



Yeni Nesil Genom Düzenleme Teknikleri: Bahçe Bitkilerinde Kullanımları

Çağlar KAYA¹

¹Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü



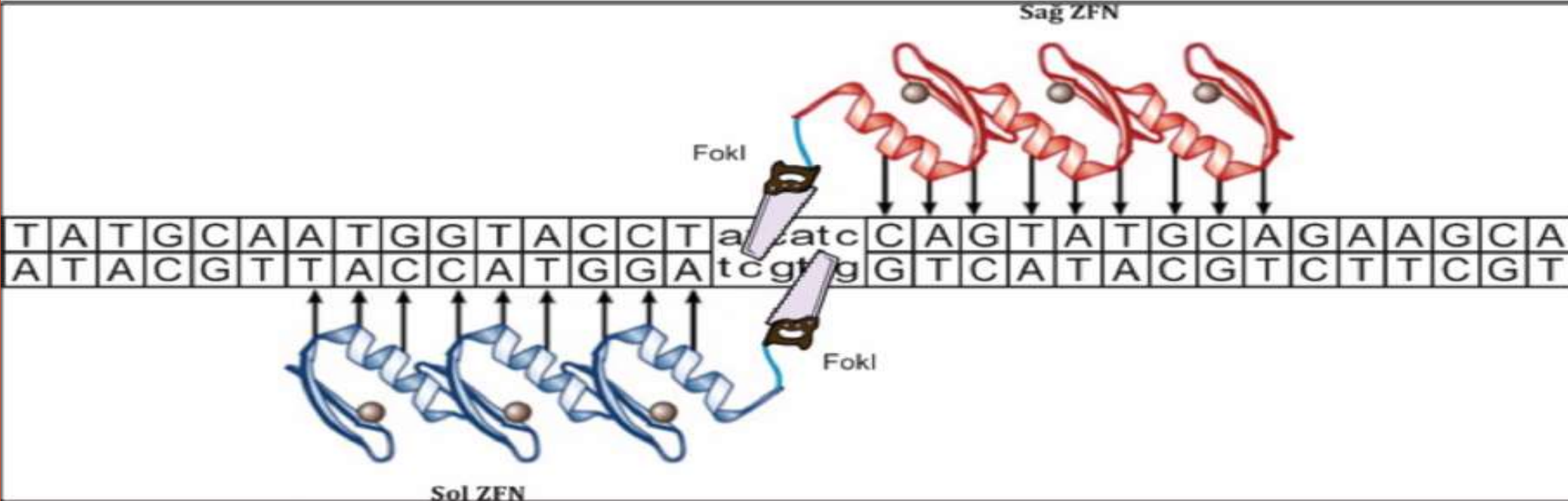
ÖZET

Ulusal ve küresel alanda sürdürülebilir gıda üretiminin sağlanması, küresel iklim değişiklikleri nedeniyle meydana gelebilecek çeşitli stres faktörlerinin ve büyüme ve gelişmeyi olumsuz yönde sınırlandıran diğer faktörlerin etkisi altında canlılığını devam ettirebilen bitki tür ve çeşitlerinin belirlenmesi, mevcutlarının korunması ve geliştirilmesine bağlıdır. Küresel iklim değişikliklerinin bir sonucu olarak ortaya çıkabilen çeşitli stres faktörlerine dayanıklı yeni bitki çeşitlerinin geliştirilmesi önem arz etmektedir. Bu noktada modern biyoteknolojik yöntemlerin bitki ıslahı alanında kullanımlarına ihtiyaç duyulmaktadır. Bu inovatif yaklaşımlardan birisi de yenil nesil genom düzenleme teknikleridir. Yeni nesil genom düzenleme tekniklerinden olan TALEN, ZFN ve CRISPR’lar canlı organizmaların genetik bilgi deposu olan DNA molekülünde hedeflenen bölgeye bağlanabilmeleri sayesinde genomda istenilen düzenlemeleri yapmaya imkan sağlayan yeni nesil genom düzenleme teknikleridir. Bu tekniklerin kullanımları sayesinde hedef genler genomdan kesilerek veya mutasyona uğratarak susturulabilmektedir. Buna ek olarak genlerde arzu edilen nükleotidlerin değiştirilmesi de mümkün