

# GENOMİK VE PROTEOMİKİN İNFEKSİYON HASTALIKLARINDAKİ YERİ VE ÖNEMİ

Tanıl KOCAGÖZ

Acıbadem Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İSTANBUL  
tk05-k@tr.net

## ÖZET

Genomik, genlerin DNA dizilerinin, proteomik ise bir hücre türü veya dokudaki tüm proteinlerin yapı, işlev ve farklı koşullarda değişimlerinin incelenmesidir. Genomik ve proteomik birçok moleküler araştırma yöntemi kullanır. Sürekli biriken genom ve proteom bilgileri, biyoinformatiğin gelişmesi ile birlikte bu alandaki çalışmaların çok hızlanmasını sağlamıştır. Enfeksiyon hastalıklarının önlenmesi için yapılan çalışmalarda genomik ve proteomik bir yandan hastalık etkeni mikroorganizmaların yapı ve özelliklerini ayrıntılı olarak ortaya koyarken diğer yandan da konağın enfeksiyon etkenine karşı verdiği bağışıklık yanıtının oluşmasını da araştırabilmektedir. Günümüzde genomik ve proteomik enfeksiyon hastalıklarının tanı, önleme ve tedavisine çok önemli katkıları olmaktadır.

**Anahtar sözcükler:** bağışıklık, genomik, enfeksiyon, mikroorganizma, proteomik

## SUMMARY

### Application and Importance of Genomics and Proteomics in Infectious Diseases

Genomics is the detailed analysis of the gene sequences and proteomics is the detailed analysis of the structure, function and changes that occur in proteins in different conditions, in a cell or tissue. Genomics and proteomics make use of many molecular research techniques. Together with the developments in bioinformatics, the data that is accumulated by genomics and proteomics speeded up studies in this area extensively. In studies performed for the prevention of infectious diseases, genomics and proteomics provide detailed information about pathogenic microorganisms and at the same time the opportunity for investigating the immune response of the host against the infectious agent. Nowadays, genomics and proteomics make very important contribution to the diagnostics, prevention and treatment of infectious diseases.

**Keywords:** genomics, immunity, infection, microorganism, proteomics

“Genomik”, genlerin ayrıntılı olarak incelenmesidir. Genlerin DNA dizileri (genotip), mRNA yapımı (transkriptom) ve proteinler (proteom) düzeyinde incelenmesi, genomik çalışmalarını oluşturur. Genomik kavramı 1970’lerde Tattersol Smith tarafından bir virüs ve mitokondri DNA’larının dizilerinin saptandığı sırada geliştirilmiştir. Araştırma ekibi 1970 ve 1980’lerde DNA dizi incelemesi, gen haritalaması, genetik bilgi depolanması ve biyoinformatik yöntemlerinin temellerini yerleştirmiştir. Walter Fiers ve araştırma ekibi 1972’de ilk kez bir genin, bakteriyofaj MS2’nin kapsid proteinini dizgeleyen RNA’nın nükleotit dizisini saptamıştır<sup>(9)</sup>. Aynı bakteriyofajın tüm gen dizisi ise 1976 yılında belirlenmiştir<sup>(6)</sup>. DNA temelli,

bakteriyofaj  $\phi$ -X174’e ait genom (5,368 bç) ilk kez, bugün en yaygın olarak kullandığımız DNA dizi incelemesi yöntemini geliştiren Frederick Sanger tarafından, 1977 yılında saptanmıştır<sup>(12)</sup>. 1995 yılında, doğada bir konak hücreye gereksinim duymadan serbest olarak yaşayabilen organizmalar içerisinde, genomunun tamamı (1.8Mb) saptanan ilk tür *Haemophilus influenzae* olmuştur. Otomatik DNA dizi incelemesi aygıtlarının hızla gelişmesi ile DNA dizi inceleme işlemleri de çok hızlanmış ve 2001 yılında insan genomunun tamamının dizisi saptanmıştır. 2009 yılı başında 2000’i aşkın virüs, 788 bakteri ve 106 ökaryotik hücre genomunun tamamının nükleotit dizisi belirlenmiştir. Genom dizisinin tamamı belirlenen bakteriler

arasında çok sayıda infeksiyon etkeni bulunmaktadır. Genomik çalışmaların hâlâ en önemli parçalarından birisi DNA dizilerinin belirlenmesidir. Genlerin DNA dizileri konusundaki bilgi birikimi zamanla işlevsel genomik de altyapısını hazırlamıştır. İşlevsel genomik, farklı koşullarda genlerin ekspresyon biçimini inceler.

