



MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ DERGİSİ  
“MAKÜ Sag. Bil. Enst. Derg.”  
<http://edergi.mehmetakif.edu.tr/index.php/sabed/index>



## Rekombinant DNA Teknolojisi ve Veteriner İlaç Geliştirmede Kullanımı

### *Recombinant DNA Technology and Use in Veterinary Drug Development*

Levent Altıntaş<sup>1</sup>, Hakan Enver<sup>1</sup>, \*Hidayet Tutun<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı/  
Dışkapı/ANKARA/TÜRKİYE.

<sup>2</sup>Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı /İstiklal  
Yerleşkesi/BURDUR/TÜRKİYE.

**Abstract:** Gene underling molecular biology technology is a product that can be isolated and replicated. Isolation and duplication of gen is accomplished by inserting the gene into vector copied in a living cell or into DNA molecule and by cloning. A new DNA molecule is formed by combining the DNAs having different sources. So, cut of DNA molecule not being able to be spontaneously in nature, generally obtained from different a biological species by genetic engineering technology and binding of the DNA fragments is defined as "recombinant DNA technology"; the products produced in this process are defined as "recombinant DNA". The fields of use of recombinant technology are very broad. The use of this technology is increasing day by day in drug development and production. In this review, it was intended to give a short information about the use of recombinant DNA technology in the field of veterinary medicine.

**Öz:** Moleküler biyoloji teknolojisinin temelini oluşturan gen; izole edilebilen ve çoğaltılabilen bir üründür. Gen izolasyonu ve çoğaltılması; canlı bir hücrede kopyalanabilen vektör veya bir DNA molekülünün içine ilgili genin yerleştirilmesi ve klonlanması ile gerçekleştirilir. Farklı kaynaklı bu iki DNA birleştirilerek, sonuçta yeni bir DNA molekülü oluşturulmuş olur. İşte, doğada kendiliğinden olması mümkün olmayan, genellikle farklı bir biyolojik türden elde edilen DNA moleküllerinin, genetik mühendislik teknolojisiyle kesilmesi ve elde edilen bu farklı DNA parçalarının birleştirilmesi işlemine "rekombinant DNA teknolojisi"; bu işlem sonucunda üretilmiş ürüne de "rekombinant DNA" ismi verilir. Rekombinant teknolojinin kullanım alanları çok geniştir. Bu teknolojinin kullanımı ilaç geliştirme ve üretiminde her geçen gün artmaktadır. Hazırlanan bu derlemede de veteriner ilaç alanında rekombinant DNA teknolojisinin kullanımı hakkında kısaca bilgi verilmesi amaçlanmıştır.

**Key words:** Gene, Recombinant DNA, Drug.

**Yazışma Adresi:** Yrd. Doç. Dr. Hidayet Tutun, Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı İstiklal Yerleşkesi/BURDUR  
**E-posta:** hidayettutun@gmail.com,  
**Tel:** +90 554 266 70 35.

**Anahtar sözcükler:** Gen, Rekombinant DNA, İlaç.

**Geliş Tarihi:** 11.08.2017

**Kabul Tarihi:** 28.11.2017

**Kaynak göstermek için:** Altıntaş L, Enver H, Tutun H. 2017. Rekombinant DNA Teknolojisi ve Veteriner İlaç Geliştirme Kullanımı MAKÜ Sag. Bil. Enst. Derg. 5(2): 193-204.

## **Giriş**

Birçok moleküler biyoloji teknolojisinde köşe taşı, “gen”dir. Gen çalışmalarını kolaylaştırmak için izole edilebilir ve çoğaltılabilir. Bir genin izolasyonu ve çoğaltılmasının bir yöntemi, canlı bir hücrede kopyalanabilen vektör veya bir araç vazifesi gören diğer bir DNA molekülünün içine ilgili geni yerleştirerek klonlamaktır. Farklı orijinlerden bu iki DNA kombine edildiğinde, sonuç yeni bir DNA molekülünün oluşmasıdır. Crossing over (kromozomlarda görülen parça değişimi) gibi genetik süreçler teknik olarak rekombinant DNA oluşturmasına rağmen, farklı biyolojik kaynaklardan elde edilen segmentlere katılımıyla oluşturulan DNA molekülleri genellikle bu iş için kullanılır. Rekombinant DNA molekülü ya prokaryotik ya da ökaryotik konakçı bir hücreye yerleştirilir. Konakçı hücre sonra replike olur ve onun yabancı DNA parçası ile vektör de replike olur. Yabancı DNA böylece çoğaltılmış olur ve sonrasında diğer analizler için çoğaltılmış DNA’lar saflaştırılır (Mulis, 1990). Günümüzde modern biyoloji alanında ilk akla gelen tanımlardan biri olan Rekombinant DNA veya Rekombinant DNA teknolojisi; genellikle farklı biyolojik türlerden elde edilen DNA moleküllerinin, genetik mühendislik aracılığıyla kesilmesi ve elde edilen bu farklı biyolojik kaynaklı DNA parçalarının yeniden birleştirilmesi işlemine ve bu işlem sonucunda da üretilmiş olan yeni DNA molekülüne verilen bir isimdir (Katartaş, 2011). Bu işlem sonucunda üretilmiş olan DNA molekülüne de “rekombinant DNA” ismi verilir ve kısaca “rDNA” olarak ifade edilir (Temizkan ve Arda, 2004). Rekombinant DNA teknolojisi; hedeflenen bir geni ifade etmeyen (eksprese etmeyen) bir hücrenin, o hedeflenen geni eksprese edebilmesini veya hedeflenen bir genin büyük miktarlarda üretimini amaçlar (Soydemir ve Aksoy, 2017). Bu teknoloji birçok alanda kullanılmaktadır. Son yıllarda ilaç geliştirilmesi ve üretiminde de bu yöntemden yararlanılmaya başlanmıştır. Hazırlanan bu derlemede; veteriner ilaç sektöründe rekombinant DNA teknolojisinin bazı kullanım alanları hakkında kısaca bilgi verilmesi amaçlanmıştır.