olabilmektedir. Geliştirilen yeni nesil genom düzenleme metotları muadil metotlara göre daha kolay, daha etkin, ucuz ve hızlıdır. Bu çalışmada yeni nesil genom düzenleme tekniklerinin çalışma mekanizmaları, bahçe bitkilerinde kullanım alanları ve bu teknikler kullanılarak bitki ıslahı, moleküler genetik ve genetik mühendisliği alanlarında yapılmış olan örnek çalışmalara yer verilerek ilgili tekniklerin çalışma prensipleri genel bir çerçevede değerlendirilmiştir. Sonuç olarak, yeni nesil genom düzenleme tekniklerinin yakın tarihli bir moleküler metot oldukları göz önüne alındığında oldukça yüksek bir geliştirilme potansiyeline sahip olması ve bitki biyoteknolojisi alanında oldukça geniş bir kullanım alanına sahip olduğu aşikardır. ZFN, TALEN ve CRISPR teknikleri kullanılarak elde edilen ürünlerin, genetiği değiştirilmiş organizmalardan farkının idrak edilip, güvenilirliklerinin onanması ile, tüketici grupları tarafından kabul göreceği ve bu sayede tüketim miktarlarında ivme kazanılacağı öngörülmektedir. Bu çalışmada daha verimli daha kaliteli ve çevresel faktörlere karşı dayanıklı bahçe bitkileri ürünlerinin geliştirilmesinde kullanılabilecek yeni nesil genom düzenleme teknikleri tanıtılmıştır. Çalışma, konuya ilişkin yapılmış ve yapılacak olan ileriki araştırmaları ve uygulamaları bir adım daha ileriye taşıyarak, sonraki çalışmalar için bir referans teşkil edebilecektir.

