



# Büyümenin Arttırılması Amacıyla Yapılan Biyoteknolojik Uygulamalar

- Gelişme ve büyümeyi hızlandırmak üzere hayvanlara hormon preparatları verilebilmektedir.
- Bu yöntem ile hayvanlarda büyüme ve gelişme hızlanarak kısa bir sürede verimli hale gelmesi sağlanır.
- Başlıca iki şekilde yapılmaktadır.
  - Ekzojen somatotropin kullanılması
  - Somatostatin'in inaktivasyonu

# Süt Veriminin Arttırılması

Bovine somatotropin'in (BST, sığır büyüme faktörü) süt ineklerinde kullanılması, meme dokusunun süt salgısını sentezleme kapasitesini artırmaktadır. Sonuçta süt salgısı hayvan türlerine göre değişmekle beraber %20-30 oranında arttığı tespit edilmiştir.

Sadece vücuda enjeksiyon yoluyla verilebilir. Yeme karıştırılması halinde ise sindirim sırasında yıkıma uğrar. Doğum sonrası ineklere 60-80 gün boyunca günlük olarak enjeksiyon yapılır.

# rSTH (rekombinant sığır somatotropini)

- Serum IGF-1 düzeyi sütte normale göre % 10 oranında arttırıcı bir etki göstermektedir.
- IGF-1 östrojenler, androjenler gibi büyümeyi uyarıcı hormonlarla etkileşime girebilmektedir.
- İçme sütü yüksek düzeydeki IGF-1 den önemli ölçüde etkilenmektedir.
- Sütün yoğurda dönüştürülmesinde ise IGF-1 mikroroganizmaların bazıları tarafından kullanıldığından IGF-1 bertaraf edilir.

# Süt Üretiminde Transgenik Hayvanların Kullanılması

Sığır ve koyun embriyolarına süt protein sentezini kodlayan genlerin transferi ile bu hayvanların daha çok süt verimine sahip olması sağlanacaktır. Çalışmaları halen bilim dünyasında devam etmektedir.

## YAPAĞI KALİTESİNİN ARTIRILMASI



❑ Transgenik hayvan teknolojisi ile koyunların yapağı kalitesini artırmaya yönelik bir çok çalışma yapılmıştır. Mikroinjeksiyon tekniği ile elde edilen transgenik koyunlarda IGF-1 (İnsulin-benzeri büyüme faktörü 1, fare keratin promoteri ile çalıştırılmış), yapağı veriminde %6.2 lik bir artış sağlamıştır.

❑ Koyunlarda yapağı kalitesinin artırılması için ayrıca sistein (cystein) biyosentezinin değiştirilmesi veya üretiminin artırılması yapağı üretim hızını Artırmıştır.

# Terapotik Maddelerin Sütle Salgılanması

Transgenik hayvanlar medikal ürünlerin üretilmesinde ve transplantasyonlarda kullanılacak çeşitli organların üretilmesinde yararlar sağlayacaktır.

Örneğin; insanlarda kanın pıhtılaşmasında görevli olan pıhtılaşma faktörü IX geni, koyunların beta-laktoglobulin genine bağlanarak oluşturulan hibrid gen yapısı, koyunlara verildiğinde sütleriyle faktör IX'u salgıladıkları tespit edilmiştir.

# Laktozsuz Süt Üretimi

- Bebekler ve gençlerde, sütte bulunan laktoz kolayca metabolize edilebilmektedir. Ancak ilerleyen yaşlarda bu yetenek azalmaktadır.
- Süt barsaklarda kolayca sindirilememektedir. Bu durum birçok insanda farklı rahatsızlıklara neden olmaktadır.
- Bu nedenle bu tip insanlar süt tüketimleri sırasında ya süt içerisine belli oranda süt şekerini ayrıştıran laktaz enzimi katmakta ya da transgenik hayvanlardan laktozsuz süt elde ederek içmektedir.



# Biyoteknolojik yöntemlerle üretilen ve Dünyada en çok satılan bazı terapötik protein türü ilaçlar

İlacın adı	Üretici firma	Geliştirici firma	Kullanım yeri
Epogen	Amgen	Amgen	Anemi
Procrit	Amgen	Ortho Biotech	Anemi
Neupogen	Amgen	Amgen	Nötropeni
Humulin	Genentech	Eli Lilly	Diyabet
Engerix-B	Genentech	SmithKline Beecham	Hepatit B
Intron A	Biogen	Shering-Plough	Bazı lösemisi ve sarkomalar, Hepatit C
Kogenate	Bayer Biological	Bayer Biological	Hemofili A
Genotropin	Genentech	Pharmacia	Büyüme bozukluğu
Avonex	Biogen	Biogen	Multipl skleroz
Betaseron	Chiron/Berlex	Berlex/Schering AG	Multipl skleroz

- Modern biyoteknolojiye dayanan yeni ilaçlar kısaca "biyofarmasötikler" olarak tanımlanabilir
- Biyofarmasötikler ise iki ana sınıfta incelenebilir: küçük moleküllerden oluşan "kimyasal ilaçlar" ve daha büyük moleküllerden oluşan "terapötik proteinler".
- Terapötik proteinler, tedavi amacı ile kullanılan her türlü proteini kapsar. Modern biyoteknoloji ürünü olan terapötik proteinler ise, doğrudan biyolojik kaynaklardan (örneğin insan kanı veya idrarından) saflaştırılmayan, biyoteknolojik bir yöntem kullanılarak üretilen proteinleri kapsar.

