SANCAR VE EKİBİNİN SON BÜYÜK DENEYSEL ÇALIŞMASI: BU KEZ DE....

DNA hasar onarım haritasını çıkardılar

Böylece DNA hasarlarında onarılacak bölgelerinin yeri saptanacak. Kuzey Karolayna Üniversitesi'nden Prof. Dr. Aziz Sancar ve ekibinin yürüttüğü yeni deneysel çalışma, ultraviyole ışık ve yaygın kullanılan kanser ilaçlarının yol açtığı DNA hasarlarının onarım bölgelerinin kesin yerinin bulunmasında yardımcı olabilir. Buluş, daha iyi kanser ilaçlarının üretilmesine, ya da olanların geliştirilmesine öncülük edebilir.

Yaygın kullanılan kanser ilaçları olan sisplatin ve oksaliplatin kanser hücrelerine ulaştığında, DNA'da hasar oluştururlar ve böylece bu hücreler çoğalamazlar. Ancak hücrelerin DNA'yı onarma yolları vardır. Kanser hücreleri hastanın ihtiyaç duyduğu kadar etkili olamazlar. Kuzey Karolayna Üniversitesi Tıp Fakültesi ve Kuzey Karolayna Üniversitesi Lineberger Kanser Merkezi araştırmacıları, insan genomunun tamamında DNA onarımının nerede olduğunu bulmak için yeni bir yöntem geliştirdiler.

DAHA ETKİLİ KANSER İLAÇLARI

Genes & Development dergisinde yayınlanan bulgular, kanser hücrelerinin kullandığı proteinlerin bulunması ve hedeflenmesi için tedavi çerçevesinde potansiyel bir yol sunmaktadır. Bu yöntem daha etkili ve daha iyi tolere edilebilir kanser ilaçlarının geliştirilmesinin yolunu açabilir.

Biyokimya ve Biyofizik Dalı'nda Sarah Graham Kenan Profesörü, Tıp ve Bilim Doktoru Aziz Sancar tarafından yürütülen araştırma, tüm insan genomu boyunca DNA hasar onarımı haritasının çıkarılabildiği **ilk çalışma** olarak dikkat çekti. Kuzey Karolayna Kanser Araştırma Merkezi üyesi ve makalenin ortak sorumlu yazarı Sancar, *"Şu anda bir araştırmacı bize ilgilendiği geni ya da noktayı söylerse, nasıl onarıldığını söyleyebiliriz. Altı milyar baz çiftinden bir noktayı alın ve biz size nasıl onarıldığını söyleyelim"* diyor.

Sancar'ın araştırma ekibindeki diğer Türk bilim insanları **Gülnihal Kulaksız Erkmen, Fazile Cantürk ve Muhammet Karaman.**

DNA NASIL ONARILIYOR?

DNA hasar gördüğünde, hücreler bu DNA zincirini kesmek ve kesip çıkarmak için çok sayıda enzim kullanır. Daha sonra diğer enzimler DNA onarımını tamamlar ve böylece hücreler düzgün fonksiyon görür. Dr. Sancar'ın laboratuvarı daha önce ultraviyole ışık ve sisplatin, oksaliplatin gibi kemoterapötik ilaçlarca hasarlanmış DNA'da bu sürecin nasıl seyrettiğini keşfetmek için saflaştırılmış proteinler kullandılar.

Yakın yıllarda, Sancar'ın ekibinde araştırmacı olarak yer alan bilim doktoru **Michael Kemp** test tüpünde, TFIIH isimli özel bir proteinin kesilmiş olan hasarlı DNA parçasına sıkıca bağlanmış olduğunu buldu. Biyomedikal araştırmacılar için gerçekten kullanılabilir olması için bu deney çoğalan insan hücrelerinde gerekliydi. TFIIH-DNA fragmanının ekstrakte edilmesi zordu.

Ancak iki yıl önce postdoktoral araştırmacı, Genes & Development makalesinin ortak ilk isim yazarı Jinchuan Hu'nun Sancar'ın grubuna katılmasıyla bu iş gerçekleştirildi.

Sancar ve ekibi

İnsan cilt hücreleri ile sofistike deneyler serisi gerçekleştiren Hu, hücreleri ultraviyole ışığa maruz bıraktı ve kesilip çıkarılmış hasarlı DNA'yı enzim kompleksiyle izole etmek üzere TFIIH enzimi antikorunu kullanarak, kesilip çıkarılmış DNA parçasını elde edecek deneysel yöntemler bulmayı başardı ve Sancar laboratuvarının sekanslamasına olanak sağladı.

