

GENOMİK, PROTEOMİK, METABOLOMİK KAVRAMLARINA GENEL BAKIŞ VE UYGULAMA ALANLARI

General Outlook and Applications of Genomics, Proteomics and Metabolomics

Esin BAŞARAN¹, Sümer ARAS¹, Demet CANSARAN-DUMAN²

¹Ankara Üniversitesi,
Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü,
ANKARA

²Refik Saydam Hıfzıssıhha
Merkezi Başkanlığı,
İlaç ve Kozmetikler Araştırma
Müdürlüğü, ANKARA

Geliş Tarihi: 25.09.2009
Kabul Tarihi: 06.06.2010

İletişim:
Sümer ARAS
Ankara Üniversitesi,
Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü
Tandoğan-ANKARA
Tel : +90 312 212 67 20
E-posta : aras@science.ankara.edu.tr

ÖZET

Genomik, herhangi bir organizmanın yapısal ve işlevsel fonksiyonlarını kodlayan tüm genlerini tanımlar, bu genlerin birbirleri ve çevre ile etkileşiminin kontrolünü inceler. Çalışma alanlarına göre genomik yapısal ve fonksiyonel genomik olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. Yapısal genomik ise genetik ve fiziksel haritalama ve DNA baz dizilerinin belirlenmesi yöntemleriyle organizmaların genetik bilgilerinin ortaya çıkarılmasını sağlar. Fonksiyonel genomik amacını da genlerin ekspresyonunu biçim, miktar ve zaman açısından genom düzeyinde inceleyerek genlerin fonksiyonlarının öğrenilmesinin yanında organizma açısından önemini anlaşılmasına da yardımcı olmaktadır. Proteomik; belli bir zaman ve mekânda bir organizmanın sahip olduğu ve ifade ettiği tüm farklı proteinlerin bir toplamıdır. Proteomik; belli bir zamanda belli bir yerde bulunan tüm proteinlerin yapılarını, yerleşimlerini, miktarlarını, translasyon sonrası modifikasyonlarını, doku ve hücrelerdeki işlevlerini, diğer proteinlerle ve makro moleküllerle olan etkileşimini aydınlatır. Metabolomik; belirli bir zaman diliminde dokularda, hücrelerde ve fizyolojik sıvılarda lipid, karbohidratlar, vitaminler, hormonlar ve diğer hücre bileşenlerinden ortaya çıkan küçük moleküllü metabolitlerin yüksek verimli teknolojiler kullanılarak saptanması, miktarının belirlenmesi ve tanımlanmasıdır. Genomik ve proteomik “ne olabileceğinin” metabolomik ise “gerçekte ne olduğunun” bilgisini verir. Bu nedenle, tüm metabolitlerin ayrıntılı ve kantitatif ölçümü (metabolomik) hastalık teşhisi veya toksik ajanların fenotip üzerindeki etkilerini araştırmada en ideal yöntemdir. Bu derlemede genomik, proteomik ve metabolomik konularında da detaylıca bilgiler verilmiştir. Ayrıca, insan genomunun şifresinin çözülmesi; yani DNA bazlarının diziliş sırasının belirlenmesi, doğuştan var olan yeteneklerimiz ile bazı davranış ve hastalıklara yatkınlığımızın bilinmesinin sağlanmasına yardımcı olan ‘İnsan Genom Projesi’ ve ‘İnsan Metabolom Projesi’ hakkında da geniş bilgi verilmiştir.

Anahtar Sözcükler: Genomik, proteomik, metabolomik

ABSTRACT

The genomics determines the whole functional and structural genes of an organism, investigates the control of gene interactions with each other and the environmental factors.

Genomics is divided into two groups as functional and structural genomics. Structural genomics provides to reveal the genetic information of organisms by genetic and physical mapping and DNA base sequencing methods. The aim of functional genomics is to facilitate to understand the gene functions in terms of organisms by analyzing the gene expression, in terms of conformation, concentration and time on genome level. The proteome is the entire complement of total proteins including produced and expressed proteins by an organism in a particular time and place. The proteomics enlightens the structures, localizations, concentrations, post-translational modifications, cell and tissue functions and the interactions with the other proteins and macro molecules of all the proteins in a particular time and a place. The metabolomic is to determine the concentration of the small-molecule metabolites of lipids, carbohydrates, vitamins, hormones and other cell components in cells, tissues and physiological liquids by using high efficient technology in a particular time. Genomics and proteomics give information about 'what is happening' while metabolomics investigates 'what really happens'. Therefore, metabolomics is the best method for investigation of quantitative measurement, illness diagnosis or the effects of toxic agents on phenotype. Detailed information about proteomics and metabolomics is given in this review. Also, extensive information is given on The Human Genome Project and The Human Metabolom Project which help to reveal illness predispose and behaviours, our natural gifts, human genome decoding (determination of DNA base sequence).

Key Words: Genomics, proteomics, metabolomic

GİRİŞ

Kalıtımın temel fiziksel ve işlevsel birimi olan gen, genom dizisinde yeri tanımlanabilen, transkripsiyonu yapılan, düzenleyici ve/veya fonksiyonel bölgeleri olan bir bölgedir (1).

Genom; bir organizmanın kromozomlarında bulunan genetik şifrelerin tamamını simgeler. Genom terimi, ilk kez 1920 yılında Alman botanikçi Hans Winkler tarafından tanımlanmıştır (2). Ancak bu terim 1986'ya kadar pek kullanılmamıştır. Genetikçi Thomas Roderick bu terimi, genomun haritalanması, sekanslanması ve karakterizasyonunu tanımlamak için önermiştir (3).

1. GENOMİK

Genomik; herhangi bir canlının bütün yapısal ve işlevsel fonksiyonlarını kodlayan tüm genlerini teker teker tanımlayarak bu genlerin birbirleri ve çevre ile etkileşim ve iletişimlerini, zaman, yer ve miktar olarak üretim ve aktivasyonlarının kontrolünü bütünsel olarak inceleyen ve ortaya çıkan bilgiyi bilgisayar veritabanlarında işleyen, anlamlandıran ve saklayan bilim dalı olarak tanımlanır (4).