## **Tarihçe**

Rekombinant DNA fikri ilk olarak Stanford Tıp Üniversitesi Biyokimya Anabilim Dalı’nda Prof.Dr. Dale Kaiser’in lisansüstü öğrencisi Peter Lobban tarafından önerilmiştir. Rekombinant DNA’nın oluşturulması ve rekombinant DNA’nın hücre içinde replikasyonunu belirten ilk yayın 1972 ve 1973 yıllarında yayınlanmıştır (Jankson ve ark., 1972; Katartaş, 2011). Rekombinant DNA teknolojisi kullanılarak geliştirilen genetiği değiştirilmiş (GD) ilk

DNA molekülü ise; 1972 yılında Paul Berg tarafından oluşturulmuştur (Hughes, 2001). Günümüzde bilinen ilk genetiği değiştirilmiş organizma (GDO) olarak, 1973 yılında üretilen bir bakteri kabul edilir. Bu çalışmada; orjinalinde bir *E. coli* olan bir bakteriye, *Salmonella* genleri eklenerek, bakterinin daha önce sahip olmadığı yeni özellikleri geliştirebilmesi sağlanmıştır (Bakırcı, 2012). Rekombinant DNA teknolojisinin öneminin anlaşılması ile bu teknolojiyi kullanan şirketler (Genentec, Eli Lilly and Company) de kurulmuştur. Çalışmalar sonucunda, ilk olarak 1978 yılında *E. coli* bakterisi üzerinde yapılan bir genetik manipülasyon ile insülin üretebilen yeni bir türün sentezlendiği açıklanmıştır (Ladisich ve Kohlmann, 1992). Bunu takiben bitkiler üzerinde de çalışmalar yapılmaya başlanmış ve 1983 yılında ilk GD bitki oluşturulmuştur (Uzun, 2002). Deney hayvanları üzerinde yapılan çalışmalarda ise ilk kez fareler kullanılmış; ilerleyen yıllarda çalışmalar tavşan, koyun, keçi, domuz ve inek gibi memeli hayvanlara doğru yönelmiştir (Açıkgöz, 2011). Son on yılda ise bu alanda üretilen GD hayvanlar ticarileştirilmeye başlanmış ve 2009 yılında ilk ticari transgenik (genetiği değiştirilmiş) hayvan olarak bir keçi üretilmiştir. Bu transgenik keçiden Biotherapeutics firması tarafından kanın pıhtılaşmasını önleyen bir ürün olan ATryn GTC üretilmiştir. İnsan antitrombin genleri mikroenjeksiyon yöntemi kullanılarak keçi embriyolarının hücre çekirdeklerine aktarılmış ve keçi süt bezlerinden insana özgü antitrombin elde edilecek hale getirilmiştir. Ayrıca ATryn, genetiği değiştirilmiş hayvanlardan üretilen ilk ilaç olma özelliğini de taşır (Adigüzel ve ark., 2009; Açıkgöz, 2011). Yine aynı yıl Japon bilim adamları tarafından transgenik marmoset (maymun) üretilmiştir. Eşey hücre öncülerinin içine transgenleri yerleştirmiş ve bu genlerin hayvanların yavrularına geçtiği gözlenmiştir. Bu başarı, transgenik hayvanların insan hastalıkları ve olası tedavileri için bir çalışma modeli oluşturacağı umutlarını da yeşertmiştir (Kishi ve ark., 2014). 2010 yılında Hollanda’da ikinci ticari transgenik hayvan olan tavşan kullanılmaya başlanmıştır. Söz konusu transgenik tavşan sütünden geliştirilen ilaç “hereditary angioedema” adı verilen rahatsızlığına karşı başarı ile kullanılmaktadır (Van Doorn ve ark., 2005; Açıkgöz, 2011). Çin’de 2011 yılında bilim adamları insan genini süt ineklerine ekleyerek; ineklerde herhangi bir olumsuzluğa sebep olmadan, insan sütü ile aynı özelliğe sahip süt üretimini sağlamışlardır (Yang ve ark., 2011). Aynı yıl Pasifik somonundan (*Oncorhynchus tshawytscha*) ve yılan balığından (*Zoarcetes americanus*) genetik materyal alınarak, Atlantik somon’u (*Salmo salar*) üretilmiştir. Hatta bu ürünün Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından üretimine ve tüketiciye ulaştırılmasına 2015 yılında izin verilmiştir (Aerni, 2004; Naylor ve ark., 2005; Ledford, 2015).