Daha sonra postdoktoral araştırmacı ve makalenin ortak ilk isim yazarı **Sheera Adar** ve çalışmanın ortak sorumlusu **Jason Lieb,** komputasyonel biyoloji alanındaki tecrübelerini kullanarak, tüm genom boyunca DNA hasarının nerede gerçekleştiğini analiz etti ve ilk insan genom onarım haritasını oluşturdu.

YENİ ONARIM YÖNTEMLERİ

Ultraviyole radyasyon ve sisplatin gibi yaygın kanser ilaçları DNA'yı hasarlandırmada benzer yolu kullandıkları için Sancar'ın ekibi sisplatinden etkilenen hücreleri analiz etmek için XR-seq olarak adlandırdıkları yeni eksizyon onarım yöntemlerini kullanıyorlar. Ayrıca DNA hasarlarını onararak kanser hücrelerinin hayatta kalmasına yön veren özgün mekanizmaları bulmak amacıyla hayvan modellerindeki biyokimyasal tepkimeleri araştırmak üzere de kullanmayı umut ediyorlar.

Adar, *"Sisplatin eski bir ilaç, bugüne kadar diğer kanser ilaçları ile kombinasyon tedavisinde kullanıldı. Bu ilaçların kanser hücrelerini sisplatine daha duyarlı hale getirdiğini biliyoruz, ancak bunu nasıl gerçekleştirdiğini bilmiyoruz. Artık bu hücrelerin DNA'larının nasıl onarıldığını bulmak için bir testimiz var. Amacımız, hastalara yardımcı olabilmek için kanser hücrelerini ilaçlara daha duyarlı hale getirmek"* diye konuşuyor.

Kromozomlarda DNA, yaşamın yapı taşı proteinleri yapmak üzere genleri oluşturur. Bu genler arasında genetik bilginin protein kodlamayan çok sayıda DNA dizileri bulunur. Adar *"insanlar bu DNA'nın hiç bir şey yapmadığını düşündüler. Ancak analizlerimiz bu düzenleyici DNA bölgelerinin de onarıldığını gösteriyor. Eğer onarılıyorlarsa bu muhtemelen önemli olmaları demektir ve şimdi tüm genom boyunca yerlerini bulabiliyoruz"* diyor.

Kaynak: http://news.unchealthcare.org/news/2015/may/unc-researchers-create-dna-repair-map-of-the-entire-human-genome

Türkçe çevirisi: Doçent Dr.Gülnihal Kulaksız Erkmen

DNA onarım mekanizmalarını bulanlar...

2015 Nobel Kimya Ödülü, moleküler düzeyde hücrelerin hasarlı DNA'ları nasıl onardığına ve genetik bilgileri nasıl koruma altına aldığına ilişkin çalışmaları nedeniyle Tomas Lindahl, Paul Modrich ve Aziz Sancar'a verildi. Bu üç bilim insanının çalışmaları canlı hücrelerin nasıl çalıştığı konusuna ışık tutuyor. Bütün bu bilgiler yeni kanser tedavilerinin geliştirilmesinin yolunu açabilir. Her gün DNA'mız morötesi (ultraviyole) ışınlar, serbest radikaller ve diğer kanserojen maddelere maruz kalıp hasar görüyor. Kaldı ki bu dış saldırılar olmasa da DNA molekülü temel olarak istikrarsızdır. Günlük bazda hücre genomunda binlerce değişiklik meydana gelir. Dahası DNA'lar, hücre bölünmesi sırasında da hasar görebilir. Bu bölünme insan vücudunda her gün birkaç milyon kere oluşur.

NİÇİN KAOS OLMAZ?

Genetik malzememizin parçalanarak, tam bir kimyasal kaosa sürüklenmemesinin nedeni bir dizi moleküler sistemin DNA'yı kontrol altında tutması ve onarmasıdır. 2015 Nobel Kimya Ödülü bu onarım sistemlerinin moleküler düzeyde nasıl çalıştığını keşfeden üç öncü bilim insanına verildi.

1970'li yılların başında bilim insanları DNA'nın son derece istikrarlı bir molekül olduğuna inanıyorlardı, fakat Thomas Lindahl DNA'nın çok hızlı bir şekilde bozulduğunu ortaya çıkarttı. Bu bozulmanın hızı o kadar fazlaydı ki bu hızda bozulmaya devam etmesi durumunda Yeryüzü'nde yaşamın gelişmesi mümkün olmayabilirdi. Bu bilgilerin ışığı altında Lindahl, baz eksizyon (kesip çıkartma) onarımı denilen moleküler bir mekanizmayı keşfetti. Bu mekanizma sürekli olarak DNA'mızın çökmesini önler.

