanılmaz.
- Bu nedenle etik kaygıları önemli ölçüde ortadan kaldırır.
- Gelecekte, hastalara özel “tam uyumlu” hücrelerin geliştirilmesini mümkün kılabilir.
- Rejeneratif tıp için büyük bir umut kaynağıdır.

DNA Teknolojisi Hayatımızda

- DNA teknolojisi, tıp başta olmak üzere birçok alanda etkili bir şekilde kullanılmaktadır.
- Bu teknolojinin en yaygın yansımaları günlük haberlerde karşımıza çıkar.
- Genetik mühendislik ile birleşerek modern yaşamın birçok yönünü şekillendirmektedir.

Tıpta DNA Teknolojisinin Önemi

- Genetik hastalıklarda rol oynayan mutasyonlara sahip insan genleri DNA teknolojisiyle belirlenebilmektedir.
- Bu gelişmeler, hastalıkların tanı, tedavi ve hatta önlenmesi için yeni yollar açmaktadır.
- Genler aynı zamanda kişinin “genetik olmayan” hastalıklara yatkınlığını da etkileyebilir.

Hastalıkların Gen İfadesi ile İncelenmesi

- Hastalıklar, hücrelerde gen ifadesinin değişmesiyle ilişkilidir.
- Araştırmacılar, sağlıklı ve hastalıklı dokular arasındaki gen ifadesini karşılaştırarak hastalığa özgü genleri belirlemektedir.
- Bu çalışmalarda RNA-seq ve DNA mikroarray yöntemleri kullanılmaktadır.
- Belirlenen genler ve proteinler, tedavi ve koruma için potansiyel hedefler oluşturur.

Enfeksiyonların Tanısında DNA Teknolojisi

- PCR ve işaretli nükleik asit problemleri, bulaşıcı hastalıkların belirlenmesinde yeni bir dönem başlatmıştır.
- HIV RNA'sının bilinen dizilimi sayesinde, kan veya doku örneklerinde RT-PCR ile virüs tespiti yapılabilir.
- Bu teknik, görünmesi zor patojenleri tespit etmede en etkili yöntemlerden biridir.

Genetik Bozuklukların Tanısı

- PCR sayesinde yüzlerce genetik hastalık için tanı mümkündür.
- Hastalığa neden olan mutasyonlar, PCR ürünü DNA'nın dizilenmesi sonucu ortaya çıkarılır.
- Orak hücre hastalığı, hemofili, kistik fibrozis, Huntington ve Duchenne kas distrofisi bu şekilde teşhis edilebilen hastalıklardandır.
- Hastalık belirti vermeden, hatta doğumdan önce bile tespit yapılabilir.

Taşıyıcılık ve Risk Analizi

- PCR, zararlı resesif allelleri taşıyan ancak sağlıklı kişilerde de taşıyıcılığı gösterebilir.
- SNP analizleriyle hastalık ilişkili gen varyantları belirlenebilir.
- Belirli SNP'lerin varlığı, bazı kanserler, kalp hastalığı ve Alzheimer gibi durumlara yatkınlıkla ilişkilidir.
- Bu testler risk değerlendirmesi yapar ancak kesin hastalık tahmini sunmaz.

Hastalık Tedavisinde DNA Teknolojisi

- Gen ifadesi analizi, özellikle kanser tedavilerinin planlanmasında önemli bir rol oynar.
- Meme kanseri hastalarında gen ekspresyon farklılıkları belirlenerek alt tipler daha doğru sınıflandırılmıştır.
- Gen seviyelerinin bilinmesi, hastalığın tekrarlama riskini tahmin ederek uygun tedavileri seçmeye yardımcı olur.
- Düşük riskli hastalarda tedavi uygulanmadan yüksek sağkalım oranları görülebilir.

Kişiselleştirilmiş Tıp Vizyonu

- Gelecekte herkesin genetik profili doğrultusunda bireysel tedavi stratejileri geliştirilebilecektir.
- Günümüzde bu profil daha çok SNP belirteçlerine dayansa da, hedef, bireyin tüm genom dizisinin elde edilmesidir.
- Genom dizileme teknolojileri hızla gelişse de tedavi seçenekleri aynı hızda ilerlememektedir.
- Yine de hastalığa yönelik genlerin belirlenmesi, yeni tedaviler için güçlü hedefler sunmaktadır.