### **Rekombinant DNA Teknolojisinin Başlıca Kullanım Alanları**

Canlı hücre veya organizmanın ve hücre içi mekanizma ile moleküler bileşenlerin kullanıldığı biyolojik süreçler, biyoteknolojinin en eski araçlarından. Hayvan, bitki veya mikroorganizma kaynaklı üretilen ve saflaştırılan spesifik proteinler çeşitli amaçlar için kullanılır. Bu alanda elde edilen en önemli ürünler; rekombinant DNA teknolojisi yardımıyla üretilen koruyucu aşılar (hepatit B gb.) ile rekombinant tedavi proteinleridir (büyüme hormonu, insülin gb.). Son yıllarda hayvancılık ve veteriner hekimlik alanında kullanılan biyoteknoloji özellikle üç temel başlık altında gelişim gösterir. Bunlar; hastalıkların erken teşhis ve tanısı ile tedavisi; hastalıklardan korunma (aşı) ve hayvanlarda performansın yükseltilmesi (süt, et, bal, yumurta gibi hayvansal ürün veriminin artırılması ile hastalıklara direnç gelişimi gb.) alanlarıdır (Yurdusev, 2002).

Belirtilen bu alanlardan hareketle günümüzde rekombinant DNA teknolojisi; birçok hastalığın (ailesel hiperkolesterolemi, orak hücre anemisi, talassemisi, kistik fibroz, müsküler distrofi gibi) moleküler temelinin anlaşılması ve tedavisinde; protein, farmasötik ürün, antibiyotik ve aşı üretiminde; tarım alanında verimin artırılması ve maliyetin düşürülmesinde; hava, toprak ve suda çevresel kirliliğin azaltılmasında; gıda katkı maddesi üretimi ve gıda kalitesinin artırılmasında; çeşitli hastalıklara yönelik gen tedavisinde ve biyolojik ürünlerin hızlı, güvenilir yollarla üretiminde kullanılır (Katartaş, 2011; Kiper, 2013; Ulutin, 2017).

Hastalıkların tanısında biyoteknolojik ürünlerin geliştirilmesi ile hayal bile edilemeyen bir seri tanıya yönelik birçok araç geliştirilmiştir; aynı zamanda var olan testlerin de hassasiyeti arttırılmıştır. Yine veteriner hekimlik alanında seleksiyon yöntemleri ile yapılan türlerin ıslahı çalışmaları, genetik yöntemler ile daha da hızlanacaktır (Açıkgöz, 2011; Bakırcı, 2012).

### **Rekombinant DNA Teknolojisi ile İlaç Geliştirilmesi**

Rekombinant DNA teknolojisi ile amaçlanan DNA'nın özel restriksiyon enzimleriyle (Hpa I, Hpa II, Eco RI, Hind III, Pst I, Bam HI, Hae III, Mbol, Not I, Sfi I, Taq I gibi) kesildikten sonra elde edilen bölgelerin taşıyıcı bir vektörün (bakteri plazmidleri gibi) içine yerleştirilmesidir. Eklenen bu molekül daha sonra bakteri hücrelerine aktararak, DNA molekülünün seri üretimi sağlanır. Böylece bakterilerin çoğaltılmasıyla istenilen DNA parçasının sınırsız sayıda üretimi de sağlanmış olur (Şahin, 2013; Ulutin, 2017). İlaç

geliştirmede uygulanan bu yöntem sırasıyla şu aşamalardan oluşur; DNA izolasyonu, elde edilen DNA'da istenilen gen bölgesinin belirlenmesi, genin çıkartılması, vektör DNA elde edilmesi, çıkartılan gen DNA ile vektör DNA'nın birleştirilmesi, uyumlu konak hücrelere Rekombinant DNA yerleştirilmesi, konakçı hücrelerden Rekombinant DNA replikasyonu ve ekspresyonu, mutant hücrelerden oluşan genlerin izolasyonudur (Şahin, 2013; Ulutin, 2017).

Aslında biyoteknoloji ürünü ilaçların geliştirilme süreci, geleneksel ilaçların geliştirilme sürecinden çok farklı değildir. İkisi arasındaki en önemli fark; biyoteknoloji ürünü ilaç geliştirmede etkin maddenin üretimi, biyoteknolojik yöntemlerle yapılmaktadır ve her aşamada çok ayrıntılı ve gelişmiş tekniklerle yapılan analitik işlemlere gereksinim duyulur (Şahin, 2013).