Aziz Sancar ise nükleotid eksizyon onarımı denilen ve hücrelerin morötesi ışınlardan zarar gören DNA'larını onarmak için kullandıkları mekanizmayı keşfetti. Bu onarım sisteminde hasarla doğan insanlar güneş ışınlarına maruz kaldıklarında cilt kanserine yakalanabilirler. Hücre ayrıca nükleotid eksizyon onarımından yararlanarak mutajenik (bir kimyasal bileşiğin hücre çekirdeğindeki DNA üzerinde kalıcı yapı değişikliği yaratması) maddelerin yol açtığı hasarları da tamir edebilir.

Thomas Lindahl: 1938, İsveç vatandaşı. İngiltere'de Francis Crick Enstitüsü'nde Emeritus Profesör.

Paul Modrich: 1946'da ABD'de doğdu. Howard Hughes Tıp Enstitüsü'nde araştırmacı olarak çalışıyor.

Aziz Sancar: ABD ve Türk vatandaşı. Kuzey Karolayna Tıp Fakültesi Biyokimya ve Biyofizik Profesörü

Paul Modrich ise hücre bölünmesi sırasında kopyalanan DNA'da oluşan hataların nasıl düzeltildiğini ortaya çıkarttı. Uyuşmazlık onarımı adı verilen bu mekanizma, DNA kopyalanması sırasında ortaya çıkan hata sıklığını binlerce kez azaltır. Uyuşmazlık onarımındaki doğuştan gelen bir biliniyor. Örneğin kolon kanserinin kalıtsal bir çeşidine yol açabiliyor.

"Kanserlerin büyük bir kısmı DNA hasarı ile başlar" diye konuşan Nobel Kimya Komitesi'nden biyokimyacı **Claes Gustafsson**, "Eğer DNA onarımı olmasaydı, kanserli hasta sayısı daha fazla olurdu. Bu da onarımın ne denli önemli olduğunun bir göstergesi" diye konuşuyor. Gustafsson, bu onarım mekanizmalarının gizi aydınlandıkça sigara, güneş ışınları ve hatta su gibi sıradan maddelerin DNA'larımızı nasıl bozduğunu daha iyi anlayabileceğimizi belirtiyor.

Öte yandan Amerikan Kimya Birliği Başkanı **Diane Grob Schmidt,** Scientific American'a verdiği bir söyleşide şunları söylüyor: "Bu mekanizma hakkında elde ettiğimiz bilgiler her çeşit DNA hatasını onarmak için yeni ilaç tasarımının yolunu açıyor. Ayrıca hücrelerin DNA'larını onarma yeteneklerini yitirmesi çok sayıda genetik hastalığa da yol açıyor. Dolayısıyla onarım tekniklerini daha iyi öğrendikçe bu hastalıkların tanısını koymak kolaylaşacak ve olası tedavilerinin önü açılacak."

Özet olarak 2015 Kimya Ödülü'nü kazanan bilim insanları hücrenin nasıl çalıştığına ilişkin temel bilgileri keşfettiler. Bu bilgiler örneğin, yeni kanser ilaçlarının geliştiminde kullanılabilecek.

Kaynaklar:

www.nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/2015/press.html www.scientificamerican.com/article/chemistry-nobel-prize-for-2015-goes-to-discovery-of-dna-repair/#WT.mc_id=SA_SPC_20151008 www.scientificamerican.com/podcast/episode/2015-nobel-prize-in-chemistry/

BİLİM ADAMI AZİZ SANCAR

İkinci Nobel'i Tıp'tan Alır mı?

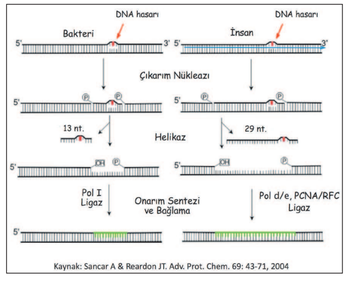
Mehmet Öztürk,
İzmir Uluslararası Biyotıp ve Genom Enstitüsü

Aziz Sancar daha lisedeyken kararını vermişti: Ya kimyacı, olacaktı ya da tıpçı. Ama bu iki seçeneği hiç bir zaman bire indiremedi; hayatı kimya ile tıp arasında geldi-gitti. Lisans diplomasını tıptan, doktora diplomasını biyokimyadan aldı. DNA onarımının kimyasını çözerken aklı biyolojik saate kaydı. Nobel Tıp ödülünü beklerken, ona Nobel Kimya Ödülü'nü verdiler.