Bir hücre türü veya dokudaki tüm proteinleri ve farklı koşullarda değişimlerini incelemeye "proteomik" adı verilmiştir<sup>(1,4,7)</sup>. "Proteom" sözcüğü ilk kez Marc Wilkins tarafından 1994'te protein ve genom sözcüklerinin ilk ve son kısımlarının birleştirilmesi sonucunda elde edilmiştir. Proteomik sözcüğü ilk kez Peter James tarafından 1997'de yayınlanan bir makalesinde kullanılmıştır<sup>(7)</sup>. Bilindiği gibi proteinler bir yandan yapısal öğeler olarak hücrelerde yer alırken bir yandan da enzimler olarak tüm hücre metabolizmasını yürütürler. Hücreleri anlayabilmek proteinlerinin yapı ve işlevlerini belirlemek, değişik koşullarda nasıl farklılaştıklarını anlamak ile gerçekleşir. Genelde genomik çalışmayı proteomik izler. Proteomik, genomikten çok daha karmaşıktır. Bir organizmanın genomu fazla değişkenlik göstermezken proteomu hücrenin içinde bulunduğu koşullar ve zamana göre çok fazla değişkenlik gösterebilir. Çünkü genlerin ekspresyonu ortam koşullarına göre farklı olur. Bir hücrede hangi proteinlerin ne miktarda yapıldığını anlamak amacıyla daha kolay olduğu için eskiden mRNA'lara bakılmaktaydı. Ancak o sırada mRNA'ların hepsinin proteine dönüşmediği bilinmemekte idi. Proteomik, proteinlerin varlığını kanıtladığı gibi miktarlarını da doğru olarak belirler. Proteinlerde bir başka değişkenlik nedeni, yapım sonrası bazı grupların eklenmesi veya değiştirilmesi ile olur. Hücre iletişimi sırasında birçok enzim ve yapısal protein fosforile olur. Fosfat grupları genellikle serin/treonin kinazlar tarafından, bu amino asitlere eklenir. Fosforillenme, fosforillenmiş kısmı tanıyan proteinlerle ilişkiye girmeye neden olur bu da hücre metabolizma ve işlevini tamamen değiştirebilir<sup>(10)</sup>. Ubikitin başka proteinlere eklenebilen küçük bir proteindir. E3 ubiquitin ligaz adı verilen enzimler tarafından proteinlere eklenebilmekte, onların yapı ve işlevlerini değiştirebilmektedir. Bu nedenle proteinlerin fosforillenme ve ubiquitinlenme durumunun

incelenmesi proteomikın önemli konuları arasında yer almaktadır. Proteinlerin değişiklikleri arasında metilasyon, asetilasyon, glikozilasyon, oksidasyon ve nitrozilasyon da sayılabilir. Sonuç olarak proteomik, hücrelerin yapı ve işlevlerini anlamada genomikten daha fazla bilgi sağlamaktadır. Öncelikle bir genden mRNA yapımının ölçülmesi o gene ait proteinin hücre içinde ne düzeyde yapılmakta olduğu hakkında kabaca bilgi verir. Ancak mRNA düzeyi ile protein yapımı ve işlevi her zaman doğru orantılı değildir. Birincisi, çok miktarda yapılan mRNA hızla parçalanabilir ya da etkin bir şekilde proteine dönüştürülemeyebilir. İkinci olarak, protein, yapımı sonrasında fosforillenme gibi olaylarla değişikliğe uğratılabilir. Üçüncüsü, bir mRNA'dan değişik noktalardan kesilme birleştirmelerle birçok farklı proteinin yapımı sağlanabilir. Dördüncüsü, proteinler başka proteinler ve RNA ile bir araya gelerek işlevsel hale gelebilir. Sonuncusu, proteinlerin parçalanma hızı da, hücredeki miktarlarında önemli rol oynar<sup>(1,3,4)</sup>.