Günümüz farmatösik ürün pazarında, çok sayıda rekombinant ürün bulunur. Bu ürünlerden başlıcaları; büyüme faktörleri, eritropoietin, trombopoietin, platelet büyüme faktörleri, kemik morfojenleri, miyotropin; sitokinler (interferonlar, interlökinler, filgastrim, granülosit makrofaj-koloni uyarıcı faktör, rekombinant büyüme faktör, rekombinant insan insülin benzeri büyüme faktör, rekombinant insan platelet türevi büyüme faktör, miyeloid progenitör inhibitör faktör I, rekombinant fibroblast büyüme faktör gibi); hormonlar (insülin, glukogon, insan büyüme hormonu, tirotropin, folikül uyarıcı hormon, lüteinleştirici hormon, insan koriyonik gonadotropin); reseptörler (örneğin CD4); fibrinolitik ajanlar (örneğin doku plazminojen aktivatör ve streptokinaz); aşılar (örneğin malariya ve hepatit B'ye karşı); monoklonal antikorlar; koagülasyon proteinleri (faktör VIII ve IX gibi); protein C ve S; enzimler (DNaz, alteplaz, dornaz, imigluseraz, glukosereprosidaz gibi) ve hemoglobinin'dir. Bu ürünler içerisinde de özellikle rekombinant aşılar, büyüme faktörleri, antikorlar ve sitokinler ayrı bir yer tutmakta ve sayıları da her geçen gün artmaktadır (Steinberg ve Raso, 1998; Akbuğa, 2002; Atanasova ve Terziivanov, 2010; Şahin, 2013).

Aslında biyoteknolojik yöntemlerle rekombinant bakterilerden insülin üretilmesi, rekombinant teknolojinin ilaç sanayinde kullanımı için bir sıçrama noktası olarak kabul edilebilir. Bu sıçrama, transgenik hayvanlardan hormonların üretilmesi ile daha da ivme kazanmıştır. Günümüzde ise; daha başlangıç aşamasında diyebileceğimiz gen tedavisi, tedavi yöntemlerinin en son noktası olarak kabul edilir (Açıkgöz, 2011; Bakırcı, 2012).

### **Transgen protein**

Rekombinat protein üretiminde bakteriler, mayalar, transgenik bitkiler gibi birçok farklı sistem kullanılır. Transgenik protein üretim açısından karşılaştırıldığında transgenik hayvanlarda memeli hücre sistemlerinden birkaç kat daha fazla üretim yapılabilir. Bundan dolayıdır ki, transgenik hayvanlar protein üretimi için alternatif diğer bir sistemdir. Günümüzde transgenik hayvan kullanılarak üretilen transgenik proteinler milyonlarca insan için tedavi edici olarak kullanılır. Bu yöntemin kolay faydalanılabilirlik ve kontaminasyon riskinden uzak olması gibi önemli avantajları mevcuttur. Benzer şekilde hayvanlarda görülen hastalıklarda kullanılan proteinler de bu teknoloji yardımıyla üretilir. Moleküler teknoloji alanındaki ilerlemelere paralel olarak transgen teknolojisini kullanan şirketlerin ve rekombinant ilaçların sayısı da her geçen gün artmaktadır. Yakında bu teknoloji ile üretilen ilaçlar, ilaç sanayinde ve endüstrisinde daha büyük bir pazar payına sahip olacağı öngörülmektedir (Stryjewska ve ark., 2013).

### **Antikor üretimi**

**Rekombinant antikor:** Fonksiyonel antikorların bakteriyel ekspresyon alanındaki ve kodlanmış polipeptit fenotipleri kullanarak gen havuzundan gen seçme metodlarındaki gelişmeler antikor teknolojisindeki yeni bir atılımdır. Şimdilerde, istenilen antikor fragmentlerini ekspres eden konak hücreleri seçmek için antikor gen havuzları ile birlikte fajlar geniş şekilde kullanılır. Bu tip gen havuzları ya doğal kaynaklardan (insanın plazma hücrelerinden veya bağışık hayvanların dalaklarından) elde edilir ya da genetik mühendisleri tarafından sentezlenirler. Sonucusu saf kütüphaneler oluşturmak için kullanılmıştır ve bu kütüphaneler herhangi belirli bir antijen için kullanılabilir (Kanppik ve ark., 2000). Modern saf havuzlar genellikle genişler (1010 üyeden daha çok), sadece birkaç fonksiyonel olmayan üye içerirler, *E. coli*'de (kültürün litresinde saflaştırılmış materyalin 1 mg'dan daha fazla) iyi bir şekilde eksprese edilen antikorların üretimini sağlarlar ve gerekirse başka benzer yapıların oluşturulmasına izin verecek tasarımlar da yapılabilir. Faz görüntüleme bu kütüphanelerden istenilen antikorları seçmek için sıklıkla kullanılır (Hoogenboom ve ark., 1998; Hoet ve ark., 2005).

**Rekombinant monoklonal antikorlar:** Rekombinant monoklonal antikorların üretimi faj/mantar görüntüleme veya klonlama gibi teknolojileri içerir. Rekombinant antikorların üretimi virüs veya mantarların antikor üretmek için kullanımını gerektirir. İstenilen özgünlüklere sahip antikordardan hafif farklı aminoasit dizilimine sahip antikorların havuzunu

oluşturmak için immunglobulin gen seğmentlerinin hızlı klonlamasına dayanan bu teknolojiler seçilebilir (Siegel, 2002). Faj antikor kütüphaneleri ilk kez George Pieczenik tarafından keşfedilen faj antijen kütüphanelerinin hafif değışmiş halidir. Bu teknikler antikorların antijenleri tanınması, farklı çevre koşullarında dayanıklılıkları, tedavisel etkinlikleri ve tanısal uygulamalarda teşhis yeteneklerini yükseltmek için kullanılabilir (Schmitz ve ark., 2000).