Gen Tedavisi Nedir?

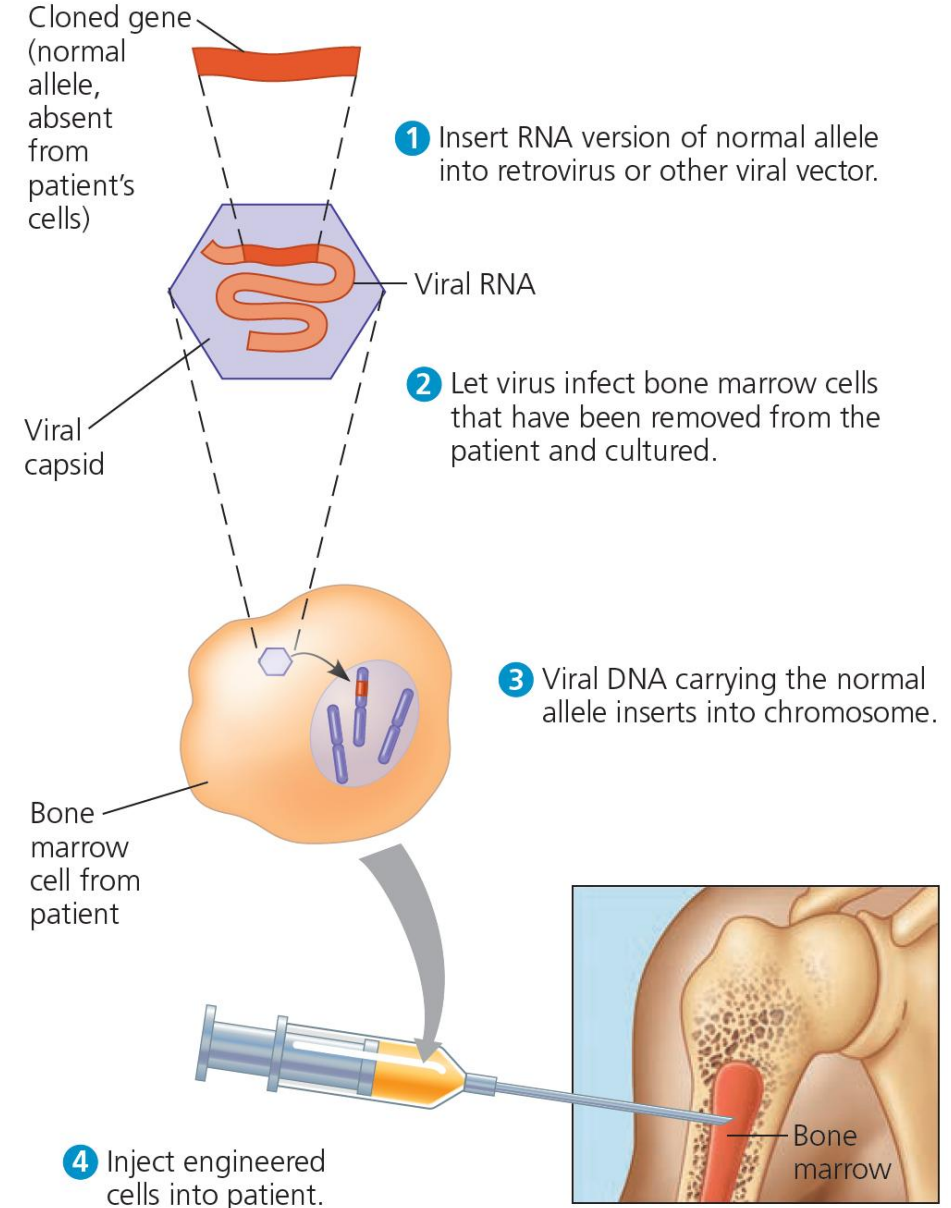
- Gen tedavisi, hastalığa neden olan hatalı bir geni taşıyan bireylere doğru genin eklenmesi ile tedavi etmeyi amaçlayan bir yaklaşımdır.
- Bu yöntemin hedefi, hastalıklı dokuda normal allelin işlev görmesini sağlamaktır.
- Özellikle tek bir gendeki genetik kusurlardan kaynaklanan hastalıklar için büyük bir potansiyel taşır.