Genomik çalışmaları gen haritalama ve DNA dizilerinin belirlenmesi ile gerçekleştirilir. Gen haritalama, belli DNA dizilerini tanıyıp kesen restriksiyon enzimleri ile bir genom veya DNA'dan elde edilen parçaların elektroforez ile ayrıştırılarak incelenmesi ile yapılır. Genelde bir hücre genomunun bir başkası ile aynı olup olmadığını karşılaştırılmasını sağlar. Genomlar hakkında daha ayrıntılı bilgi edinebilmek için tüm DNA'nın dizisinin belirlenmesi ve bir hücreden diğerine nükleotit düzeyinde mutasyon veya polimorfizmlerin olup olmadığını saptanması gerekir. Genomların DNA dizilerinin belirlenmesi birbirleri arasında homolojilerinin varlığı, bir proteini dizgeleyip dizgelemediği, dizgelenen proteinin olası işlevi hakkında bilgi verir. Proteomik ile proteinlerin yapı ve işlevleri ortaya çıkartıldıkça bu bilgiler yeni araştırılacak proteinler için de bilgi altyapısını zenginleştirir. Yapı ve işlevi bilinen protein genlerinin yeni çözümlenen genlerin dizileri ile karşılaştırılması, bunların da işlevlerinin anlaşılmasını sağlar. Bu şekilde genomik ve proteomik sürekli birbirinin gelişmesini sağlar. Biriken bilginin bilgisayarlar aracılığıyla etkin ve hızlı bir şekilde değerlendirilmesi biyoinformatik bilimini doğurmuştur<sup>(8,11)</sup>.

Proteomik çalışmalarında genelde ilk başlangıç noktası elektroforezdir. Elektroforez ile proteinler büyüklükleri, izoelektrik noktaları gibi özelliklerine göre ayrıştırılırlar. Bu yöntemler arka arkaya kullanılarak iki boyutlu elektroforez ile daha iyi bir ayrıştırma yapılabilir<sup>(2,13)</sup>. Proteinler üzerindeki küçük değişiklikleri göstermedeki en önemli araçlardan biri ise özgül antikorlardır. Örneğin, antikorlar ile bir proteinin fosforile olmuş ve olmamış şekilleri ayırt edilebilmektedir. Antikorlar kullanılarak ELISA ile proteinlerin miktarları saptanabilmektedir. Farklı lektinlerin özgül olarak bazı şekerlere bağlandığının bulunması ile lektinler proteinlerin glikozilasyon durumunu araştırmada önemli araçlar haline gelmiştir<sup>(10)</sup>.

Birçok protein başka proteinler ile bir arada işlev göstermektedir. Proteomik hedeflerinden birisi proteinler arasındaki ilişkiyi ortaya çıkarmaktır. Bu özellikler hücreler arası haberleşme, sinyal iletimi gibi işlevlerin ortaya çıkartılmasında önemlidir<sup>(10)</sup>.

Molekül büyüklüğü, iyon değiştirici, hidrofobik ve afinite kromatografileri önemli protein ayırma ve saflaştırma teknikleridir. Bunlar yüksek başarımlı sıvı kromatografi (High Performance Liquid Chromatography-HPLC-) aygıtlarında daha iyi bir saflaştırma için de kullanılabilir. Proteomik için kütle spektrometrisine dayanan yeni gelişmiş aygıtlar kullanıma girmektedir. Yapısal proteomik, proteinlerin üç boyutlu yapılarının ortaya çıkartılması ile uğraşır. Bu amaçla, temel araştırma yöntemleri olarak X ışını kristalografisi ve nükleer manyetik rezonans tekniklerini kullanır<sup>(1,4,13)</sup>.

Günümüzde infeksiyon hastalıkları ile savaşta genomik ve proteomik çok önemli araştırma alanları haline gelmiştir. Genomik ve proteomik bir yandan hastalık etkeni mikroorganizmaların yapı ve özelliklerini ayrıntılı olarak ortaya koyarken diğer yandan da konağın infeksiyon etkenine karşı verdiği bağışıklık yanıtının oluşmasını da araştırabilmektedir.