Genomik sayesinde farklı organizmalara ait genetik bilgiler karşılaştırılabilmekte, organizmalar arasındaki benzerlikler evrimsel düzeyde araştırılabilmekte ve organizmaların ürettikleri proteinlerin çeşitleri, sayıları ve bunların fonksiyonları hakkında bilgi sahibi olunabilmektedir. Çalışma alanlarına göre genomik yapısal ve fonksiyonel genomik olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır.

1.1 Yapısal Genomik

Yapısal genomik; genetik ve fiziksel haritalama ve DNA baz dizilerinin belirlenmesi yöntemleriyle organizmaların genetik bilgilerinin ortaya çıkarılmasını sağlar (5).

Genom haritalaması; genlerin kromozomlar üzerinde bulunduğu yerlerin (lokus) gösterilmesidir. Genom haritalaması hem genetik hem de fiziksel haritalama yöntemleri ile yapılabilmektedir.

"Genetik haritalama" belli genlerin belli bir kromozom üzerindeki yerlerinin birbirlerine olan göreceli mesafelerini belirlemek ve genleri lineer

bir düzene oturtmak amacıyla hazırlanan grafiksel bir haritadır. Kısaca genomun matematiksel analizi olarak bilinen bu yöntemde genlerin kromozomlar üzerindeki lokalizasyonlarının bulunmasında moleküler biyolojik yöntemler ve bir dizi karmaşık istatistiksel analizler kullanılır (6). Özellikle genetik hastalıkların saptanması alanında son derece yararlı bir yöntem olarak karşımıza çıkmaktadır. En genel anlamı ile lokalizasyonu aranan gen ile lokalizasyonu bilinen bir genetik belirleyicinin (marker) kuşaklar arasında birlikte kalıtılmasının test edilmesi esasına dayanır.

“Fiziksel haritalama” genomik DNA'nın tümünü parçalara ayırarak kozmid, maya yapay kromozomları (YAC) veya bakteri yapay kromozomları (BAC) gibi vektörlere aktararak her kromozomun bir kitaplığının oluşturulması ve tüm kromozomlar düzeyinde birbirini takip eden klonların belirlenmesi ile oluşturulan bir haritadır (6). Fiziksel ya da moleküler haritalar, genomik DNA'nın klonlanmış parçalarının düzenlenmesiyle oluşturulurlar ve baz çifti sayılarına göre ayarlanmışlardır. Genetik haritadan farkı, direkt olarak DNA'yı oluşturan bazların sırasının belirlenmesidir. Böylelikle genlerin fiziksel yapıları kesin olarak ortaya konabilmektedir.

Çok sayıda fiziksel haritalama yöntemi geliştirilmiştir. Bunlardan en önemli üçü: Restriksiyon endonükleazlarınca tanınan dizilerin pozisyonlarının belirlendiği restriksiyon haritalaması, marker içeren bir probun hibridizasyonu ile marker bölgelerinin haritalandığı floresan *in situ* hibridizasyon ve PCR ile genomik DNA fragmentlerinin incelenerek kısa sekansların haritalandığı etiketli sekans bölgesi (STS) haritalamasıdır.

DNA dizi analizi (DNA sekanslama); DNA'nın nükleotid dizisinin saptanması anlamına gelmektedir. Bu işlem bazı aşamalardan oluşmakta olup öncelikle DNA'nın restriksiyon enzimleriyle parçalanması gerekmektedir. Klonlama aşamasında DNA 2-200 kb'luk diziler halinde çoğaltılır. Daha

sonra fluoressan maddeler ve jel elektroforezi kullanılarak DNA dizisinin okunmasını sağlayan dizileme aşaması gelmektedir. En son olarak da bu dizilerin bilgisayarda bir araya getirilmesi işlemleri ile sonlandırılır.

DNA dizi analizi, gen yapısı ve genetik kontrol mekanizmaları hakkında birçok bilgi edinmemizi sağlamıştır. 1940'larda DNA baz kompozisyonu saptama yöntemleri bulunmasına karşın DNA'daki nükleotid dizilişlerinin doğrudan kimyasal analizi 1960'larda geliştirilip kullanılmaya başlanmıştır. Örneğin, 1965'te Robert Holley, 75 nükleotidlik bir tRNA molekülünün dizisini bir yıllık bir çalışma sonucu saptayabilmiştir (7). 1970'lerde daha etkin ve doğrudan nükleotid dizi analizine yönelik yöntemler geliştirilmeye başlanmıştır. Herhangi bir organizmadan çok miktarda saf DNA fragmanları elde edilmesini sağlayan rekombinant DNA tekniklerinin gelişmesine paralel olarak dizi analizi yöntemlerinin kullanımı da artmıştır.

DNA dizi analizinde birbirinden farklı iki yöntem geliştirilmiştir. Bu yöntemler; Maxam ve Gilbert'in kimyasal kırılma yöntemi (8) ve Sanger-Coulson'un zincir sonlanma yöntemidir (9).

DNA baz dizilimi; taksonomi ve tür belirleme çalışmaları, sosyal bilimlerde antropoloji alanında insan topluluklarının dağılımları ve dünya üzerindeki hareketleriyle ilgili araştırmalar, adli tıp alanında suçlunun belirlenmesine yönelik çalışmalar ve de belli özelliklerle ilişkili genlerin ya da gen parçalarının belirlenmesine yönelik çalışma alanlarında kullanılabilirlerdir.

1.2 Fonksiyonel Genomik

Fonksiyonel genomik genlerin ekspresyonunu, biçim, miktar ve zaman açısından genom düzeyinde inceleyerek genlerin fonksiyonlarının öğrenilmesinin yanında organizma açısından öneminin anlaşılmasına da yardımcı olmaktadır (5).

Transkriptom; belli bir zamanda bir hücre veya dokudaki gen transkriptlerinin (RNA) tümünü ifade etmek amacıyla kullanılan bir ifadedir.