### **Aşı üretimi**

Hayvanların hastalıklardan korunması ve uygun koşullarda yetiştirilmeleri; hem hayvanlardan elde edilen ürünlerin kalitesinin geliştirilmesi, hem de insanların zoonoz hastalıklardan korunmasına katkı sağlar. Ülkemizin gerek sosyo-ekonomik, gerekse coğrafi yapısı birçok egzotik hastalığın (şap, mavi dil gb.) komşu ülkelerden rahatlıkla ülkemize girebilmesine olanak sağlar. Hayvanlarda görülen ve insanlara da geçebilen bu bulaşıcı ve salgın hastalıklar (antraks, brusella gb.) insan sağlığı ve ülke ekonomisi rüzerinde de olumsuz etkiye neden olur. Bu noktada öncelikle hayvandan hayvana ve hayvandan insana bulaşan (zoonoz) hastalıklardan korunabilmek için etkin bir aşı programı geliştirilmelidir. Aynı zamanda, aşuların üretimine yönelik etkili yöntemlerin geliştirilmesi; aşılama işleminde etkinliğin artırılarak, aşı uygulanmasının kolaylaştırılması hastalıklardan korunmada etkinliği arttıracaktır (Tubitak, 2004).

*In vitro* olarak spesifik DNA yada RNA moleküllerinin tespitine yönelik olarak geliştirilen moleküler tanı yöntemleri, immünolojik tanıya paralel şekilde veteriner hekimlik ve hayvancılık alanında da kullanılır. Hastalıklara karşı aşılama ile bağışıklık oluşturmak için rekombinant aşular geliştirilerek, uygulamaya girmiştir. Hayvanlarda bağışıklık oluşturmak için kullanılan “koruyucu aşı antijenleri” rekombinant proteinler olduğu gibi, rekombinant DNA teknolojisi ile patojen özelliğı kaybettirilmiş (sığır herpes virüsü BHV-1, brucella gibi) “marker aşı” veya “antijen taşıyıcı vektör” olarak kullanılan mikroorganizmalar (diğer türlerden aktarılan genlerin kodladığı proteinleri flagellasında taşıyan rekombinant salmonella gb.) da olabilir (Yurdusev, 2002).

İnsan ve hayvan hastalıkları için aşular geleneksel ve biyoteknolojik yöntemler ile hazırlanabilir (Lasky ve Obijeski, 1984). Geleneksel yöntemler ile canlı ve ölü aşı geliştirme araştırmaları son yıllarda statik hale gelmiştir. Klasik yöntemlere kıyasla fazla miktarlarda aşı üretilebilmesi, prokaryotik ve ökaryotik organizmaların üretimde kullanılması, saf ve güvenli

ürün eldesi gibi birçok yönden avantajlı olan biyoteknolojik aşuların geliştirilmesi için daha yoğun bir çaba sarf edilmektedir (Lasky ve Obijeski, 1984; Cox, 2012).

İmmünoloji alanındaki gelişmeler ile moleküler düzeyde yeni teknolojilerin gelişmesi, aşı teknolojisine çok önemli katkılarda bulunmuştur. Günümüzde aşular sadece koruyucu amaçla değil, aynı zamanda enfeksiyonlara karşı tedavi amacıyla da kullanılmaya başlanmıştır. Bununla birlikte aşı uygulamada geliştirilebilecek olan yeni alanlara yönelik çalışmalar da oldukça yoğunlaşmıştır. Bu alanda son zamanlarda gelişen yeni yaklaşımda; aşı olarak mikroorganizmanın tümü yerine, spesifik immün yanıt oluşturan yapının canlıya uygulanmasıdır. Diğer taraftan alerji, otoimmün ve metabolik hastalıklara karşı da aşı geliştirme çalışmaları hız kazanmıştır (Şahin, 2013).

**Rekombinant mutant aşular:** Mikroorganizmaların komponent, antijenik determinant ve bazı önemli faktörleri kodlayan genlerinin, genomlarından ayırt edildikten sonra; mutant bir mikroorganizmaya ait genoma entegre edilmeleriyle, aşı halinde elde edilirler (örneğin vaccinia virus'a ait genoma; HSV gD, HBsAg, kuduz glikoprotein, influenza HA geni entegre edilmesi). Bu yöntem aracılığında sadece bir gen entegre edilebileceği gibi, birden fazla gen entegrasyonu ile kombine aşuların hazırlanması da mümkündür (Arda, 2000; Altınsoy, 2007).