Genomik, mikroorganizmaların tüm genlerinin dizisini incelemeyi sağlar. DNA dizi incelemesi ile hastalık etkeni çoğu virüsün, mikoplazma gibi küçük genoma sahip organizmaların genomlarının tamamının DNA dizisi saptanmıştır. *Mycobacterium tuberculosis*,

*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *H.influenzae*, *Salmonella typhi* gibi başlıca önemli bakteriyel patojenlerin genomlarının tamamının dizisi yayınlanmış, birçoğunun da çözümlenmesi tamamlanmak üzeredir. Genom dizilerinin ortaya çıkartılması ile öncelikle tüm protein genleri, proteinleri oluşturan peptit dizileri saptanmaktadır<sup>(12)</sup>. Proteomik ile proteinlerin işlevleri belirlenmektedir. Homoloji çalışmaları ile daha önce işlevleri belirlenmiş proteinler ile dizileri yeni saptanan proteinler karşılaştırılarak işlevleri hakkında öngörüle bulunulabilmektedir. Bu öngörü proteinin yapısal mı, enzim doğasında mı olduğunu ve hücrenin hangi kısmında yer alabileceğini göstermektedir. Daha sonra proteomik ile proteinin yapısı ve işlevi ayrıntılı olarak ortaya çıkartılmaktadır. Yapı ve işlevi aydınlatılan her yeni proteinin bilgisi daha sonraki homoloji çalışmalarına katkıda bulunmak üzere bilgi dağarcığına eklenmektedir<sup>(1,4)</sup>.

Genomik, patojen olan ve olmayan mikroorganizmalar arasındaki gen farklılıklarını ortaya çıkarmakta, böylece patojenitede rol oynayan genler belirlenmektedir. Patojenite genleri arasında tutunma, kolonizasyon, invazyon ve toksin yapımı ile ilgili genler sayılabilir. Proteomik ile patojenite genlerinin dizgelediği proteinler ayrıntılı olarak incelenmekte, bunların işlevleri ortaya çıkarılmaktadır. Patojenite proteinlerinin çözümlenmesi, bunları hedefleyen yeni ilaçların, tedavi yöntemlerinin, aşıların geliştirilmesinde çok önemlidir.

Antimikrobiyal ilaçlara karşı direnç ilaç hedefi moleküllerde değişiklik, ilaca geçirgenliğin azalması, ilacın dışarıya hızla pompalanması, ilaç moleküllerinin enzimatik modifikasyonu ile ortaya çıkmaktadır. Öncelikle genomik ve proteomik çalışmalar ile ilaçların hedef molekülleri belirlenir. Hedef molekülün yapısının ayrıntılı olarak ortaya çıkartılması etki ve direnç mekanizmalarını aydınlatır. Bu çalışmalar yapıya dayalı ilaç tasarımı ile var olan ilaçların geliştirilmesi ve yeni ilaçların tasarlanmasını sağlar. İlaç hedefi ve bunlar ile ilişkili genler bir kez belli olduktan sonra ilaç direncine neden olan mutasyonlar basit genomik çalışmalarla kolayca saptanabilir. Bu, özellikle kültüre dayalı yöntemlerle ilaç direnci saptanamayan virüs veya

yavaş üreyen ya da üretilmeyen bakteriler gibi infeksiyon etkenlerinde önemli bir tanı aracıdır. Bazen tersine transkriptaz inhibitörlerine karşı dirence neden olan nokta mutasyonların, bazen de *S.aureus*'ta metisilin direncine yol açan *mecA* gibi bütün bir genin varlığı genomik yöntemlerle kolayca gösterilebilir. Yine beta-laktam antibiyotikleri parçalayan beta-laktamazların bugün için saptanmış olan onlarca farklı türü, aminoglikozitler gibi ilaçları modifiye eden enzimlerin yapı ve aktiviteleri genomik ve proteomik sayesinde araştırılabilmektedir. Bazen bir ilaç direncinin mekanizmasını anlayabilmek için sadece dirence neden olan genetik değişikliklerin gösterilmesi yetmez. Örneğin, ilaç direncine neden olan dışı atım pompa proteinlerinin genlerinin yanısıra miktarı ve aktivitelerinin de saptanması gerekir ki bu proteomik ile gerçekleştirilir<sup>(1,4)</sup>.