Transkriptomik; hücre genomundan transkripsiyonla oluşan mRNA transkriptlerinin eş zamanlı incelenmesidir. Bir örnekte bulunan RNA miktarına bağlı olarak, genlerin seçilmiş bir alt grubunun veya tamamının ekspresyon düzeyini ölçmeyi hedeflemektedir (10).

mRNA analiz yöntemleri; Northern Blot (Tek gen analizi), Ters Transkripsiyon Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-PCR) (Tek gen analizi) ve Mikroçip (Microarray) (Genom boyunca analiz)'dir.

a. Northern blot: Bu yöntemde DNA yerine mRNA veya viral RNA kullanılarak işlem yürütülür. Northern blotlama dört temel adımda ve sonuçların boyama yapılarak gerçekleştirilir. Bunlar;

1. RNA izolasyonu,
2. RNA'nın jel elektroforezinde yürütülmesi,
3. Uygun bir membrana aktarılması,

4. Membrandaki RNA'ların, radyoaktif işaretli ve tek zincirli bir DNA prob ile melezlenmesi ve sonucun otoradyografi veya boyamayla saptanması (11).

Bu yöntemin avantajı, genin RNA kopyasının boyutunun belirlenmesi ve farklı dokularda farklı RNA ürünü olasılığının araştırılmasında kullanılmasıdır. Ancak işlem hacmi düşük olan bu teknikte miktar tayini hassas değildir.

b. Ters Transkripsiyon Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-PCR): Genler etkilerini mRNA üretimi ile ortaya çıkarırlar. Normal koşullarda RNAz enzimlerinin aktivitesi ile çok çabuk parçalandıklarından, mRNA'lar ile laboratuvar şartlarında çalışılması oldukça güçtür. Bu nedenle mRNA preparatları mRNA'nın DNA karşılığı olan cDNA'ya çevrilirler ve bu halde kullanılırlar.

RTPCR'dan mRNA veya viral RNA'nın çoğaltılmasında faydalanılır. Bu PCR çeşidinde bir

ters transkriptaz enzimi ve DNA primeri kullanılır. RT-PCR iki aşamalı olup RNA'dan tamamlayıcı DNA sentezi (ters transkripsiyon) ve tamamlayıcı DNA (cDNA)'nın da standart PCR yoluyla çoğaltılması aşamalarını kapsar. RT-PCR'da reaksiyonun ilk basamağı olan ters transkripsiyon aşamasında kullanılan primerler (oligo dT veya random) poliadenillenmiş bölgeye bağlanırlar. Bu nedenle RT-PCR ile 3'- poly (A) kuyruğuna sahip mRNA'ların çoğaltma işlemleri yapılabilir (12).

Primer bağlanma yerlerinin genelde transkriptin tam ucunda olmaması nedeniyle tüm RNA molekülünün tam kopyasının çoğu kez elde edilememesi yöntemin zayıf yönüdür. İşlem hacmi Northern blot'tan yüksek mikroçiplerden düşüktür.

c. Mikroçip (Microarray): İleri derecede genotip ve gen ekspresyon analizleri için geliştirilmiş bir tekniktir. Küçük örnek hacimleri kullanılarak tek deneyde mikroçipler, Tek nükleotid polimorfizmi (SNP) veya değişik (örn: hastalıklı) ve normal fizyolojik koşullardaki modifiye gen ekspresyonunun (mRNA'daki artış ve azalışlar) hızlı bir şekilde çalışılmasını sağlar (13).

Mikroçip teknolojisi ile yaklaşık 1.8*1.8 cm ebatlarındaki bir cam üzerinde (dizi veya array) birden fazla DNA bölgesini (neredeyse tüm bir genomunu) tek bir seferde yüksek hassasiyette incelemek mümkündür. DNA mikroçipleri aktif proteinlere çevrilebilen ya da çevrilemeyen RNA'ların saptanmasında da kullanılabilir. Bu tip analizler ekspresyon analizi ya da ekspresyon profili belirleme şeklinde adlandırılır. Mikroçip ile tamamlanan ilk ökaryotik genom *Saccharomyces cerevisiae*'ninki olmuştur (14).

Tipik bir genomik mikroçip çalışmasının beş temel basamağı vardır (15-16) (Şekil 1):

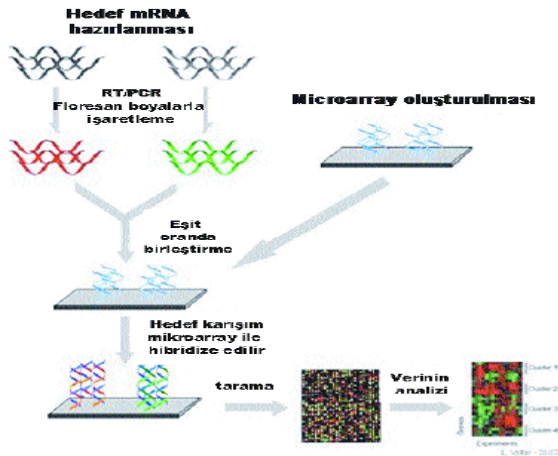
1. Hedef DNA/cDNA dizilerine tamamlayıcı diziler içeren problemlerin immobilize edildiği mikroarray platformunun hazırlanması veya ticari olarak temin edilmesi.

2. İncelenecek numuneden floresan ile işaretlenmiş cDNA/DNA/cRNA'nın hazırlanması.

3. İşaretlenmiş cDNA/DNA/cRNA ile mikroçip platformunun hibridizasyon solüsyonu içerisinde karşılaştırılması.

4. Yıkama sonrasında platform yüzeyinde hibridizasyonun varlığının tarayıcı veya okuyucu aracılığıyla analiz edilmesi ve görüntünün bir bilgisayarda depolanması.

5. Depolanan görüntünün bir yazılım aracılığıyla değerlendirilmesi ile mikroçip platformu üzerindeki hangi noktalarda hibridizasyon olup olmadığının ve niceliksel olarak düzeyinin (koyu mavi-yeşil-sarı-kırmızı renk yelpazesinde) değerlendirilmesi ve yorumlanması.



Şekil 1. Mikroçip yönteminin şematik gösterimi (16)

Mikroçip yönteminin kullanım amaçları iki hedefe yönelik olarak uygulanmaktadır (15):

1. **Gen ekspresyon düzeyinin ve düzey farklılıklarının ölçülmesi:** Ekspresyon şu koşullarda çalışılabilir; Farklı dokular, farklı gelişim basamakları, farklı genotipler, farklı uygulamalar, bir uygulama sonrası farklı zamanlar.