- Terapötik proteinlerin bir çođu rekombinant DNA teknolojisi kullanılarak üretilmektedir.
- ilaç olarak kullanılması amaçlanan bir insan proteini, hücre kültürü yöntemi ile memeli hayvan hücrelerinde veya fermantasyon yöntemi ile maya veya bakteri hücrelerinde yüksek miktarda üretilmekte, daha sonra bu proteinler üretim ortamından saflaştırılmaktadır.

- ❑ Terapötik amaçlı olarak kullanılan monoklonal antikolar, genellikle, önce antikorun hedefleyeceği antijenin farelere verilmesi, daha sonra farenin lenfosit hücrelerinin hibridoma hücreleri haline getirilmesi ile elde edilmektedir.
- ❑ Bir çok durumda, fare antikoru doğrudan insan için kullanılmamakta, rekombinant DNA teknolojisi yardımı ile, fare antikorunu kodlayan genlerde bazı değişiklikler yapılmakta, böylece sentezlenen antikorun insaninkine benzer hale getirilmesi (*humanization*) sağlanmaktadır.
- ❑ *İster rekombinant ister monoklonal antikor türünde olsun, konak hücrelerin ürettiği etken maddenin, ilaç olarak kullanılabilmesi için bir kaç kromatografi yöntemi ile aşamalı olarak saflaştırılması gerekir.*

## Eritropoietin (EPO)

- ❑ Eritropoietin (EPO) kırmızı kan hücrelerinin üretimini arttıran bir hematopoetik büyüme faktörüdür.
- ❑ Kemik iliğindeki kırmızı kan hücresi oluşturmak üzere programlanmış olan öncül hücrelerin çoğalmasında, farklılaşarak özelleşmesinde ve bu hücrelerde kanda oksijeni taşıyan hemoglobinin sentez hızının artmasında başlıca rolü oynayan EPO'nun %90'ını böbrek üretir.
- ❑ EPO kodlayıcı gen insan 7. kromozomu üzerinde tek kopyası olan, 4 intron ve 5 eksondan oluşan bir gendir.

EPO ilk kez 1971'de anemik koyunların plazmalarından ve sonralarda anemili hastalardan toplanan yaklaşık 2500 litre idrardan saflaştırılmıştır. Doğal kaynaklardan elde etme ve saflaştırma pratik olmadığından, EPO rekombinant DNA teknolojisinin ilklerinden biri olmasını sağlamıştır. İnsan EPO geni 1985'de genomik DNA'dan izole edilmiş, sonra klonlanarak memeli hücrelerinde üretilmiştir. EPO ilaç olarak, ilk kez 1989'da, kronik böbrek yetmezliğine bağlı anemi tedavisinde kullanılmaya başlandı.

## İnsülin

İnsülin diyabette kullanılan en eski tedavi şeklidir ve vücutları kendiliğinden insülin üretemeyen Tip I diyabet hastaları için gereklidir. Birçok Tip II diyabet hastasında da insülin kullanımı, biguanid ya da sulfonilüre tedavisine bütünleştirici olarak tavsiye edilmesi talebin artmasına neden olmaktadır.

- ❑ Aktif İnsülin disülfat bağları ile bağlı iki polipeptit zincirinden oluşur. A zinciri 21 aminoasitken daha geniş olan B zinciri 30 aminoasit uzunluğundadır.
- ❑ Aminoasit dizilerinde farklılıklar olmasına karşın, çeşitli türlerin ürettiği insülinler bu basit yapıya sahiptir. Domuz insülini insan insülininden yalnızca bir, sığır insülininden ise üç aminoasid farklıdır.
- ❑ Hayvan kaynaklı insülinler insanlarda kullanıldığında zamanla işlevsiz hale gelmekte veya allerjik reaksiyona neden olabilmektedir.
- ❑ Genentech araştırmacıları ilk uygulamalarında insülin A ve B zincirlerini kodlayan nükleotit dizilerini ayrı ayrı iki farklı E. Coli hücrelerinde klonlayıp, iki zincirli farklı fermentörlerde üretilip saflaştırdılar. Sonra bu A ve B zincirleri uygun okside edici ortamlarda tutularak, aralarında sülfat bağlarının oluşması sağlandı.
- ❑ Lilly araştırmacıları ise, rekombinant E. Coli'de insan proinsülinini kodlayan nükleotit dizisini klonlayıp %99 saflıkta insan insülini elde edebildiler.

