

İnsan Genom Projesi

Dr. Turgut ULUTİN

İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Bilim Dalı, İstanbul

Bilindiği gibi yaklaşık 20 yıldır devam eden İnsan genom projesi çalışmalarının %97'lik bölümü 2000 yılı içinde tamamlandı. Projenin kesin sonuçlarının ise 2003'de

açıklanması öngörülmektedir. Genetik çağına girdiğimiz bu dönemde bu bilimin önemli kilometre taşlarının yerine oturtulması da önem taşımaktadır.

1839	Canlı organizmaların yapıtaşı olarak hücreler (Schleiden, Schwann)	1983	İlk genetik hastalık haritalandı. (Huntington hastalığı)
1859	Evrimsel kavramlar, türlerin kökeni (Charles Darwin)	1985	Polimeraz zincir reaksiyonu (Saiki, Mullis)
1865	Mendel kuralları (Gregor Mendel)	1986	pozisyonel klonlama
1879	Mitozda kromozom (Flemming)		İlk insan genetik haritası (RFLP)
1900	ABO kan grup sistemi	1987	YAC'ların keşfi
1901	Kalıtımın kromozom teorisi (Sutton)	1989	Yeni genetik marker olarak mikrosaklitler
	İnsanda mendelyan kalıtım (Bateson, Garrod)		Sequence tagged sites (STS) Anahtar marker
	Kromozomlar (Boveri)	1990	İnsan genom projesi başladı.
1908	Populasyon Genetiği (Hardy Weinberg)		ELSI oluşturuldu, Etik, Legal, Sosyal program
1909	Doğuştan metabolizma bozuklukları, (Garrod)		BAC'ların keşfi (Bacterial artificial chromosome)
1911	Prosophila genetiği (Marga)	1991	Gen fragmanlar expressed sequence tag (EST)
1915	Kalıtımın kromozomal teorisi		Kistik fibroz geninin klonlanması
1941	Bir gen bir enzim kavramı (Beadle ve Tatum)	1992	İnsan genomunun 2'nci nesil haritası
1942	DNA'nın X-ray difraksiyonu		Dataların serbest bırakılması
1944	Genetik bilginin temeli olarak DNA (A very, Machead, Mc Canty)	1994	İlk genetik olarak değiştirilmiş besin domates
1951	Genler DNA içerir (Hershey, Chase)		Ayrıntılı insan gen haritası
1953	DNA'nın çifte sarmal yapısı (Watson, Crick)		Microbial genome project
1955	46 İnsan kromozomu	1995	İş yerlerinde genetik ayrımcılığın yasaklanması
1956	DNA polimeraz bulundu (Arthur Kornberg)		İnsan genomunun fiziksel haritası tamamlandı
	Orak hücreli anemi	1996	Fare genetik haritası
1958	DNA'nın semikosevatif replikasyonu		280.000 EST İnsan DNA dizilenmesi başladı
1959	Kromozom anomalileri tanımlandı	1997	E.coli genomu dizilendi
1961	m-RNA bilgiyi taşıyor	1998	Celera genomics firması 3 yıl içinde projenin tamamlanacağını duyurdu.
	Yeni doğanda ilk metabolik bozukluk (fenil ketonüri)		Mycobacterium tuberculosis dizilendi
1966	Genetik kod		Single nucleotide polymorphism
1968	İlk restriksiyon anemi		22.kromozom dizilenmesi tamamlandı
1972	İlk rekombinant DNA molekülü	1999	Genomik bilgiye serbest ulaşım (Clinton, Blair)
1977	DNA dizilenmesi yöntemleri (Sanger ve Maxam-Gilbert)	2000	Meyva sineği genomu dizilendi
1976	İlk gen mühendisliği şirketi		21. kromozom
1977	İntronların keşfi		Dizi sonuçları açıklandı
1978	β-globin gen yapısı	2003	İnsan ve fare çalışmalarının bitirilmesi hedeflendi.
1981-82	İlk transjenik fare		
	Gen bankası detaları oluşturuldu.		

Kalıtsal Hastalıklar ve Genetik Mühendisliği'nin izolasyonu, tanımlanması ve manipülasyon gibi konular hızla gelişmiştir. DNA çalışmalarını hızlandıran restriksiyon enzimlerinin keşfi, DNA dizi analizi, polimeraz zincir reaksiyonu ve daha çok sayıda tekniğin uygulama alanına sokulmasıyla insan genom projesi fikride daha sağlam ayaklar üstüne oturmaya başlamıştır. İnsan genom projesi insanda doğrudan yada dolaylı olarak hastalığa yol açan genlerin belirlenmesine, niteliklerinin saptanmasına ve anlaşılmasına yardımcı olacaktır. Biz hep bu klinik yön üzerinde duruyoruz. Ancak unutulmamalıdır ki bu projede yapısı iyi bilinen birçok organizmanın genomları insanunkilerle birlikte incelenmektedir.