2. **Genom baz dizisinin ve genomlar arası dizi farklılıklarının ortaya konması:** Tek nükleotid

polimorfizmi (single nucleotide polymorphism) gibi teknikler ile mutasyon analizleri yapılabilmektedir. Bu amacı gerçekleştirmek için bir gende olabilecek tüm farklı mutasyon ihtimalleri tek bir çip üzerinde test edilir. SNP mikroarraylerin de yardımı ile hastalığa veya hastalığa yatkınlığa neden olan genler saptanabilmektedir.

Bitkilerde mikroçip teknolojisi ilk defa *Arabidopsis*'te yaprak ve kökteki gen ekspresyon profillerini belirlemek için 48 cDNA parçacığını içeren çip kullanılarak yapılmıştır (17). Daha sonra 1443 *Arabidopsis* geni içeren cDNA mikroçip farklı organ ve gelişme evresinde olan bitkilerde gen ekspresyon profilleri belirlenmiştir (18). Son yıllarda mikroçip teknolojisi model bitki *Arabidopsis* (19), pirinç (20), mısır (21), çilek (22), fasulye (23) gibi tarımsal açıdan önemli olan birçok bitkide, farklı koşullardaki gen ekspresyon profillerini belirlemek için kullanılmaktadır (24). Ayrıca mikroçiplerden bitkilerde abiyotik (25) ve biyotik stresler (26), meyve olgunlaşması (27), sirkadiyen saati (28), fitokrom A sinyalleme (29), tohum gelişmesi (30) ve nitrat asimilasyonu (31) sırasında aktif olan veya aktivitelerini azaltan genlerin bulunmasında yararlanılmaktadır. Buna benzer çalışmalar tüm genom DNA baz dizisi belli olan *Arabidopsis* ve pirinçte kullanılabileceği gibi kısmi genom DNA dizileri belirlenmiş ya da belirlenmekte olan birçok diğer bitkide de uygulanabilmektedir (32).

Mikroçip teknolojisinin birçok avantajları bulunmaktadır. Bu teknoloji, gen ifadesi modellerinin genel bir görüntüsünü elde etmeyi mümkün kılar. Belli bir hücre türünün belirli bir ortam için gen ifadesi profili belirlenip, bu profiller farklı hücre tipleri ve/veya farklı çevre koşullarındaki gen ifadesi profilleriyle karşılaştırılabilirler. Bu işlemler için yüksek kararlılık ve verim elde edebilmek amacıyla az miktarlarda DNA örneği yeterli olmaktadır. Mikroçip teknolojisi sayesinde, DNA üzerindeki tek baz değişiklikleri bile saptanabilmekte, kısa sürede ve oldukça pratik olarak birkaç bin genin analizini

yapmak mümkün olabilmektedir. Otomasyona dayalı bir sistem olduğu için insan kaynaklı hataların ortaya çıkma ihtimali de oldukça düşüktür (33).

Mikroçiplerin bilimin hizmetine sunulması büyük bir heyecan yaratmış olmasına rağmen bazı problemleri de beraberinde getirmiştir. Tüm deney düzeneği nükleik asit hibridizasyon yöntemine bağlıdır ve yüksek oranda benzerlik gösteren DNA dizileri problem yaratabilmektedir. Bu nedenle mikroçipten elde edilen veriler klasik gen ekspresyon analiz yöntemleriyle doğrulanmalıdır.

Ayrıca tüm mikroçip deneylerinin aynı hassasiyette olmayışı, ekspresyondaki küçük değişikliklerin analizde fark edilemeyecek boyutta olması, birbirinden farklı çipler kullanılarak yapılan deneylerin karşılaştırılmasında yaşanan zorluklar, optimizasyon ve standardizasyon sorunları ve herhangi bir deneyden elde edilen sonuçları her yönüyle değerlendirebilecek biyoinformatik programların henüz tam geliştirilememiş olması karşılaşılan sorunlardan birkaçıdır. Bu tür sorunları çözebilmek amacıyla Microarray Gene Expression Data Society gibi bazı yeni kuruluşlar oluşturulmaktadır (33).

2. PROTEOMİK

Proteom; belli bir zaman ve mekânda bir organizmanın sahip olduğu ve ifade ettiği tüm farklı proteinlerin bir toplamıdır. “Farklı proteinler” sadece genler tarafından kodlanan polipeptid yapıları değil, aynı zamanda sentez sonrası modifikasyonları da içermektedir. “Mekân” terimi farklı proteinlerin farklı hücre kompartmanlarında ve farklı hücre tiplerinde ifadesini belirtir. “Zaman” ise farklı gelişim evreleri, çevresel koşullar, çeşitli hastalıklar, yaşlılık gibi süreçlere işaret eder (34). Proteom kelimesi ilk kez 1994 yılında, Siena’da “İki yönlü elektroforez” toplantısında Avustralyalı araştırmacı Marc Wilkins tarafından önerilmiş ve kabul görmüştür.

Proteomik; belli bir zamanda belli bir yerde bulunan tüm proteinlerin yapılarını, yerleşimlerini, miktarlarını, translasyon sonrası modifikasyonlarını, doku ve hücrelerdeki işlevlerini, diğer proteinlerle ve makro moleküllerle olan etkileşimini aydınlatır. Proteomik, dinamik bir terim olup farklı koşullarda hücre, doku veya vücut sıvılarındaki proteinlerin kantitatif analiz teknolojisi olarak tanımlanır. Kıyaslamalı proteomik ise iki farklı durum arasındaki (normal ve hastalık, yaşlı ve genç) ekspresyonun karşılaştırılmasına dayanır (35).

Proteomik çalışmalarının amaçları ise şunlardır;

1.mRNA ekspresyon düzeyleri, protein ekspresyon düzeyleri ile iyi korele edilemez.

2.mRNAdüzeyleri, kodlanmış proteinin aktivitesini yansıtmaz.

3.mRNA düzeyinde proteinlerin post-translasyonel modifikasyonları ile ilgili bilgi sağlanamaz.