**Rekombinant ürünü aşular:** Bu yöntemde; mikroorganizmaya ait antijenik yapıların mikroorganizmadan ayrıldıktan sonra; maya veya bakteri gibi farklı bir alıcı hücreye transferi ve daha sonra bu ortamda gen ürünü antijenik protein ekspresyonunun sağlanması ile bu hücrelerde oluşturulan ve elde edilen proteinlerin deneme hayvanlarına uygulanarak, bunlara karşı bağışıklık kazandırılması hedeflenmiştir. Bu yöntem aracılığında bazı bakteri, virüs ve parazitlere karşı aşular üretilmiş ve kullanıma girmiştir (Arda, 2000; Altınsoy, 2007).

**Rekombinant antijen aşular:** Teorik bir bilgi olarak herhangi bir protein, rekombinant DNA teknolojisi yardımı ile bakteri, maya ya da memeli hücrelerde klonlanabilir. Günümüzde bakteri, virüs ya da protozoonlardan yüzey antijeni kodlayan pekçok gen; bakteri, maya, memeli ya da böcek hücrelerinde başarıyla klonlanmış ve aşı geliştirmek amacıyla kullanılmıştır. Bu şekilde hazırlanan ilk rekombinant antijen aşı; Hepatit B aşısıdır. Hepatit B aşısı; majör yüzey antijeni geninin maya hücrelerinde klonlanması ile geliştirilmiştir. Günümüzde ise özellikle AIDS için birkaç rekombinant aşı çalışmasının yanısıra *E. coli* enterotoksini, Epstein-Barr virüs'ün membran glikoprotein antijenlerini içeren rekombinant aşular ile kolera toksininin B alt birimi üzerine hayvan modellerinde çalışmalar devam etmektedir (Şahin, 2013).



**Rekombinant vektör aşular:** Vektör kullanımı, yeni aşı geliştirmek amacıyla tercih edilen stratejiler arasında önemli bir yere sahiptir. Bu yöntem ile antijenleri kodlayan genleri, atenüe (zayıflatılmış) bir virüse ya da bakteriye sokmak olasıdır. Aslında burada vektör; genomuna, bir patojene ait genlerin yerleştirilmiş olduğu atenüe bir mikroorganizmadır. Konak hücrede bu vektör çoğalırken; bünyesinde taşıdığı patojene ait gen ürününü de konak ile temas ettirerek, konağın immun sisteminin aktifleşmesini sağlar. Şu ana kadar deneysel olarak, yirmiden fazla DNA ve RNA virüsü (poxvirüs, poliovirüs, ade-novirüs gibi) ile bakteriler (BCG, listeria, salmonella gibi) vektör olarak kullanılmıştır (Şahin, 2013).

### **Gen terapisinde rekombinant DNA vektörü uygulamaları**

Rekombinant virus, rekombinant DNA teknolojisi kullanılarak DNA parçalarının rekombinasyonu sonucu elde edilen virusdur. Bunlar viral aşuların yada gen terapi vektörlerinin üretiminde kullanılır (Gavanji, 2013; Ulutin, 2017). Gen tedavisinde kullanılan vektörler viral vektörler (adenoviruslar, retroviruslar gibi) ve viral olmayan vektörler (çıplak DNA, lipozom paketleri aracılığında, protein-DNA bileşenleri, enjekte edilebilir mikroskobik yağlı globüller, polikasyonlar ve yapay kromozomlar) diye ikiye ayrılır ve bu vektörler de iki farklı yoldan organizmaya verilir (Akbuğa, 2002; Ulutin, 2017). Bu yollar; *ex vivo* (organizma dışına alınan mutant hücrenin düzeltilerek, yeniden organizmaya verilmesi) ve *in vivo* (dışarıda hazırlanan normal geni taşıyan vektörün organizmaya verilmesi) yoldur. *Ex vivo* yöntemi ciddi kombine immun yetmezlik hastalığı (SCID), Dushen musküler distrofi hastalığı (DMD), ailesel hiperkolesterolemi (LDLR) durumlarında tercih edilirken; *in vivo* yöntem ise kistik fibröz durumunda tercih edilir (Ulutin, 2017).

**Viral vektörler:** Tüm viruslar konağa bağlanır ve kendi genetik materyallerini replikasyon siklusunun bir parçası olarak konak hücreye aktarır. Böylece, viral DNA ortadan kaldırılır ve virus terapötik DNA'yı ileten bir araç olarak kullanılır. Retrovirus, adenovirus, lentivirus, herpes simplex virus, vaccina, poxvirus gibi çok sayıda virus gen tedavisinde kullanılır (Gavanji, 2013; Ulutin, 2017).

**Viral olmayan vektörler:** Bunun için birkaç farklı yol kullanılabilir. Bunlar; plazmid içerisine yerleştirilmiş olan hedef DNA parçacıklarının çıplak DNA şeklinde verilmesi; hedef DNA parçacıklarının lipozomlar içerisine yerleştirilmesi sonucu elde edilen bu lipozomal DNA paketlerinin verilmesi; hücre yüzey reseptörlerine bağlanan protein ve DNA bileşenlerinin, protein-DNA bileşeni formatında verilmesi ve yapay kromozomlar

klullanılarak verilmesidir. Ayrıca enjekte edilebilir mikroskobik yağlı globüller ve polikasyonlar da bu amaç için kullanılabilir (Akbuğa, 2002; Ulutin, 2017).