GİRİŞ

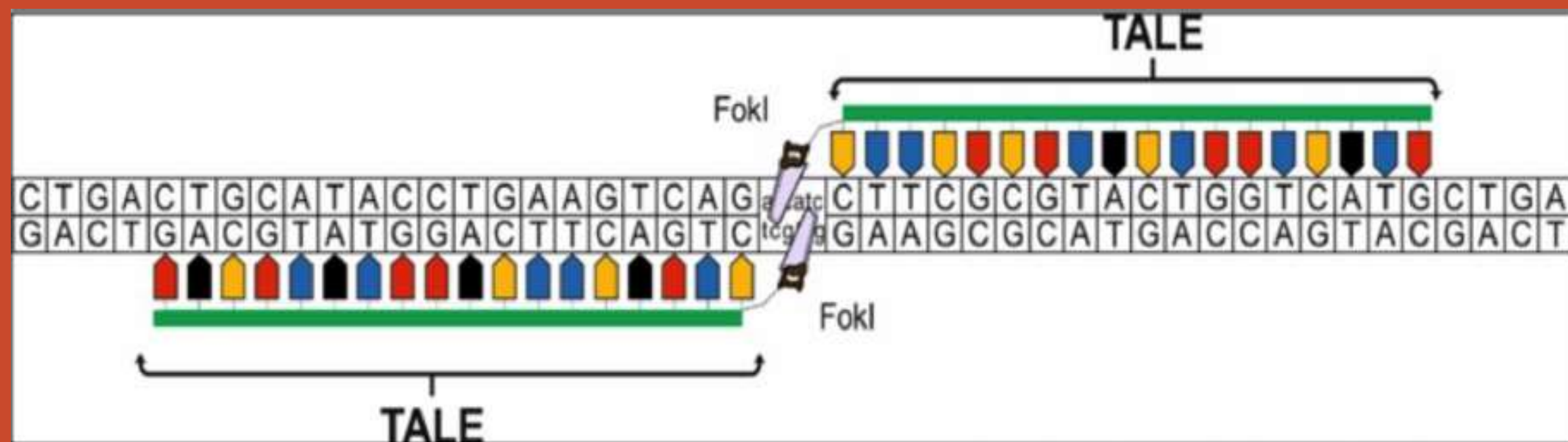
Küresel iklim değişiklikleri nedeniyle meydana gelebilecek çeşitli stres faktörlerinin ve büyüme ve gelişmeyi olumsuz yönde sınırlandıran diğer faktörlerin etkisi altında canlılığını devam ettirebilen bitki tür ve çeşitlerinin belirlenmesi, mevcutlarının korunması ve geliştirilmesine bağlıdır. Küresel iklim değişikliklerinin bir sonucu olarak ortaya çıkabilen çeşitli stres faktörlerine dayanıklı yeni bitki çeşitlerinin geliştirilmesi önem arz etmektedir. Bu noktada modern biyoteknolojik yöntemlerin bitki ıslahı alanında kullanımlarına ihtiyaç duyulmaktadır. Bu noktada transgenik olmayan canlıların geliştirilmesinde genom düzenleme teknikleri inovatif bir yaklaşım olarak ortaya çıkmıştır. Yakın geçmişte, ZFN, TALEN ve CRISPR/Cas9 sistemlerinin canlı organizma genomlarında, hedeflenen bölgenin değiştirilmesinde uygulanabilir yöntemler olduğu kanıtlanarak bitki ve hayvanlarda kullanılmaya başlanmıştır. Genom düzenlemenin ilk temelleri 1991 yılında ZFN’lerin keşfiyle başlayıp, TALEN teknolojisi buluşu bunu takip ederken, son bir kaç yılda da yerini daha kolay uygulanabilen ve maliyeti daha düşük olan CRISPR/Cas9 yöntemine bırakmıştır. CRISPR yöntemi biyoteknoloji ve bahçe bitkileri alanında adeta yeni bir çığır açarak bu yöntem araştırmacıların yeni gözdesi halini almıştır. Bu tekniklerde kullanılan dizi spesifik nükleazların ortak özelliği genomda belirlenmiş bir yerden bölgeye özel DNA çift zincir kırıkları (DSB) oluşturduktan sonra homolog rekombinasyon (HDR) veya homolog olmayan rekombinasyon (NHEJ) yöntemlerinden biriyle çift zincir kırıkları tamir edilerek genom değişimini meydana getirebiliyor olmalarıdır (Ruan ve ark., 2017).