4.Genom ve Proteom = komplementer veri sağlar.

Proteomik alanında ülkemiz adresli ilk uluslararası yayın Nisan 2007’de Proteomics dergisinde, dergi kapağında da yer alarak yayınlanmıştır. Bu araştırmaya konu olan mikroorganizma, odunlu bitkilerin yapısındaki lignini tamamen mineralize edebilen, ayıca fenolik kirleticileri parçalamakta çok etkin bir biçimde kullanılan biyoteknolojik önemi yüksek *Phanerochaeta chrysosporium* isimli bir beyaz çürükçül mantardır. Bu mantarın hücreleri ağır metallerin yüksek konsantrasyonlarına dirençlidir ve bu metalleri hücre duvarına bağlama kapasiteleri yüksektir. Bu araştırmada *P. chrysosporium* ağır metallere verdiği yanıtta yer alan protein elemanlarının ve protein modifikasyonlarının tanımlanarak global gen ifade profilinin elde edilmesiyle organizmanın metal stresiyle başa çıkabilmesini sağlayan yanıtın moleküler seviyede öğrenilmesi amaçlanmıştır. Organizmanın ağır metallere maruz kaldığında değişen proteomları

referans proteom haritasıyla karşılaştırılmış, ifadelerinde değişim görülen en az 200 adet protein tanımlanmış ve mikroorganizmanın stres yanıtında kullandığı mekanizmalar aydınlatılmıştır (36).

3. METABOLOMİK

2003 yılında tamamlanan “İnsan Genom Projesi” insan vücudunda 30.000 civarında gen bulunduğunu, bunların % 99.9’unun tüm bireylerde aynı, % 0.1’inin farklı olduğunu ortaya çıkarmıştır (37). Bu % 0.1’lik fark neden bazı kişilerin hastalık riski taşıdığını, hastalıkların şiddetinin neden kişiler arasında farklılık gösterdiğini, neden bazı kişilerde ilaçlara daha iyi yanıt alındığını açıklamada önemli olacaktır. Yani, genlerin tanımlanması ile bilinmeyenler tamamen çözümlenmemiş, bu genlerin fonksiyonları araştırılmaya başlanmış, proteomik ve transkriptomik çalışmaları yapılmıştır. Ama bu araştırmalardan elde edilen bilgiler de klinik fenotipleri açıklamak için yeterli olmamıştır. Çünkü, klinik fenotipi belirleyen bilgi hücrede oluşan metabolitlerde saklıdır (38). Metabolit; canlılarda çeşitli tepkimeler sırasında ortaya çıkan ve normal olarak vücutta birikmeyerek başka bileşiklere dönüşen kimyasal bileşiklerdir.

Metabolomik; belirli bir zaman diliminde dokularda, hücrelerde ve fizyolojik sıvılarda lipid, karbohidratlar, vitaminler, hormonlar ve diğer hücre bileşenlerinden ortaya çıkan küçük moleküllü metabolitlerin yüksek verimli teknolojiler kullanılarak saptanması, miktarının belirlenmesi ve tanımlanmasıdır. Küçük moleküller peptitler, oligonükleotidler, şekerler, nükleozidler, organik asitler, ketonlar, aldehitler, aminler, amino asitler, lipitler, steroidler, alkaloidler ve ilaçlar, insan-bakteri ürünleri gibi metabolitlerdir ve molekül ağırlıkları 1.500 Da’un altındadır (39).

Genomik ve proteomik “ne olabileceğinin” metabolomik ise “gerçekte ne olduğunun” bilgisini

verir. Bu nedenle, tüm metabolitlerin ayrıntılı ve kantitatif ölçümü (metabolomik) hastalık teşhisi veya toksik ajanların fenotip üzerindeki etkilerini araştırmada en ideal yöntemdir (40).

İnsandaki metabolitlerin sayısı tam olarak bilinmemekte; en az iki-üç bin en fazla yirmi bin olabileceği tahmin edilmektedir. Metabolomik analizleri serum, idrar, beyin omurilik sıvısı, plazma, tükürük gibi vücut sıvılarında yapılabilir. Bu analiz klinik biyokimya ile farmakoloji, pre-klinik ilaç denemeleri toksikoloji, transplant izlemi, kanser metabolizması, yeni doğan taraması alanlarında kullanılmaktadır (38). Proteomikte olduğu gibi metabolomik de hastalık belirleyicisi olan veya tedavi denetimini sağlayan metabolitleri belirlemeyi amaçlar. Sözelimi; hastanın metabolik profili ve genetik yapısına göre diyet önerilerinde bulunulmasına imkân verir.

Metabolomik, biyoloji, kimya ve matematik içeren multi-disipliner bir bilimdir. Çok değişkenli veri analiz yöntemleriyle birleştirilmiş kromatografi, moleküler spektroskopi ve kütle spektrometrisi gibi analitik tekniklere ihtiyaç vardır. Metabolomik çalışmalarında esas olarak iki teknoloji kullanılmaktadır. Bunlar; NMR ve değişik kütle spektrofotometreleridir (41).

Hedef bileşik analizleri ve metabolik profilleri için; Gaz Kromatografisi (GS), Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC), Nükleer Magnetik Rezonans (NMR) gibi kromatografik ayırma yöntemlerine dayanmaktadır.

Parmak izi yöntemleri örnek sayısının fazla olduğu durumlarda hızlı bir şekilde profillerinin çıkarılması için kullanılmaktadır. Örnekler çözücü ekstraksiyonundan sonra, Bozulmamış dokular (magic angle spinning NMR), Sıvı veya yarı katı materyaller (NMR ve FT-IR) veya Kuru materyaller (FT-IR) (42) analizleri gerçekleştirilir.