Somatik Hücrelerde Gen Tedavisi

- Tedavinin kalıcı olabilmesi için, normal geni alan hücrelerin yaşam boyu bölünebilen hücreler olması gerekir.
- Kemik iliği hücreleri (kan ve bağışıklık sistemi hücrelerini oluşturan kök hücreler) bu nedenle ideal adaylardır.
- Şiddetli Kombine İmmün Yetmezlik (SCID) gibi durumlarda bu yaklaşım uygulanabilir.

Retroviral Vektör Kullanılarak Gen Tedavisi

- Normal allelin RNA versiyonu retrovirüse veya diğer viral vektöre yerleştirilir.
- Bu virüsün, hastadan alınan ve kültüre edilen kemik iliği hücrelerini enfekte etmesi sağlanır.
- Normal alleli taşıyan viral DNA kromozoma girer.
- Bu şekilde tasarlanmış hücreler hastaya enjekte edilir.



SCID Hastalarında İlk Klinik Başarılar

- 2000 yılında Fransa'da SCID hastalarında bir önceki slaytta verilen prosedür denenmiştir.
- 10 çocuğun 9'unda iki yıl sonunda belirgin ve kalıcı iyileşme gözlemlenmiştir.
- Bu, gen tedavisinin ilk kesin klinik başarısı olarak kabul edilmiştir.

Gen Tedavisinde Yan Etki Riski

- Aynı tedaviyi gören 3 hastada daha sonra lösemi (kan kanseri) gelişmiştir ve bir hasta hayatını kaybetmiştir.
- Bunun, retroviral vektörün, kan hücrelerinin çoğalmasını tetikleyen bir genin yakınına eklenmesinden kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.
- Bu nedenle, retrovirüs kaynaklı olmayan viral vektörler üzerinde çalışmalar yapılmaktadır.

Gen Tedavisinin Teknik Zorlukları

- Yeni genin ne zaman ve ne kadar çalışacağını kontrolü önemli bir sorundur.
- Gen eklenirken hücrenin diğer işlevlerine zarar verme riski vardır.
- DNA kontrol bölgeleri ve gen etkileşimleri daha iyi anlaşıldıkça çözümler geliştirilecektir.

Gen Düzenleme: CRISPR-Cas9 Yaklaşımı

- Gen tedavisinin zorluklarına alternatif olarak gen düzenleme (gene editing) kullanılabilir.
- CRISPR-Cas9 sistemi, hatalı gen bölgesinin düzeltilmesine olanak sağlar.

Farelerde CRISPR Başarısı

- 2014'te yapılan bir çalışmada, karaciğer enziminde mutasyon taşıyan fareler CRISPR ile tedavi edilmiştir.
- Farelere, mutant gen bölgesine kılavuz RNA, Cas9 proteini ve normal DNA kalıbı verilmiştir.
- Yeterli sayıda karaciğer hücresinde gen düzeltildiği için, hastalığa ait belirtiler hafiflemiştir.
- İnsan klinik denemeleri için bazı aşamaların hâlâ geliştirilmesi gerekmektedir.

Etik Sorular Devreye Giriyor!

- İnsan genlerine her türlü müdahale bazı kişilerce ahlaki açıdan sakıncalı görülmektedir.
- Ancak bazıları, bunun organ naklinden farksız olduğunu savunur.
- İnsan üreme hücreleri üzerinde düzenleme yapılması, gelecek nesillerin genlerini etkileyebileceği için ayrı bir tartışma konusudur.