### **Sonuç**

Biyoteknolojik ilaçlar geleneksel ilaçlara göre kalite ve güvenlik bakımından daha yüksek standartlara sahiptirler ve yakın gelecekte geleneksel ilaç tedavisinin yerini biyoteknolojik ilaçların alması beklenmektedir. Her geçen gün biyoteknoloji şirketleri ve biyoteknolojik ilaçların sayısı artmaktadır. Ancak bu ürünler genellikle insan hastalıklarının tedavisinde kullanılır. Günümüzde hayvan hastalıklarının tedavisi için de hazırlanmış çok az sayıda rekombinant ilaç bulunur. Yakın gelecekte kullanılan ilaç sayısının daha da artacağı aşikârdır. Hayvan hastalıklarında veteriner hekimin en önemli tedavisel aracı olan aşının, üretim ve geliştirme çalışmaları mutlaka desteklenmelidir. Gelişen bilim ve teknoloji dünyasına ayak uydurmak için veteriner hekim yetiştiren üniversitelerdeki eğitim programlarının da baştan düzenlenmesi gereklidir. Özellikle moleküler biyoloji ve modern biyoteknoloji dersleri müfredat içerisine eklenebilir. Ayrıca akademik camianın bu konular üzerine yapılan çalışmaları da teşvik edilmelidir. Veteriner alanında modern biyoteknoloji AR-GE yapılanmalarının ilk etapta araştırma olanakları iyi olan bazı birimlere (Üniversiteler ve Araştırma Enstitüleri gibi) verilmesi yerinde olacaktır. Bununla birlikte sanayi, üniversiteler ve TÜBİTAK gibi araştırma kurumlarının iş birliği daha da artırılmalıdır. Ulusal çalışmaların yanısıra mutlaka uluslararası projeler de yapılarak, hem alt yapı olanakları hem de yetkin araştırmacı kadrosu oluşturulmalıdır.

**NOT:** Bu derleme, “Veteriner İlaç Alanında Rekombinant DNA Teknolojisinin Kullanımı” başlıklı Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı Tezsiz Yüksek Lisans Dönem Projesi’nden türetilmiştir.

### **Kaynaklar**

1. Açıkgoz N. 2011. İlk Ticari transgenik hayvan: keçi, Erişim: <http://agrobiyoteknoloji.blogcu.com/ilk-ticari-transgenik-hayvan-keci/10569623>. (Erişim tarihi: 20.11.2017).
2. Adiguzel C, Iqbal O, Demir M, et al. 2009. European community and US-FDA approval of recombinant human antithrombin produced in genetically altered goats. *Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis*, 15(6): 645-651.

3. Aerni P. 2004. Risk, regulation and innovation: The case of aquaculture and transgenic fish. *Aquatic Sciences-Research across Boundaries*, 66(3): 327-341.
4. Bakırcı ÇM. 2012. Genetiği değiştirilmiş organizmalar (GDO) nedir? Faydaları ve zararları nelerdir? GDO hakkında bilimsel gerçekler. <http://evrimagaci.org/article/tr/genetigi-degistirilmis-organizmalar-gdo-nedir-faydaları-ve-zararları-nelerdir-gdo-hakkında-bilimsel-gerçekler> (Erişim Tarihi: 20.11.2017).
5. Akbuğa J. 2002. Farmasötik biyoteknoloji ürünleri. *Meslek İçi Sürekli Eğitim Dergisi*. S: 54-62. Erişim: <http://e-kutuphane.teb.org.tr/pdf/mised/mayis02/10.pdf> (Erişim tarihi: 20.11.2017).
6. Altınsoy N. 2007. Aşı üretim teknikleri ve kontrolü. Erişim: <https://nihanalтинsoy.tr.gg/A%26%23351%3B%26%23305%3B--Ue-retim-Teknik-leri-ve-Kontrol.ue..htm> (Erişim tarihi: 20.11.2017).
7. Arda M. 2000. Gen klonlanması (moleküler klonlama). Arda M, ed. *Temel Mikrobiyoloji; Genişletilmiş İkinci Baskı*. 2000. Medisan Yayınevi, Ankara. s. 50-150
8. Atanasova IV, Terziivanov D. 2010. Advanced molecular Therapies of the 21<sup>st</sup> century I. Recombinant drug products-proteins and vaccines. *J Clin Med*. 3(2): 9-18.
9. Cox MM. 2012. Recombinant protein vaccines produced in insect cells. *Vaccine*, 30(10): 1759-1766.
10. Gavanji S. 2013. Application of recombinant DNA technology-A review. *Applied Science Reports*. 2(2): 29-31.
11. Hannig G, Makrides S. 1998. Strategies for optimizing heterologous protein expression in escherichia coli. *Trends in Biotechnology*, 16(2): 54-60.
12. Hoet RM, Cohen EH, Kent RB, et al. 2005. Generation of high-affinity human antibodies by combining donor-derived and synthetic complementaritydetermining-region diversity. *Nat. Biotechnol*. 23: 344-348.
13. Hoogenboom HR, Debruijn AP, Hufton SE et al. 1998. Antibody phage display technology and its applications. *Immunotechnology*. 4:1-20.
14. Hughes SS. 2001. Making dollars out of DNA. The First Major Patent in biotechnology and the commercialization of molecular biology, 1974-1980. *Isis*, 92(3): 541-75.
15. Jackson D, Symons R, Berg P. 1972. Biochemical method for inserting new genetic information into dna of simian virus 40: circular sv40 dna molecules containing lambda phage genes and the galactose operon of escherichia coli. *Proc Natl Acad Sci*, 69(10): 2904-2909.
16. Katartaş Z. 2011. Rekombinant DNA teknolojisi ile ilaç üretimi. Bitirme Ödevi, Erciyes Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Biyoteknoloji, Kayseri.
17. Kiper M. 2013. Biyoteknoloji sektörle inovasyon sistemi kavramlar dünyadan örnekler türkiye’de durum ve çıkarımlar, Baskı Afşar Matbaacılık. Yayınno: TTGV-T/2013/001. Ankara.
18. Kishi N, Sato K, Sasaki E, et al. 2014. Common marmoset as a new model animal for neuroscience research and genome editing technology. *Development, growth & differentiation*, 56(1): 53-62.
19. Knappik A, Ge L, Honegger A, et al. 2000. Fully synthetic human combinatorial antibody libraries (HuCAL) based on modular consensus frameworks and CDRs randomized with trinucleotides. *J. Mol. Biol*. 296: 57-86.
20. Ladisch MR, Kohlmann KL. 1992. Recombinant human insülin. *Biotechnol. Prog.*, 8:469-478.
21. Lasky LA, Obijeski JF. 1984. Recombinant DNA Vaccines. In *Concepts in Viral Pathogenesis*, Springer, New York. pp. 366-375.
22. Ledford H. 2015. Salmon approval heralds rethink of transgenic animals. *Nature*, 527: 417-418.
23. Mullis KB. 1990. Recombinant DNA technology and molecular cloning, *Scientific American*, 262(36): 181-231.