4. İNSAN GENOM PROJESİ

Tüm insan genom dizisinin belirlenmesi fikri ilk defa 1984-1986 arasında Amerika Birleşik Devletleri Enerji Bakanlığında (DOE) bilimsel toplantılarda tartışılmıştır. Enerji Bakanlığı ve Ulusal Sağlık Enstitüsü (National Institutes of Health) tarafından yönetilen ve 18 ülkenin destek verdiği bu proje 1990 yılında 15 yıllık bir süre için başlatılmıştır. Projenin ilk beş yıllık bölümü (1993-1998) tamamlandıktan sonra 1998-2003 yıllarını kapsayan ikinci bir beş yıl sonunda proje tamamlanmıştır (37). Amacı; insan genomundaki yaklaşık 3 milyar DNA bazını ve yaklaşık 30 bin civarında olduğu tahmin edilen genleri tanımlamaktır. Bu projenin önemi; insan genomunun şifresinin çözülmesi; yani DNA bazlarının diziliş sırasının belirlenmesi, doğuştan var olan yeteneklerimiz ile bazı davranış ve hastalıklara yatkınlığımızın bilinmesinin sağlamasıdır. Saptanan sonuçlar ise; İnsan genomu 3.164.700.000 nükleotidten oluşmaktadır; Bir gen ortalama 3.000 nükleotidten oluşur ancak bu sayı çok değişkendir. En büyük gen olarak bilinen distrofin geni, 2,4 milyon baz içerir, Toplam gen sayısı 29.000-36.000 arasındadır; Nükleotid dizilerinin % 99,9'u bütün insanlarda aynıdır; Bu güne kadar insanlarda 1,5 milyon kadar tek nükleotid değişikliği bölgesi saptanmıştır.

Tanımlanmış genlerin % 50'den fazlasının işlevleri henüz bilinmemektedir. Genlerimizin büyük kısmı (% 40) sinir sisteminin oluşumunda ve desteklenmesinde görevlidir. Bu sonuçlar ayrıca genlerin hatalı çalışmasından kaynaklanan nörojenetik hastalıklara çözüm getirme sürecini de hızlandıracaktır. İnsan davranışlarındaki açıklanamayan sapmalar, eğilimler de bu yolla açıklanabilecektir. Öyle ki yeni tespit edilen bazı genlerin uyuşturucu bağımlılığında rol alabileceği öngörülmektedir. Örneğin insanlardaki dopamin taşıyıcı mekanizmaların farklılığı neden bazı kişilerin bağımlı olmaya daha yatkın olduğunu açıklayabilir yeterliliktedir (43).

Genomun yaklaşık % 2'si proteinleri kodlamakta ve proteinleri kodlamayan dizi tekrarları, genomun büyük bir bölümünü oluşturmaktadır. En fazla geni 1. Kromozom (2.968) ve en az geni Y kromozomu (231) içermektedir. Aynı gen alternatif mRNA kesip eklenmeleri ve kimyasal değişikliklere bağlı olarak değişik proteinleri kodlayabilmektedir. İnsan; bitki, sinek ve kurtçuklarla ortak protein ailelerine sahiptir ancak gen aileleri (özellikle gelişme ve bağışıklıktan sorumlu olanlar) insanda daha fazla yer almaktadır.

İnsan Genom Projesinden beklenen faydalar Tablo1'de özetlenmiştir;

Projenin en çok ilgi çeken sonuçlarından biri X ve Y kromozomlarının mutasyonla olan ilişkisidir. Projedeki araştırmacılar X ve Y kromozomlarının üzerindeki tekrarlanan diziler üzerinde çalışarak, erkek/kadın mutasyon oranının 2/1 olduğunu saptamışlardır. Bu oranın temelinde, erkek cinsiyet hücrelerinin gelişiminde yeni mutasyonlara olanak sağlayabilecek daha fazla sayıda hücre bölünmesinin gerçekleşmesi, sperm ve yumurta hücrelerinde farklı DNA tamir mekanizmalarının bulunması olasılıkları yatmaktadır (43).

5. İNSAN METABOLOM PROJESİ (HMP)

Metabolomik çalışmalar içinde çeşitli işbirlikleri oluşturulmuştur. Bunlardan ilk başlayan ve tamamlanan İnsan Metabolom Projesi (HMP), 2005 yılında Kanada Alberta Üniversitesi'nin, Genom Kanada ve Kanada İnovasyon Kurumu'nun desteği ile başlayan 7,5 milyon dolar bütçeli bir inovasyon projesidir. HMP projesi ile insan vücudunda idrar, beyin omurilik sıvısı, plazma ve lökositlerde bir mikromolardan daha fazla konsantrasyonda bulunan tüm metabolitleri tanımlamak, ölçmek ve normal-anormal değer aralığını belirlemek, bu verilerin serbestçe elektronik ortamda elde edilebilir olmasını sağlamak (Human Metabolome Data Base-HMDB) ve tanımlanan bileşiklere halkın ulaşmasını sağlayacak bir kütüphane (Human Metabolome Library-HML) oluşturmak amaçlanmıştır.

Tablo 1. İnsan Genom Projesinden beklenen faydalar

Alan	Getiriler
Moleküler tıp	Tanı yöntemlerinin geliştirilmesi Hastalıklara genetik yatkınlığın belirlenmesi Genetik yapıya özgün ilaçların geliştirilmesi Gen tedavisi yöntemlerinin geliştirilmesi
Çevre ve enerji	Yeni enerji kaynaklarının geliştirilmesi Çevre kirleticilerin saptanması ve kontrolü Biyolojik ve kimyasal ajanlara karşı koruma yöntemlerinin geliştirilmesi Zehirli atıkların güvenli olarak etkisizleştirilmesi
Risk değerlendirme	Radyasyon ve toksik ajanların kanserojen ve diğer zararlı etkilerinin mekanizmalarıyla birlikte aydınlatılması Nesilden nesile geçen (kalıtlı) mutasyonların ebeveynlerden yavrulara geçme riskini azaltılması,
Tarım, hayvancılık ve biyoişlem	Kuraklığa, zararlılara, hastalıklara dirençli bitkilerin geliştirilmesi Daha sağlıklı ve kaliteli çiftlik hayvanlarının geliştirilmesi Besin değeri yüksek ürünlerin geliştirilmesi Biyopestisitlerin üretilmesi Yenilebilir aşılarda (meyve ve sebzelerin içinde) üretilmesi Çevre temizlemede kullanılacak ağır metal toplayıcı bitkilerin geliştirilmesi Bakteri genetiği Patojen bakterilerin kolay ve hızlı saptanması
Biyoarkeoloji, antropoloji, evrim ve tarih	Evrimin moleküler düzeyde gösterilmesi Değişik toplumların göç yollarının ve akrabalıklarının araştırılması Y kromozom mutasyonlarının incelenmesiyle erkek dağılımının ve göçlerinin araştırılması
DNA tanımlama	Adli tıpta suçluların belirlenmesi. Her türlü cinayette ve adli vakalarda, failin geride bıraktığı hücre örneklerinden, herkesin kendine has olarak yaratılmış DNA programını kullanarak gerçek suçluyu belirleme imkânında büyük ilerlemeler olacaktır Kan bağlarının saptanması. Analık-babalık, velâyet ve miras davalarındaki ihtilafların çözümünde inkâr mümkün olmayan sağlam deliller ortaya konulacağı için büyük kolaylıklar yaşanacaktır Çevre kirleticisi bakteri ve benzeri organizmaların saptanması Organ nakillerinde doku uyumunun kesin olarak saptanması Soy ağaçlarının geliştirilmesi