CRISPR ve Etik Tartışmaların Artışı

- 2015 yılında bilim insanları, insan embriyolarında CRISPR çalışmalarının şiddetle sınırlandırılması için çağrı yapmıştır.
- Ancak aynı yıl, Çin'deki araştırmacılar insan embriyolarında β -talassemi geni üzerinde düzenleme yapmaya çalışmışlardır.
- 86 zigotun yalnızca 4'ünde istenen doğru düzenleme gerçekleşmiştir.
- Diğer birçok embriyoda hedef dışı genlere zarar verildiği görülmüştür.

Geleceğe Yönelik Kaygılar

- “İnsan genomu hangi durumlarda değiştirilmelidir?” sorusu giderek önem kazanmaktadır.
- Bu tür müdahaleler öjenik uygulamalara (toplumun genetik yapısının yönlendirilmesi) yol açabilir mi?
- Bu konuların ertelenmeden tartışılması, gelecekte karşılaşılabilecek kararlar için gereklidir.

İlaç Endüstrisi ve Genetik Araştırmalar

- DNA teknolojisi ve genetik araştırmalar, ilaç endüstrisine yeni tedavi seçenekleri geliştirme konusunda önemli katkılar sağlar.
- Hastalıkların tedavisinde kullanılan kimyasal ya da biyoteknolojik kökenli ilaçlar bu çalışmaların bir ürünüdür.
- Ürün geliştirme sürecinde, ilacın yapısına göre organik kimya yöntemleri ve/veya biyoteknoloji teknikleri tercih edilir.

Kanser Tedavisinde Küçük Moleküllerin Rolü

- Tümör hücrelerinin yaşamı için kritik proteinlerin yapıları çözüldükçe, bu proteinleri hedefleyen küçük moleküllü ilaçlar geliştirilmektedir.
- İmatinib (Gleevec), belirli bir tirozin kinaz enzimini inhibe ederek kronik miyelojenik lösemi (CML) tedavisinde büyük başarı göstermiştir.
- Bu tirozin kinazın aşırı üretimi, kromozomal translokasyon sonucu ortaya çıkar.
- Benzer ilaçlar bazı akciğer ve meme kanserlerinde de etkili olmuştur.

Tedavi Direnci ve Kansere Hücresinde Evrim

- İlaç uygulanan bazı tümörlerde zamanla ilaç direnci taşıyan hücreler ortaya çıkar.
- Direnç kazanan hücrelerin genomları incelendiğinde, ilacın hedeflediği yolu devre dışı bırakacak yeni mutasyonlar saptanmıştır.
- Bu durum, kanser hücrelerinin doğal seçim prensipleriyle evrimleştiğini gösterir.

Hücre Kültürlerinde Protein Üretimi

- Protein yapısındaki ilaçlar genellikle hücre kültürlerinde büyük ölçekli olarak üretilir.
- DNA klonlama ve gen ekspresyon sistemleri, nadir üretilen proteinlerin bol miktarda elde edilmesine olanak verir.
- Bu sistemlerde üretilen proteinler hücre dışına salgılanabilir, böylece saflaştırma işlemi kolaylaşır.
- İlk örnekler arasında insan insülini ve büyüme hormonu (HGH) yer alır.

Protein Tabanlı İlaçların İnsan Sağlığındaki Yeri

- İnsülin, milyonlarca diyabet hastasının yaşam standardını belirgin şekilde yükseltir.
- İnsan büyüme hormonu, büyüme geriliği yaşayan çocuklarda ve AIDS hastalarında kilo kazanımını destekler.
- TPA (Tissue Plasminogen Activator), kalp krizinin hemen ardından uygulandığında pıhtıları çözer ve tekrarlama riskini azaltır.

“Pharm” Hayvanlar: Biyoteknolojik Protein Fabrikaları

- Protein üretiminde bazı durumlarda tüm hayvanlar bir üretim sistemi olarak kullanılabilir.
- Bir türün geninin başka bir türe aktarılmasıyla transgenik hayvanlar oluşturulur.
- Bu işlemde, yumurtalar *in vitro* döllendir ve klonlanan DNA embriyonun çekirdeğine enjekte edilir.
- Gelişen embriyo taşıyıcı anneye yerleştirilir ve yeni geni eksprese eden bir hayvan elde edilir.