## Monoklonal Antikorlar

❑ Monoklonal antikorlar, terapötik proteinler içinde özel bir grubu oluşturmaktadırlar. Antikorlar bağışıklık sisteminin bir parçası olarak B-lenfositleri tarafından üretilen immüoglobulinlerdir.

❑ Antikorlar özel bir hedefe (antijene) karşı yönelmiş ve hedef proteine kilitlenerek, onu etkisiz hale getirebilen özelliğe sahip moleküllerdir.

Monoklonal antikorlar, bir tek B-hücre klonu tarafından üretilen homojen yapıda antikorlardır. Tedavide kullanılan monoklonal antikorlar genellikle farede geliştirilen antikorlardır.

❑ Ancak tedaviye tabi olan hastalar fare proteinlerine karşı bağışıklık geliştirdiklerinden kullanımları sınırlı kalmıştır.

❑ Bu sorun, fare monoklonal antikorlarının “insanlaştırılmaları” ile giderilebilmiştir. İnsanlaştırılmış (humanized) monoklonal antikorların elde edilmesinde rekombinant DNA teknolojisi kullanılmaktadır.

❑ Önce fare antikorunu kodlayan gen dizileri belirlenmekte sonra bu dizilerde yer alan fare DNA'ları insan immunoglobulin DNA'ları ile değiştirilmektedir.

❑ Böylece elde edilen rekombinant monoklonal antikorlar, sadece hedef molekülü tanıyan kısımları itibarı ile fare kaynaklı olmakta, molekülün diğer parçaları insan türünden olmaktadır.

# *Xenotransplantation*

Kısaca farklı türler arasında yapılan organ nakline verilen addır.

Pratikte ise insanda işlevi olmayan veya kaybedilmiş doku veya organlar yerine hayvanlardan alınan doku ve organların nakledilmesi anlaşılmaktadır.



## Xenotransplantation: Kapsamı

- Türler arasındaki büyük farklılık nedeniyle başarılı bir organ naklinin şansı son derece düşüktür.
- Zira organın nakledildiği bireyin immün sistemi yabancı bir doku olarak tanımlayacağı organa karşı güçlü bir biçimde reaksiyon gösterir.
- Yeni bir kavram olmayıp geçmişi 17. yüzyıla kadar uzanmaktadır.

1905: Fransız doktor Princeteau tavşandan aldığı böbrek dokusunu ağır böbrek yetmezliği çeken hastalarından birine nakletmiştir. Hasta dikkate değer derecede idrara çıkmaya başlamış ancak 16 gün sonra akciğer ödeminden hayatını kaybetmiştir.

1909 ,Alman doktor bir böbrek hastasına maymun böbreği nakletmiş, 32 saat sonra böbrek toplardamarında tromboz oluşumu nedeniyle hasta yaşamını yitirmiştir.

- 1964 yılında, Reemtsma bazı böbrek hastalarına goril böbreği nakletmiş, sonra vücut savunma sistemini baskılayıcı tedavi uygulamıştır. Sadece bir hastanın 9 ay boyunca böbreği faaliyet gösterebilmiştir.



Nakledilen organın reddine neden olan mekanizma

- Nakledilen organın vasküler dokusu ile vücudun doğal antikorlarının etkileşimi sonucu organda yaygın tromboz oluşur. Hızlı gerçekleşen bir süreçtir (Birkaç dk ile birkaç saat arası)
- T hücreleri, nötral killer hücreler ve makrofajlar organ reddine neden olur. Günler ya da aylar sonra ortaya çıkar. Daha geç dönemde aynı mekanizma ile ortaya çıkan organ reddi de söz konusudur.

- ❑ Dokuların uyuşmazlığını önlemek için hayvanlara insan genetik materyalinin aktarılması ile bu sorunun önüne geçileceği tahmin edilmektedir.
- ❑ Ayrıca bağışıklık sistemi tarafından organların reddedilmesini önlemek için reddetmeyi sağlayan genin inaktif kopyalarının transgenik hayvanlarda üretilmesi başarılmıştır .
- ❑ Hayvan organlarının kullanılmasında en büyük risk, hayvanlarda bulunan bulaşıcı hastalıkların nakledilen organlar vasıtasıyla insanlara bulaşmasıdır.
- ❑ Retroviruslerin kültüre alınan insan hücrelerini in vitro koşullarda enfekte ettiği gözlenmiştir
- ❑ 1999 yılında 160 kişiye domuz hücreleri verilmiştir. Domuzlara ait kalp kapakçıkları kalp hastalarında yoğun bir şekilde kullanılmaktadır.