HMP 2009 yılında tamamlanmış ve sonuçları www.hmdb.ca adresinde açıklanmış, bu veritabanı hakkında bilgi yayınlanmış, halkın erişebileceği bir kütüphane oluşturulmuş ve aynı web sitesinden bu kütüphaneye bir bağlantı sağlanmıştır.

HMDB, 2500 endojen metabolit içermektedir. Bu metabolitler 27,700'den fazla farklı sinonimle, 115 metabolik yolla, 2080 farklı enzim, 110,000 tek nükleotid polimorfizmi ve 862 genetik veya kazanılmış metabolik hastalıkla bağlantılıdır. Her metabolit için yaklaşık 90 farklı sayfada değişik özellikler sunulmuştur. HMDB endojen metabolitlerin yanı sıra 1500 ilaç, 3900 besin bileşeni içermektedir. HML'deki bileşik sayısı 778'dir (45,46).

SONUÇ

Bütün bu beklenen faydaların ortaya çıkması, büyük bir ekonomik faaliyet alanının ve endüstrinin

doğmasıyla mümkün olduğundan, 21. yüzyılın kritik teknolojisi, demir ve metale bağlı gri teknolojiler değil, canlıların genom bilgisini kullanmaya bağlı model organizmaların, birer fabrika olarak kullanılacağı gen teknolojileri olacak denilebilir (44). Düşünülen sayısız faydalarının yanında, tıpkı nükleer santraller ile atom bombasının, maddenin aynı özelliğinden yararlanarak icat edilmesi gibi, genlerle oynamanın çok korkunç bedelleriyle karşılaşılması ihtimalini de unutmamak gerekir. İnsanın veya kullandığımız hayvan ve bitki genlerinin şifreleriyle oynarken, sonumuzu getirebilir, hiçbir ilâcın etki edemediği virüsler, bakteriler veya mantarlar üreterek, büyük felâketlere de sebep olabiliriz.

Türkiye bu çalışmalarda ve sonuçlarında söz sahibi olmak, elde edilen sonuçlardan haberdar olmak için bu çalışmaları en kısa sürede aciliyetle ilerletmelidir. Ülkemizdeki Genetik Mühendisleri ve Biyologlar bu teknolojiyi daha ileriye taşıyacaklardır.

KAYNAKLAR

1. Pearson H. Genetics: what is a gene?". Nature, 2006; 441: 398-401.
2. Winkler H. Verbreitung und Ursache der Parthenogenesis im Pflanzen und Tierreiche. Verlag Fischer, Jena, 1920: 128.
3. Kuska B. Beer, Bethesda, and biology: How "genomics" came into being. J Natl Cancer Inst, 1998; 90(2): 93.
4. Siddik Yarman B, Gurkan H, Guz U, Aygün B. "A new modeling method of the ECG signals based on the use of an optimized predefined functional database" Acta Cardiologica, Int J Cardiol 2003; 58 (3): 59-61.
5. Şahin M, Çevik D. Mikroarray teknolojisi ve bitkilerde uygulama alanları. SDÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi 2005; 9-13.
6. Yuluğ İ. İnsan genom projesi. Avrasya Dosyası, Moleküler Biyoloji ve Gen Teknolojileri, 2002; 8/3: 7-23.
7. Holley RW, Everett GA, Madison JT, Zamir A. Nucleotide sequences in the yeast alanine transfer ribonucleic acid. J Biol Chem, 1965; 240: 2122-8.
8. Maxam A, Gilbert W. A new method of sequencing DNA. PNAS 1977; 74: 560-4.
9. Sanger F, Nicklen S, Coulson, AR. DNA sequencing with chain terminating inhibitors. PNAS 1977; 74: 5463-7.
10. Gündoğdu AK, Karahan AG. Nutrigenomik Teknolojileri. SDÜ Mühendislik Mimarlık Fakültesi Dergisi, 2008; 33 (4): 183-191.
11. Alwine JC, Kemp DJ, Stark GR. Method for detection of specific RNAs in agarose gels by transfer to diazobenzyloxymethyl-paper and hybridization with DNA probes. Proc Natl Acad Sci USA, 1977; 74 (12): 5350-4.
12. Tefferi A, Wieben ED, Dewald WG, Whiteman DAH, Bernard ME, Spelsberg TC. Primer on Medical Genomics Part II: Background Principles and Methods in Molecular Genetics. Mayo Clin Proc 2002; 77: 785-808.
13. www.microarray.swmed.edu.2009.
14. Mewes HW, Albermann K, Bahr M, Frishman D, Gleissner A, Hani J, Heumann K, Kleine K, Maiert A, Oliver SG, Pfeiffer F, Zollner A. Overview of the yeast genome. Nature, 1997; 387 : 7-65.
15. Saraçlı MA. DNA Chip Teknolojisi ve Mikolojide Uygulama Alanları. Sempozyum: Mikozlar ve moleküler yöntemler. GATA Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Tıbbi Mikoloji Bilim Dalı, Ankara, 2007; 181-4.