Sütünden Tedavi Gelen Hayvanlar

- Eğer eklenen gen, çok miktarda üretilmesi istenen bir insan proteinini kodluyorsa, hayvan adeta bir biyoteknolojik fabrika haline gelir.
- Örneğin, antitrombin kodlayan bir transgen, keçi genomuna yerleştirilebilir.
- Bu durumda insan proteini, keçinin sütüne salgılanır ve oradan saflaştırılır.
- Ancak ürünler mutlaka güvenlik testlerinden geçmeli; alerji ya da diğer olumsuz etkiler gözlenmemelidir.



Suç Mahallinde Bırakılan Biyolojik Kanıtlar

- Şiddet içeren suçlarda mağdur ya da saldırgana ait kan, doku veya vücut sıvıları olay yerinde bulunabilir.
- Bu örnekler, kan grubu veya doku tipi belirlemek için kullanılabilir.
- Bu tür testler yeterli miktarda ve taze örneklerle ihtiyaç duyar.
- Aynı kan veya doku tipine birçok kişi sahip olabileceği için bu yöntem yalnızca şüpheliyi dışlamak için kullanılabilir.

DNA Analizinin Gücü

- DNA testi, her bireyin DNA dizisi benzersiz olduğu için suçluyu yüksek doğrulukla belirleyebilir.
- DNA üzerinde varyasyon gösteren genetik belirteçler incelenerek kişiye özgü genetik profil oluşturulur.
- “DNA fingerprint” yerine genetik profil terimi tercih edilir, çünkü kalıtsal özellikleri vurgular.
- Bu yaklaşım daha güçlü kanıt sağlar.

DNA Teknolojisinin Adli Tıpta Kullanımı

- FBI, 1988'de DNA teknolojisini rutin olarak kullanmaya başladı.
- O dönemde kullanılan yöntem: Jel elektroforezi ve nükleik asit hibridizasyonu temelliydi.
- Sadece yaklaşık 1.000 hücre içeren örnekler yeterli olabiliyordu.
- Bu, önceki yöntemlere göre çok daha az örnek gerektiriyordu.

STR Markerlarıyla DNA Analizi

- Günümüzde Short Tandem Repeat (STR) adlı genetik işaretleyiciler kullanılmaktadır.
- STR'ler genomda tekrar eden 2–5 nükleotidlik dizilerden oluşur.
- Tek bir bireyin iki alleli arasında bile tekrar sayısı farklı olabilir.
- Bu değişkenlik, kişiye özel profil oluşturmayı mümkün kılar.

STR Analizinde PCR Kullanımı

- STR bölgeleri PCR ile çoğaltılır, böylece çok az miktardaki DNA analiz edilebilir.
- PCR ile yıpranmış veya çok az sayıda hücre içeren örnekler bile incelenebilir.
- Yaklaşık 20 hücre içeren bir örnek bile yeterlidir.
- Elektroferez sayesinde tekrar sayısı ölçülür ve profil belirlenir.

STR Analizinin Adli Uygulamaları

- Suç mahallinden alınan örnekler, şüpheli ve mağdur DNA'sıyla karşılaştırılır.
- Genellikle 13 STR markeri incelenir.
- İki kişinin aynı STR profiline sahip olma olasılığı son derece düşüktür.
- Bu nedenle STR analizi adli bilimlerde büyük güven sağlar.

Masumiyet Projesi ve Eski Dosyaların Yeniden İncelenmesi

- Innocence Project geçmiş davalardaki örnekleri yeniden analiz etmektedir.
- STR testleriyle haksız yere hüküm giymiş kişiler beraat edebilmektedir.
- 2016'ya kadar 340'tan fazla masum kişi serbest bırakılmıştır.

Earl Washington Vakası

- 1984 yılında Earl Washington, Rebecca Williams'ın tecavüz ve cinayetinden suçlu bulunarak idama mahkûm edildi.
- Ancak delillerdeki şüpheler nedeniyle cezası 1993'te müebbetle çevrildi.
- STR analiziyle 2000 yılında masum olduğu bilimsel olarak ortaya kondu.
- 17 yıl haksız yere hapiste kalan Washington, 2001'de serbest bırakıldı.