ZFN Yapısı ve Mekanizması



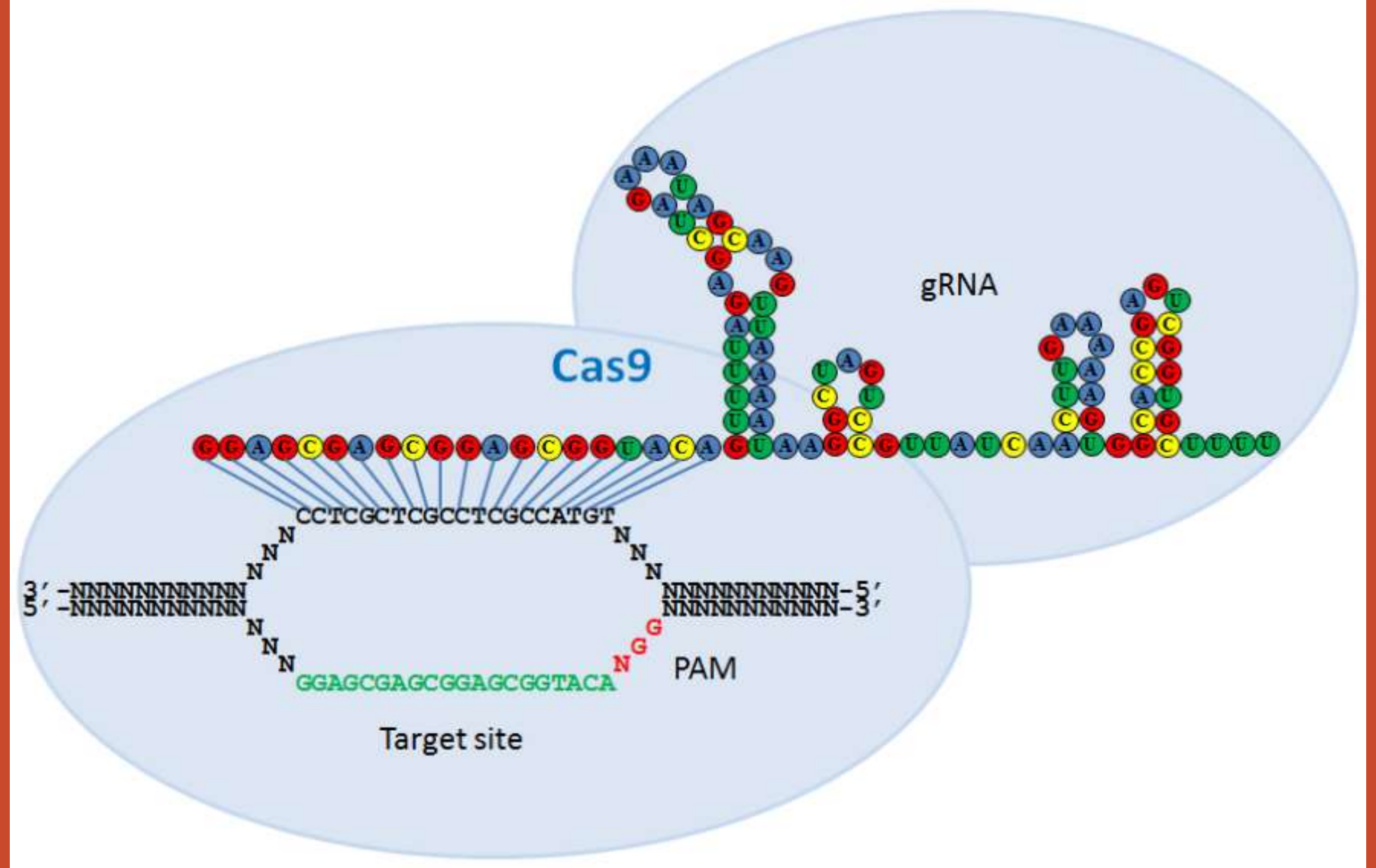
Şekil 1. ZFN’nin DNA’yı kesmesi: Üç ya da daha fazla zinc finger birimi dizi halindedir ve her ayrı zinc finger üç spesifik nükleotidi tanıır. Böylelikle 18-24 bp kadar bir tanıma bölgesi oluşturulabilir (Akbadak ve ark. 2017).

TALEN Yapısı ve Mekanizması



Şekil 2. TALEN’lerin DNA’yı kesmesi: TALEN’ler genomda arzu edilen hedef bölgeyi kesmek için alt ve üst ipliklere bağlanacak şekilde tasarlanırlar. TALE’lerin alt ve üst ipliklere bağlanması sonucu dimerize olan FokI, DNA’ yı iki bağlanma bölgesi arasında kalan spacer (12-20 bp) bölgesinden keser.

CRISPR/CAS9 Yapısı ve Mekanizması



Şekil 3. (Cas 9) – RNA (SgRNA) – DNA (genomik DNA) kompleksi oluşturmalarıyla hedef bölgede çift iplik kesikleri meydana gelir (Fichtner ve ark. 2014; Schaeffer ve ark. 2015). Hedef bölgenin tanınması ve Cas9/sgRNA kompleksinin DNA üzerinde kesim yapabilmesi için tek ön koşul **Hedef Bölgenin 3’ ucunda PAM (Protospacer adjacent/bitişik motif) dizisi** (Gasiunas ve ark. 2012).