Yaşayan her hücrede genetik bilginin yazılı olduğu DNA'nın bozulmadan saklanabilmesi gerekir. Hem çevresel fiziksel ve kimyasal etkenler, hem de metabolizmamız sırasında ortaya çıkan serbest radikaller gibi zararlı yan ürünler, DNA'nın kimyasal yapısını değiştirerek hasar oluşturur.

Herhangi bir hücremizin her gün bir milyon dolayında DNA hasarına maruz kaldığı tahmin edilmektedir (1). Bu hasar zamanında giderilmediği taktirde, önce yaşamsal işlevlerini yerine getiremez hale gelen hücreler ölür. Bu yaşlanmanın en önemli nedenlerinden birisidir. Hasara dayanabilen hücrelerde ise DNA mutasyona uğrar ve genetik bilgi değişir. Bunun kaçınılamaz sonuçlarından birisi kanserdir. Diğer yandan, çok güçlü bir onarım mekanizmasına sahip olsak da, minimal düzeyde DNA mutasyonu kaçınılmazdır. Örneğin, insanda bir kuşaktan diğerine, 300 milyon nükleotid başına bir yeni mutasyon oluştuğu hesaplanmıştır (2). Denetimli bir genetik mutasyonun canlıların evrimi için gerekli olduğunu unutmayalım.

DNA'nın nasıl onarıldığına geri dönersek, en güçlü mekanizmalar, "nükleotid çıkarımlı onarım", "baz çıkarımlı onarım" ve "yanlış eşleşmenin onarımı" olarak bilinmektedir. Aziz Sancar ilk mekanizmayı, **Tomas Lindahl** ve **Paul Modrich** ise, sırasıyla diğer iki mekanizmayı çözdüler. "Nükleotid çıkarımlı onarım" mekanizması şekilde özetlenmiştir (3). DNA'da oluşan bir çok farklı yapıda hasar bu yöntemle onarılır. Nükleotid çıkarımlı onarım DNA'nın hasarlı kısmını araya alan ikili bir kesimle çıkarılması ve hasarsız DNA'dan uzaklaştırılması esasına dayanır. Süreç üç aşamada tamamlanır: (i) hasarın belirlenmesi; (ii) ikili kesimle hasarlı kısmın çıkarılması; (iii) hasarsız DNA'da oluşan boşluğun yeniden sentezlenmesi ve diğer kısma bağlanması.



Kaynak: Sancar A & Reardon JT. Adv. Prot. Chem. 69: 43-71, 2004

ÖNCE REDDEDİLDİ

Sancar'ın nükleotid çıkarımlı onarımın mekanizmasına götüren çalışmaları aslında kötü bir deneyimle başlamıştı. Sancar 1977'de doktora diplomasını aldıktan sonra, kendisi de bir araştırmacı olan nişanlısı **Gwendolyn Boles** (Türkler şimdi ona "Güven Yenge" adını yakıştırmıştır) New York'ta bir laboratuvar bulmuştu. Aziz bey de üç laboratuvara başvurdu ama hiç birinden kabul alamadı.

Sonunda Yale Üniversitesi'nden **Dean Rupp**'un onarım genlerinin klonlanması ile ilgilendiğini öğrendi. Ancak Rupp'un doktora sonrası bir araştırmacı için parası yoktu. Aziz Sancar kendisine teklif edilen teknisyen kadrosuna razı oldu, ve iki yıl içinde bakterilerde nükleotid çıkarımlı onarımı sağlayan üç geni, uvrA, uvrB, ve uvrC genlerini klonladı. İlgili proteinleri saflaştırıp, nükleotid çıkarımlı onarımın mekanizmasını çözdü (4). Orada kalmadı ve hayatının beş yılını alan bir stratejiyi kullanarak 1992'de nükleotid çıkarımlı onarımının insan hücrelerinde nasıl çalıştığını gösterdi (5).

Bu mekanizmayı çözmek kolay iş değildi, çünkü insanda ve bakteride aynı işlevi yapan genler arasında yapısal bir benzerlik yoktu. 41 yılı aşan bir araştırmacılık dönemini hep çalışarak geçiren, yüzlerce makale yayınlamış olan bir bilim insanının, neredeyse 37 yaşında yapmış olduğu bir tek makaleyle Nobel Ödülü alabilmiş olmasına bakıp, bir çok okuyucu bu işin kolay olduğu sonucuna varabilir. Ancak, bu hiç de göründüğü gibi değildir.