Kanıt Olarak STR Profili

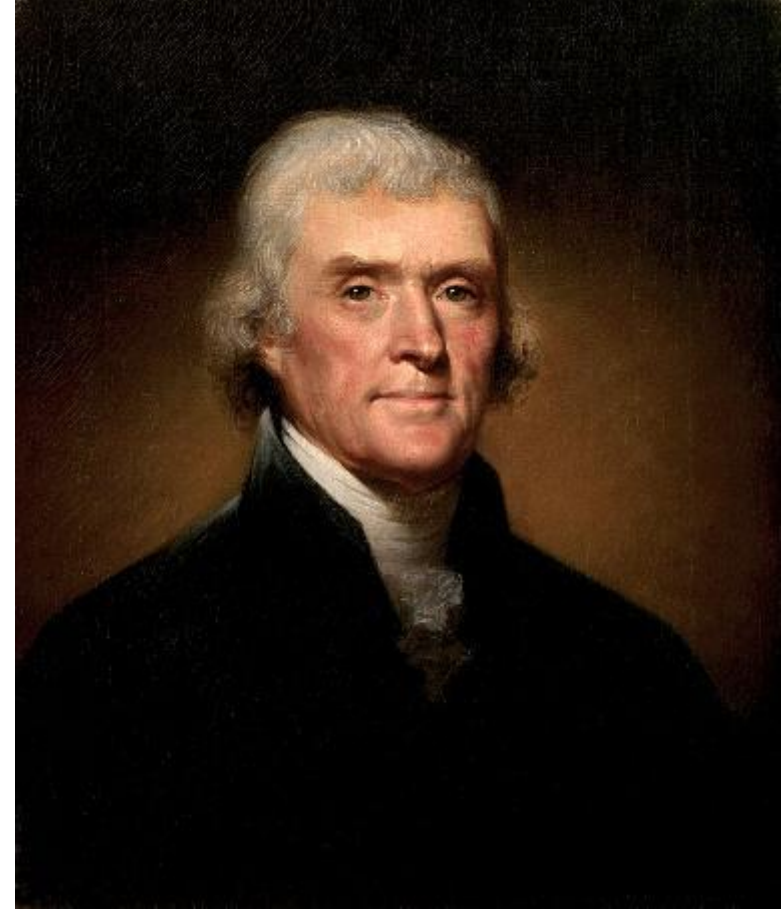
- Vakada, mağdurdaki semen örneği ile şüphelilere ait DNA STR profilleri karşılaştırıldı.
- Washington'ın STR tekrar sayıları semen örneğiyle uyuşmadı.
- Buna karşın Kenneth Tinsley'e ait örnek, STR profilinde semen ile eşleşti.
- Elde edilen bu sonuçlar Washington'ı akladı, Tinsley ise suçu kabul etti.



Source of sample	STR marker 1	STR marker 2	STR marker 3
KURBANDAN ALINAN SPERM ÖRNEĞİ	17,19	13,16	12,12
Earl Washington	16,18	14,15	11,12
Kenneth Tinsley	17,19	13,16	12,12

Genetik Profilin Diğer Kullanım Alanları

- Babalık testlerinde kesin sonuca ulaşılabilir.
- Tarihsel olaylarda da kullanılabilir (ör. Thomas Jefferson örneği).
- ABD'nin 3. Başkanı Thomas Jefferson'ın, kölesi Sally Hemings'ten çocuk sahibi olup olmadığı uzun yıllar tartışılmış bir konuydu.
- Y kromozomunun analizi, Jefferson'ın Sally Hemings'ten bir oğlunun olduğuna güçlü bilimsel kanıt oluşturdu.



Genetik Profilin Diğer Kullanım Alanları

- Toplu kayıpların kimliklendirilmesinde kritik rol oynar.
- 2001'deki Dünya Ticaret Merkezi saldırısında yaklaşık 3.000 kurbanın kimliği bu yöntemle belirlenmiştir.