16. Alper B. Geçmişten Günümüze DNA İnceleme Teknikleri ve Prensipleri, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Adli Tıp Anabilim Dalı Adana, 2008.
17. Schena M, Shalon D, Davis RW, Brown PO. Quantitative monitoring of gene expression patterns with a complementary DNA microarray. *Science*, 1995; 270: 467- 70.
18. Ruan Y, Gilmore J, Conner T. Towards Arabidopsis genome analysis: Monitoring expression profiles of 1400 genes using cDNA microarrays. *Plant J*, 1998; 15: 821-33.
19. Lin JF, Wu SH. Molecular events in senescing Arabidopsis leaves. *Plant J*, 2004; 39(4): 612-28.
20. Lan L, Chen W, Lai Y, Suo J, Kong Z, Li C, Lu Y, Zhang Y, Zhao X, Zhang X, Zhang Y, Han B, Cheng J, Xue Y. Monitoring of gene expression profiles and isolation of candidate genes involved in pollination and fertilization in rice (*Oryza sativa L.*) with a 10K cDNA microarray. *Plant Mol Biol*, 2004; 54(4): 471-87.
21. Wang H, Miyazaki S, Kawai K, Deyholos M, Galbraith DW, Bohnert HJ. Temporal progression of gene expression responses to salt shock in maize roots. *Plant Mol Biol*, 2003; 52(4): 873-91.
22. Aharoni A, Keizer LC, Van Den Broeck HC, Blanco-Portales R, Munoz-Blanco J, Bois G, Smit P, De Vos RC, O'Connell AP. Novel insight into vascular, stress, and auxin-dependent and -independent gene expression programs in strawberry, a non-climacteric fruit. *Plant Physiol*, 2002; 129(3): 1019-31.
23. Arimura G, Tashiro K, Kuhara S, Nishioka T, Ozawa R, Takabayashi J. Gene responses in bean leaves induced by herbivory and by herbivore-induced volatiles. *Biochem Biophys Res Commun*, 2000; 277(2): 305-10.
24. Aharoni A, Vorst O. DNA microarrays for functional plant genomics. *Plant Mol Biol*, 2001; 48: 99-118.
25. Seki M, Narusaka M, Ishida J, Nanjo T, Fujita M, Oono Y et al. Monitoring the expression profiles of 7000 *Arabidopsis* genes under drought, cold and high-salinity stresses using a full-length cDNA microarray. *Plant J*, 2002; 31: 279-92.
26. Gibly A, Bonshtien A, Balaji V, Debbie P, Martin GB, Sessa G. Identification and expression profiling of tomato genes differentially regulated during a resistance response to *Xanthomonas campestris pv. vesicatoria*. *Mol Plant Microbe Interact*, 2004; 17(11): 1212-22.
27. Schwab W, Aharoni A, Raab T, Perez C, Sanz AG. Cytosolic aldolase is a ripening related enzyme in strawberry fruits (*Fragaria ananassa*). *Phytochemistry*, 2001; 56(5): 407-15.
28. Schaffer R, Landgraf J, Accerbi M, Simon V, Larson M, Wisman E. Microarray analysis of diurnal and circadian-regulated genes in Arabidopsis. *Plant Cell*, 2001; 13: 113-23.
29. Wang H, Ma L, Habashi J, Li J, Zhao H, Deng XW. Analysis of far-red light-regulated genome expression profiles of phytochrome: A pathway mutants in Arabidopsis. *Plant J*, 2002; 32(5): 723-33.
30. Ogawa M, Hanada A, Yamauchi Y, Kuwahara A, Kamiya Y, Yamaguchi S. Gibberellin biosynthesis and response during *Arabidopsis* seed germination. *Plant Cell*, 2003; 15(7): 1591-604.
31. Wang R, Okamoto M, Xing X, Crawford NM. Microarray analysis of the nitrate response in *Arabidopsis* roots and shoots reveals over 1,000 rapidly responding genes and new linkages to glucose, trehalose-6-phosphate, iron, and sulfate metabolism. *Plant Physiol*, 2003; 132(2): 556-67.
32. Kuhn E. From library screening to microarray technology: strategies to determine gene expression profiles and to identify differentially regulated genes in plants. *Ann Bot*, 2001; 87: 139-55.
33. http://www.istanbul.edu.tr/fen/mbg/ders_notlari/nermin_g/ogrencisunumlari_genmh5.pdf.2008
34. Özcengiz G. Proteomik: Post-genomik dönemin en güçlü teknolojisi. *ODTÜ Haber Bülteni* 2007; 15: 13-9.
35. György Makro-Varga. Proteomics principles and challenges. *Pure Appl Chem*, 2004; 76(4): 829-37.
36. Özcan S, Yıldırım V, Kaya L, Becher D, Hecker M, Özcengiz G. *Phanerochaete chrysosporium* soluble proteome as a prelude for the analysis of heavy metal response. *Proteomics* 2007; 7: 1249-60.
37. Venter D. A part of the human genome sequence. *Science*, 2003; 299: 1183-84.
38. Bren L. Metabolomics: Working toward personalized medicine. *FDA Consum*, 2005; 39: 28-33.
39. Goodacre R. Metabolomics-the way forward. *Metabolomics* 2005; 1: 1-2.
40. Coşkun T. Nutrisyonel genomik. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi* 2007; 50: 47-66.
41. German JB, Hammock BD, Watkins SM. Metabolomics: Building on a century of biochemistry to guide human health. *Metabolomics* 2005; 1: 3-9.

42. Dettmer K, Hammock BD. Metabolomics - a new exciting field within the “omics” sciences. *Environ Health Persp*, 2004; 112: 396-7.
43. Yiğit A, Güney Ö. İnsan genomu projesindeki gelişmeler ve değerlendirmeler. *Bilim ve Teknik* 2001; 400.
44. Balcan E. Gen Ekspresyonu ve Regülasyonu Ders Notları, 2008.
45. Wishart DS, Tzur D, Knox C, Eisner R, Guo AC, Young N, et al. HMDB: the human metabolome database. *Nucleic Acids Res*, 2007; 35; 521-6.
46. Wishart DS. Human metabolome database: Completing the ‘human parts list’. *Pharmacogenomics*, 2007; 8: 683-6.