İnsan genomu 80 ile 300 milyon baz çifti arasında değişen ve 22 otozom ile 2 cinsiyet kromozomu arasında dağılmış, kabaca 3 milyar baz çiftinden oluşan 1 DNA molekülü içerir. Toplam gen sayısı 29.000-36000 arasındadır. Nukleotid dizilerinin %99.9'u bütün insanlarda aynıdır. İnsanda 1,5 milyon kadar tek nukleotid değişikliği bölgesi saptanmıştır. Genomun yaklaşık %2'si proteinleri kodlamaktadır. İnsan Genom Projesinin tarihçesine göz attığımızda 1984'de Los Hamas ve Lawrence Livermore laboratuvarlarının tüm insan genomunun klonlanması ve dizilenmesi için bireysel insan kromozomlarını yansıtan kosmid kütüphaneler üretmeye başladığını görüyoruz. Bundan 2 yıl sonrada Sağlık ve Çevre Araştırmaları Ofisinin Enerji Departmanı yeni insan genom çalışmaları için 5.3 milyon dolarlık bütçe ayırıyor ve ertesi yılda NIH genom projesi için kaynak ayırıyor. 1988'de bütün kurumlar arasında 15 yıllık insan genom projesi imzalanıyor. 1989'da insan genomunun dizilenmesi süresinde bilgilerin farklı yaklaşımlarla çok sayıda laboratuvarca toplanmaya başladığını görüyoruz. STS (Sequence tagged site) yaklaşımı araştırmacılara edinilen bilgileri ortak bir lisanda rapor etmelerini düzenlemektedir. Genellikle bir genomun moleküler yerleşimi, belirli bir koordinat sistemine uygun olarak geliştirilmiş işaretlerarası ilişkileri belirleyen haritalarla DNA organizasyonu gösteren 3 tip (genetik, sitogenetik ve fiziksel) haritadan ibarettir. Fiziksel haritalar belirli işaretler arasındaki uzaklığı gösterir. DNA'da bu bağlamda restriksiyon enzimlerinin kestiği yerleri gösteren restriksiyon haritaları ön plana çıkmıştır. Restriksiyon enzimi herbiri DNA'yı kendine spesifik kısa dizilerde keser ve yüzlerce restriksiyon enzimi bulunmaktadır. Yukarda bahsi geçen STS'ler PCR ile özgün olarak saptanabilen kısa DNA dizileridir. (100 ile 1000 baz çifti) Esasen STS'leri fiziksel

DNA işaretleri olarak kabul edebiliriz. STS haritaları bir DNA bölgesinde STS'lerin birbirlerine göre konumunu ve sırasını temsil eder. İşte 1984 ile 1990 arasında çalışmaların bu alanda yoğunlaştığını görüyoruz. 1991-1995 döneminde genetik bir harita oluşturulması çalışmalarının başarılı olduğu görülmektedir. 5840 lokusun saptanması short tandem repeat polymorphism adı verilen yeni bir stratejinin oluşturulmasında başarılıdır. 1-5 baz çiftlik DNA dizileri genom boyunca binlerce kez tekrar etmektedir. Bu tekrarlayan dizilerin yayılımı Frajil X sendromu, Huntington bozukluğu ve myotonik distrofi gibi bozukluklara yol açmaktadır. 1994'de California Üniversitesinde "Chromosome painting" adı verilen yöntem geliştirildi. Bu teknik floresan insitu hibridizasyon (FISH) kullanılarak hücre ve kromozomlarda değişik bölgelerin boyanmasını sağlamaktaydı. Böylece spesifik kromozomlarda klonlanmış dizilerin yerleşimi gerçekleştirildi. 1995'de Integrated Molecular Analysis of Gene Expression (IMAGE) konsorsiyonu cDNA kütüphanelerinden klonları karakterize etmeye ve bilgileri topluma açmaya başladı. Bu proje granulozom hastalığı gibi immun bozukluk genlerinin saptanmasında başarıyla uygulanan pozisyonel klonlama stratejisiyle ciddi hastalıklarla ilişkili genlerin saptanmasının hızlandırılması hedeflenmekteydi. 1996-1997 yıllarında yeni dizileme stratejileri geliştirildi ve elde edilen dizilerin biyolojik fonksiyonla ilişkisine yönelik çalışmalar hızlandı. 1998'de insan genom projesinin %50'si bitirildi ve Mycete Pharmaceuticals ve Celera Genomics adlı şirketler 2-3 yıl içinde projenin tamamlanacağını duyurdular. 1999'da ilk insan kromozomu (22.kromozom) tamamen dizilendi. Bilindiği gibi 2000 yılın' da da insan genom projesinin tamamlandığı dünyaya açıklandı.

İnsan genom projesinin hedefleri bundan 5 yıl kadar önce şu şekilde ortaya konmuştur.

- 1- Projenin 2001'de tamamlanması
- 2- 2003'de yüksek kalitede dizilerin elde edilebilir hale gelmiş olması ve bütün bilgilerin internet aracılığı ile ulaşılması
- 3- Dizileme çalışmalarının hızının 2-3 kat artırılması
- 4- Genomik dizi varyasyon çalışmaları (tek nukleotid polimorfizmlerinin saptanması, pek çok gen için müşterek allellerin tanınması, tek nukleotid polimorfizm haritalarının oluşturulması, DNA klonları ve hücre dizileri için topluma kaynak oluşturulması).