Genetik Profil Ne Kadar Güvenilir?

- İncelenen marker sayısı arttıkça profilin tekilliği artar.
- 13 STR markerı kullanılan adli vakalarda, iki kişinin aynı profile sahip olma ihtimali 10 milyarda 1 ile trilyonda 1 arasındadır.
- Markerların toplumdaki görülme sıklığı istatistiksel hesaplamalarda önemlidir.
- İnsan hatası veya örnek sorunları dışında bilimsel olarak güçlü kanıt kabul edilir.

Çevresel Temizlemede Mikroorganizmalar

- Bazı mikroorganizmalar, kimyasal maddeleri dönüştürme yeteneğine sahiptir.
- Bu özellikleri çevresel kirliliğin giderilmesinde kullanılabilir.
- Uygun olmayan türlerin genleri uygun mikroorganizmalara aktarılabilir.
- Böylece çevre sorunlarının çözümünde kullanılabilecek yeni organizmalar geliştirilir.

Ağır Metal Giderimi

- Birçok bakteri, çevreden bakır, kurşun, nikel gibi ağır metalleri çekebilir.
- Bu metalleri geri kazanılabilir bileşiklere dönüştürebilirler.
- Bu yöntem madencilikte ve toksik atıkların temizlenmesinde önem kazanmaktadır.
- Özellikle azalan doğal maden rezervleri nedeniyle gelecekte daha da değerli olabilir.

Zehirli Kimyasalların Parçalanması

- Bilim insanları klorlu hidrokarbonlar ve diğer zararlı bileşikleri parçalayabilen mikroorganizmalar geliştirmeye çalışmaktadır.
- Bu mikroorganizmalar atık su arıtma süreçlerine entegre edilebilir.
- Böylece çevreye zarar veren maddeler daha kaynağında yok edilebilir.

Tarımda Genetik Biliminin Rolü

- Bilim insanları, tarımsal açıdan önemli olan bitki ve hayvanların genomlarını anlamaya çalışıyor.
- DNA teknolojisi, tarımsal verimliliği artırmak amacıyla uzun süredir kullanılıyor.
- Geleneksel ıslah, binlerce yıldır mutasyonlar ve rekombinasyonlar kullanarak yapılmaktadır.
- Günümüzde bu süreç, genetik mühendisliği ile çok daha hızlı hâle gelmiştir.

Transgenik Hayvanlar

- DNA teknolojisi, istenen özellikleri daha hızlı elde etmek için transgenik hayvanlar oluşturmayı sağlar.
- Amaç; daha kaliteli yün, daha az yağlı et veya daha hızlı büyüyen hayvanlar elde etmektir.
- Bir türden alınan verimli kas gelişim geni başka bir tür hayvana aktarılabilir.
- Ancak sağlık sorunları sık görüldüğü için, CRISPR-Cas9 ile doğrudan hayvan genomunun düzenlenmesi daha uygun bir seçenek hâline gelmektedir.

Hayvan Refahı ve Etik

- Genetik değişiklik yapılan çiftlik hayvanlarında sağlık sorunları ortaya çıkabilmektedir.
- Bu nedenle hayvanların refahı ve etik sınırlar her zaman dikkate alınmalıdır.
- Tarım teknolojilerinde gelişme hızlanırken bu konular ihmal edilmemelidir.

Genetiği Değiştirilmiş Bitkiler

- Tarımda birçok bitkiye, geç olgunlaşma, bozulmaya direnç, hastalık veya kuraklık toleransı gibi özellikler kazandırılmıştır.
- Genetik değişiklikler, bitkilerin besin değerini ve raf ömrünü artırabilir.
- Bitkilerde bir somatik hcrenden tüm bitkinin gelişebilmesi, genetik mühendisliğini kolaylaştırır.

Geleneksel Islahın Yerini Alan Teknolojiler

- Tek veya birkaç gen tarafından kontrol edilen özellikler için gen mühendisliği, hızla klasik ıslahın yerini almaktadır.
- Herbisite dirençli bitkiler, yabancı otlar ölürken büyümeye devam edebilir.
- Zararlı böceklerle dayanıklı bitkiler, tarımda kullanılan pestisit miktarını azaltır.