AZİZ SANCAR'IN SAĞ KOLU

Aziz Sancar 28 yaşında doktora çalışmalarına başladığında, ilk göz ağrısı ile tanıştı. İlk denemelerinde sürekli başarısızlıklar yaşadı. Ama inatçıydı. Öyle ki, bu sevgili uğruna "sağ kolunu vermeye razı olduğunu" söylerdi (6). Aziz Sancar'ın bu sevgilisi Fotoliyaz adlı bir bakteri enzimiydi. UV ile oluşan DNA hasarını mavi ışık altında onarıp, bakteriyi yaşatan bir enzim. Sancar'ın görevi bu enzimin mavi ışıkla nasıl onarım yaptığını bulmaktı.

O zamana kadar hayatı hekimlik yapmakla geçtiği için, laboratuvar tekniklerinden çok anlamadığını düşünüyordu. Bu eksikliğini gidermek için teknik açıdan basit deneyler tasarladı. Ama bu basit deneyler hep başarısız oluyordu. Bir gün bir doktora arkadaşı "Senin deneysel araştırma için yeteneğin yok, ama galiba iyi bir hekimsin. Neden gidip hekimlik yapmıyorsun?" demişti. Ama asla ümidini kaybetmedi. Doktorası sırasında enzimin kromofor adlı kısmının nasıl bir yapıya sahip olduğunu açıklaması gerekiyordu. Uzun uğraşlar sonucu Fotoliyaz genini klonladı ama gerisini getiremedi. Enzim işini öyle bir hızla yapıyordu ki, o zamanın teknolojileri bunu izlemeye imkan vermiyordu. 1983'e kadar kendisine Nobel kazandıran nükleotid çıkarımlı onarımın şifrelerini çözmekle uğraştı. Sonra, Fotoliyaz enzimini incelemeye geri döndü. Mekanizma ile ilgili kesin bilgileri çözmesi yıllarını aldı. Fotoliyaz hikâyesi için başka bir yazı yazılması gerekir.

Insanda iki ortoloğu (yapısal benzeri) bulunan Fotoliyaz, yıllar sonra Aziz Sancar'a bilimsel hayatının ikinci kapısını açtı: Günlük biyolojik saatin mekanizması. Mavi ışıkla çalışan Fotoliyaz, insan gibi memeli hayvanlarda DNA hasarını onaramıyordu. Başka bir işlevi olmalıydı.

Enzimin mavi ışıkla çalışması ilkesinden yola çıkarak, Aziz Sancar, Fotoliyaz ortologlarının, mekanizmasında ışık olan başka bir işlevi olması gerektiğini düşündü. Sancar, bu işlevin ne olabileceğini, 1995 yılında Türkiye'ye yaptığı bir uçak seyahatinde "jetlag" konusunda yazılmış bir popüler bilim yazısını okuyunca çözdüğünü söyler. Günlük biyolojik saatimizin her sabah güneş ışığıyla yeniden ayarlandığı biliniyordu. Fotoliyaz ortologları bu işi yapıyor olabilirlerdi. Farede bulunan iki Fotoliyaz ortoloğunu işlevsiz hale getirdi ve hayvanların biyolojik saatinin tamamen bozulduğunu gösterdi (7). Kriptokrom 1 ve Kriptokrom 2 adını verdiği bu proteinler, bugün günlük biyolojik saati düzenleyen sistemin esasını oluşturan dört ana unsurdan birisi olarak bilim tarihinde yerini aldılar.

Aziz Sancar'ın 28 yaşındayken tanıştığı ilk göz ağrısı, 24 yıl süren bir mücadele sonunda, ona "hayatımda başıma gelen en heyecan verici şey" olarak tanımladığı bir başarıyı hediye etmişti. Kim bilir, Nobel Komitesi bir gün biyolojik saati ödüllendirmeye karar verirse, Aziz Sancar'ın beklediği Tıp Ödülü de yerini bulmuş olur. Her zamanki alçak gönüllüğü ile, bu alanda böyle bir ödülü hak etmediğini söyleyen Aziz Sancar'ın yanılmış olmasını dileyelim.

Kaynakça: 1-Lodish et al. Molecular Biology of the Cell, 5th ed. New York, Freeman, 2004. 2-Xue et al. Current Biology 19:1453-1457, 2008. 3-Sancar A & Reardon JT. Advances in Protein Chemistry 69, 43-71, 2004. 4-Sancar A & Rupp WD. Cell 33:249-260, 1983. 5-Huang et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89: 3664-3668, 1992. 6-Zagorski N. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 102: 16125-16127, 1992. 7-Thresher et al. Science 282: 1490-1494, 1998.