5- Functional Genomics
(cDNA klonlarının tümü, non-coding DNA'nın işlevinin saptanması, proteom (bir hücrenin protein bileşenleri) çalışmaları, genom mutagenesinde yöntem geliştirme, gen ekspresyonunun analizi)

6- Karşılaştırmalı Genomik (Tablo I)

Türler	Haploid genom ölçüsü	Gen sayısı
E.coli	4.2x10 ⁶ bp	~ 4000
Maya	2.0x10 ⁷ bp	~ 7000
Prosophila	1.4 x10 ⁸ bp	~12-16.000
C-elegans	8.0 x10 ⁷ bp	~ 17800
Fare	3.6 x10 ⁹ bp	~ 80.000
İnsan	3.3 x10 ⁹ bp	~ 80.000

C-elegan, Drosophila genomunun tamamlanması Fare'nin fiziksel ve genetik haritasının tamamlanması ve diğer faydalı model organizmalarının saptanması.

7- Etik, yasal ve sosyal konular

8- Bioinformatik ve Bilgisayar Biyolojisi

9- Eğitim ve insan gücünde projenin kullanımı.

İnsan genom projesinin tıp ve biyoteknoloji alanında hızlı bazı yararları görülebilecektir.

Tıpta

- 1- Ayrıntılı genomik hastalıkların saptanması genlerin keşfine yardımcı olacak ve hastalık etyolojisinde rol oynayan diziler bulunacak. Örneğin. Göğüs kanseri (BRCA1 ve BRCA2), kolon kanseri (hMSH2 ve hMLM1) myotonik distrofi (CTG tekrarları) kistik fibroz gibi
- 2- Hızlı ve daha spesifik diagnostik testler geliştirilecektir.
- 3- Genleri hedefleyen ve sonuçta hastalıkla ilişkili proteinide kapsayan yeni nesil ajanlar, ilaçlar geliştirilecektir.
- 4- Gen tedavisi yoluyla kusurlu genlerin onarımı hatta yenilenmesi mümkün olabilecektir.

Biyoteknolojide

- 1- İnsan genom projesine dayanan milyarlarca dolarlık ensüstri kurulacaktır. (tedavi ve tıp alanında novel drugs) terapatikler, besin üretiminde örneğin genetik olarak değiştiril-

miş besinler, biyolojik insektizidler ve imalatla biyoreaktanlar gibi.

- 2- Faydalı alanlarda kullanmak üzere bakteri genom dizileri mevcut olacaktır. (enerji üretimi örneğin biomassdan metan, bakteri enzimlerinin üretimi de kullanımı, örneğin kağıt üretimi esnasında xylamas kullanımı, toksik artıkların azaltılması, çevre kirliliğinin önlenmesi).

Kaynaklar

1. Alberts, B., Brag D., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., Watson, J.D.: Molecular Biology of the celi. 3 rd Ed, Garland Publishing, Inc., NevYork, 1994.
2. Başaran, N.: Tıbbi Genetik, Bilim Teknik Yayınevi, 1996.
3. Sultuybek, G., Ulutin, T., Sayhan, N. : Rekombirant DNA teknolojisi ve Tıpta kullanımı, Meta Basım Yayın San. Tic.Ltd, İstanbul, 1995
4. Lewin, B.: Genes VII, Oxford University Press, 2000.
5. Weaver, R.F., Hedrick, P.W.: Genetics 3rd Ed, 1997
6. <http://www.iacr.bbsrc.ac.uk/notebook/courses/guidal/dnast.htm>
7. www.cgen.com
8. www.arts.unimelb.edu.au/amu/ucr.htm.
9. Şükriye Ayter; İnsan Genom Anatomisi. Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi Özel Sayı 1-10, 2002
10. Hasan Bağcı; İnsan Genom Projesi. Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Özel Sayı 11-19, 2002.
11. T. Ulutin: İnsan Genom Projesi ve Gen Tedavisi. Klinik Gelişim 13(304-307), 2000.
12. T.Ulutin: DNA Dizileme Yöntemleri, Klinik Gelişim 13(299-303), 2000.
13. M.Cengiz; Genetik Hastalıkların Biyokimyasal Temeli. Klinik Gelişim 13(344-349), 2000.
14. N.Sayhan; Polimeraz Zincir Reaksiyonu ve Moleküler Hibridizasyon Prensipleri. Klinik Gelişim 13(294-298), 2000.
15. G.Sultuybek, T.Ulutin; Gen Klonlanması. Klinik Gelişim. 13(284-293), 2000
16. T.Ulutin; DNA ve RNA'nın Yapı ve Fonksiyonları. Klinik Gelişim 13(270-273), 2000.
17. A.Cenani; Genetiğin Dünü, Bugünü ve Yarını. Klinik Gelişim 13(267-269), 2000
18. N.Akar, Klinik Moleküler Patolojiye Giriş. Antıp A.Ş. 1999.
19. T.Ulutin; Moleküler Biyolojiye Giriş. Meta Basım Yayın Sanayi ve Tic. Ltd, İstanbul, 1989.