Tuzluluğa Dayanıklı Pirinç Örneği

- Hindistan'da bir mangrov türünden alınan tuzluluk direnci geni pirince aktarılmıştır.
- Bu pirinç türleri, deniz suyundan 3 kat daha tuzlu suda bile gelişebilmektedir.
- Dünya genelinde, aşırı sulama ve kimyasal gübreler nedeniyle sulanan alanların üçte biri yüksek tuzluluğa sahiptir.
- Bu teknoloji, küresel gıda güvenliği için büyük bir potansiyel taşımaktadır.

Rekombinant DNA Çalışmalarında Güvenlik

- İlk endişeler, tehlikeli yeni patojenlerin oluşturulma ihtimali üzerine yoğunlaşmıştı.
- Bu nedenle sıkı laboratuvar güvenlik kuralları geliştirilmiş ve bazı deneyler tamamen yasaklanmıştır.
- Kullanılan mikroorganizmalar genetik olarak zayıflatılarak laboratuvar dışına kaçmaları önlenmiştir.

Gıda Amaçlı GDO'lara Yönelik Kaygılar

- Günümüzde kamuoyundaki kaygılar daha çok GDO'lu gıdalar üzerinedir.
- GDO; başka bir türden yapay yollarla gen aktarılmış organizma anlamına gelir.
- Gıda üretimine katkı sağlayan GDO'ların çoğu bitkidir; hayvansal GDO'lar daha sınırlıdır.

GM Bitkilerin Küresel Kullanımı ve Tartışmalar

- ABD, Arjantin ve Brezilya; GM ekim alanlarının %80'inden fazlasını oluşturur.
- ABD'de mısır, soya ve kanolanın büyük bölümü GM'dir ve ürün etiketlemesi zorunludur.
- Avrupa'da tüketici güveni düşük olduğu için tartışmalar sürmekte ve birçok ülkede GM bitkiler yasaklanabilmektedir.
- Avrupa'da GM ürünlerin açık ve net bir şekilde etiketlenmesi zorunludur.

Olası Çevresel Riskler

- GM bitkilerin genleri, polen yoluyla yakın akraba yabancı türlere taşınabilir.
- Bu durum, kontrol edilmesi çok zor “süper yabancı otlar” oluşmasına neden olabilir.
- Ayrıca bazı transgen proteinlerin alerjik reaksiyon riski olabileceği düşünülmektedir.
- Bu nedenle, transgen ürünlerin insan sağlığı üzerindeki etkileri dikkatle test edilmelidir.

Yasalar ve Denetleyici Kurumlar

- Dünyada birçok ülke, biyoteknolojik uygulamalar için düzenleyici çerçeveler geliştirmiştir.
- ABD’de FDA, EPA, NIH ve Tarım Bakanlığı biyoteknolojinin güvenliğini değerlendirmektedir.
- Hem çevresel hem de etik etkiler göz önünde bulundurulmalıdır.

Genom Bilgisi ve Etik Sorumluluklar

- İnsan ve diğer türlerin genom dizileri tamamlanmış ve büyük bilgi kaynakları oluşmuştur.
- Bireylerin genom verisinin kimler tarafından, nasıl kullanılacağı büyük tartışma konusudur.
- Genetik bilginin işe alınma veya sigorta gibi süreçlerde kullanımı ciddi etik riskler taşır.

Gücün Dengesi: Bilim ve Sorumluluk

- CRISPR gibi teknolojilerle türlerin binlerce yıllık evrim süreçleri hızla değiştirilebilir.
- Örneğin; gen sürüklenme (gene drive) ile hastalık taşıyan sivrisinek türleri yok edilebilir.
- Bu, kısa vadede sağlık avantajları sağlayabilir fakat beklenmeyen sonuçlar oluşabilir.
- DNA teknolojisinin gücü karşısında temkinli, sorumlu ve etik bir yaklaşım kaçınılmazdır.

Teşekkür ederim

Prof. Dr. Bektaş TEPE