24. Naylor R, Hindar K, Fleming IA, et al. 2005. Fugitive salmon: assessing the risks of escaped fish from net-pen aquaculture. *AIBS Bulletin*, 55(5), 427-437.
25. Schmitz U, Versmold A, Kaufmann P, et al. 2000. Phage display a molecular tool for the generation of antibodies-a review. *Placenta*. 21: 106–112.
26. Siegel DL. 2002. Recombinant monoclonal antibody technology. *Transfusion clinique et biologique j Société franç trans san.* 9 (1): 15–22.
27. Soydemir E, Aksoy ZB. 2017. Rekombinant DNA Teknolojisi ve Günümüzdeki Kullanımı. *Güncel Gastroenteroloji* 21(1): 14-17.
28. Steinberg FM, Raso J. 1998. Biotech pharmaceuticals and biotherapy: an overview. *J Pharm Pharm Sci*, 1(2): 48-59.
29. Stryjewska A, Kiepusa K, Librowski T, et al. 2013. Biotechnology and genetic engineerin in the new drug development Part I. DNA technology and recombinant proteins. *Pharmacological Reports*. 65; 1075-1085.
30. Şahin O. 2013. Rekombinant DNA teknolojisinin eczalıktaki uygulamaları. Bitirme Ödevi, Erciyes Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Kayseri.
31. Temizkan G, Arda N. 2004. Moleküler biyolojide kullanılan yöntemler. “Genetik Mühendisliği, Nobel Kitabevi, Ankara.
32. TÜBİTAK. 2004. Biyoteknoloji ve gen teknolojileri stratejisi. Vizyon 2013 Projesi Biyoteknoloji ve Gen Teknolojisi. Ankara.
33. Ulutin. 2017. Rekombinant DNA teknolojisi. Erişim Adresi: [http://194.27.141.99/dosya - depo/ders-notlari/turgut-ulutin/rec-DNA-t.pdf](http://194.27.141.99/dosya-depo/ders-notlari/turgut-ulutin/rec-DNA-t.pdf). Erişim Tarihi: 24.05.2017.
34. Uzun A. 2002. Gen teknolojisi ve biyogüvenlik. *Alatarım*, 1(2): 27-34.
35. Van Doorn MBA, Burggraaf J, Van Dam T, et al. 2005. A phase 1 study of recombinant human c1 inhibitor in asymptomatic patients with hereditary angioedema. *J. Allergy Clin Immunol*, 116(4); 876-883.
36. Yang B, Wang J, Tang B, et al. 2011. Characterization of bioactive recombinant human lysozyme expressed in milk of cloned transgenic cattle. *PloS one*, 6(3): e17593.
37. Yurdusev N. 2002. Hayvancılık ve Veteriner Hekimlikte Gen Teknolojileri ve Biyoteknoloji, *Avrasya Dosyası, Moleküler Biyoloji ve Gen Teknolojileri Özel*, Sonbahar 2002, 8(3): 77-89.