Bir infeksiyonu tam olarak anlayabilmek için sadece infeksiyon etkeninin özelliklerini anlamak yeterli olmaz. Bu infeksiyona karşı konağın verdiği bağışıklık yanıtının da anlaşılması çok önemlidir. Bağışıklık yanıtı genellikle oldukça karmaşıktır. Birçok hücre sitokinler (interlökin, interferon vb.) aracılığı ile haberleşirler. Hücre yüzeylerinde çok çeşitli algaç (reseptör) yapılar belirir. Hücre içerisinde, antiviral proteinler gibi birçok yeni protein yapılı. Kompleman sistemi, hidrolitik enzimler, oksijen radikalleri, antikorlar ve daha birçok molekül bağışıklık yanıtında yer alır. Her infeksiyon etkeninin yapısına göre farklı bağışıklık yanıtları ortaya çıkar. İnsandaki bağışıklık yanıtı proteomik ile moleküler düzeyde ayrıntılı olarak araştırılabilmektedir<sup>(4,5)</sup>. Patojen mikroorganizmaların bağışıklık yanıtından nasıl kurtulduğunun ortaya çıkartılması, immünoterapi gibi yeni tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesini sağlamaktadır. İnfeksiyonlardan korunmada yeni aşıların geliştirilmesi de bu çalışmalara dayanmaktadır.

Sonuç olarak genomik ve proteomik günümüzde infeksiyonların anlaşılması, korunma yollarının ve yeni tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesinde en önemli araçlar haline gelmiştir.

## KAYNAKLAR

1. Anderson NL, Anderson NG: Proteome and proteomics: new technologies, new concepts, and new words, Electrophoresis 1998;19(11):1853-61.
2. Arora PS, Yamagiwa H, Srivastava A, Bolander ME, Sarkar G: Comparative evaluation of two two-dimensional gel electrophoresis image analysis software applications using synovial fluids from patients with joint disease, J Orthop Sci 2005;10(2):160-6.
3. Belle A, Tanay A, Bitincka L, Shamir R, O'Shea EK: Quantification of protein half-lives in the budding yeast proteome, PNAS 2006;103(35):13004-9.
4. Blackstock WP, Weir MP: Proteomics: quantitative and physical mapping of cellular proteins, Trends Biotechnol 1999;17(3):121-7.
5. Dhingraa V, Gupta M, Andacht Z, Fu ZF: New frontiers in proteomics research: A perspective, Int J Pharmaceut 2005;299(1-2):1-18.
6. Fiers W, Contreras R, Duerinck F et al: Complete nucleotide sequence of bacteriophage MS2 RNA: primary and secondary structure of the replicase gene, Nature 1976;260(5551):500-7.
7. James P: Protein identification in the post-genome era: the rapid rise of proteomics, Quart Rev Biophys 1997;30(4):279-331.
8. Mayer U: Protein Information Crawler (PIC): extensive spidering of multiple protein information resources for large protein sets, Proteomics 2008;8(1):42-4.
9. Min Jou W, Haegeman G, Ysebaert M, Fiers W: Nucleotide sequence of the gene coding for the bacteriophage MS2 coat protein, Nature 1972;237(5350):82-8.
10. Olsen JV, Blagoev B, Gnad F et al: Global, in vivo, and site-specific phosphorylation dynamics in signaling networks, Cell 2006;127(3):635-48.
11. Rogers S, Girolami M, Kolch W et al: Investigating the correspondence between transcriptomic and proteomic expression profiles using coupled cluster models, Bioinformatics 2008;24(24):2894-900.
12. Sanger F, Air GM, Barrell BG et al: Nucleotide sequence of bacteriophage phi X174 DNA,

Nature 1977;265(5596):687-95.  
13. Wilkins MR, Pasquali C, Appel RD et al:  
From proteins to proteomes: Large scale pro-

tein identification by two-dimensional electrophoresis and amino acid analysis, Nature Biotechnol 1996;14(1):61-5.