Tablo 1. CRISPR Sistemi Kullanılarak Modifiye Edilmiş Bazı Bahçe Bitkileri Ürünleri

Ürün Adı	Referanslar
Domates	(Ito ve ark. 2015)
Asma	(Wang ve ark. 2016)
Elma	(Nishitani ve ark. 2016)
Limon	(Svitashev ve ark. 2016)
Hıyar	(Chandrasekaran ve ark. 2016)

SONUÇLAR

- Günümüzde, mevcut geleneksel ıslah yöntemleriyle artan dünya nüfusunu beslemeye yetecek kadar tarımsal ürünün elde edilmesi oldukça güç bir hal almıştır. Bunun yanı sıra, gen aktarımı yapılan iyileştirmeler sonucunda elde edilen ürünlerin tüketimleri noktasında tüketici gruplarının endişeleri de bütünüyle giderilememiştir.
- Yeni nesil genom düzenleme tekniklerinin yüksek bir geliştirilme kapasitesine ve ıslah alanında da oldukça geniş bir yenilik potansiyeline sahip oldukları aşikardır. Bu tekniklerle elde edilen bitkilerden elde edilen ürünlerin, genetiği değiştirilmiş organizmalar arasındaki (GDO) farkın anlaşılıp güvenilirliklerinin onaylanmasıyla, tüketiciler tarafından kabul göreceği, akıllarda herhangi bir soru işareti kalmayacak şekilde tüketimlerinin önünün açılacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Akbadak, M.A., Kontbay, K., 2017. Yeni Nesil Genom Düzenleme Teknikleri: ZFN, TALEN, CRISPR’lar ve Bitkilerde Kullanımı. Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi, 26(1), 111–111.
- Chandrasekaran J., Brumin M., Wolf D., Leibman D., Klap C., Pearlsman M., Sherman A., Arazi T. and Gal-On A., 2016. Development of broad virus resistance in non transgenic cucumber using CRISPR/Cas9 technology. Molecular plant pathology, 17.7 (2016): 1140-1153
- Gasiunas, G. (2012). DNA interference mechanism in Type II CRISPR/Cas systems.
- Ito Y., Nishizawa-Yokoi A., Endo M., Mikami M. and Toki S. 2015. CRISPR/Cas9-mediated mutagenesis of the RIN locus that regulates tomato fruit ripening. Biochemical and Biophysical Research Communications, 467(1):76-82
- Jiang W.Z., Brueggeman A.J., Horken K.M., Plucinak T.M. and Weeks D.P., 2014. Successful Transient Expression of Cas9 and Single Guide RNA Genes in Chlamydomonas reinhardtii. Eukaryotic Cell, 13(11):1465- 1469
- Nishitani C., Hirai N., Komori S., Wada M., Okada K., Osakabe K. Yamamoto T. and Osakabe Y., 2016. Efficient Genome Editing in Apple Using a CRISPR/Cas9 system. Scientific Reports 6, Article number: 31481 (DOI: 10.1038/srep31481)
- Ruan, J., Xu, J., Chen-Tsai, R. Y., & Li, K. (2017). Genome editing in livestock: Are we ready for a revolution in animal breeding industry?. *Transgenic research*, 26(6), 715-726.
- Svitashev S., Schwartz C., Lenderts B., Young J.K. and Cigan A.M., 2016. Genome editing in maize directed by CRISPRCas9 ribonucleoprotein complexes. Nature Communications, 7, Article number: 13274 (DOI: 10.1038/ncomms13274)
- Wang Y., Liu X.J., Ren C., Zhong G.Y., Yang L., Li S.H. and Liang Z., 2016. Identification of genomic sites for CRISPR/Cas9-based genome editing in the Vitis vinifera genome. BMC Plant Biology, 16:96 (DOI: 10.1186/s12870-016-0787-3)