**BİYOTEKNOLOJİ**

**DERS NOTLARI**

**Doç. Dr. Gökçe MEREY**

**BİYOTEKNOLOJİ**

Biyoteknoloji, en genel şekliyle sorunların çözülmesi ve yararlı ürünlerin üretilmesi amacıyla biyolojik süreçlerin kullanılması olarak tanımlanabilir.

**Tarihçe:** İnsanlar biyoteknolojiyi, binlerce yıldır, biyokimyasal ve genetik mekanizmaların nasıl işlediğini bilmeden, deneme yanılma yoluyla ekmek, peynir, şarap, sirke ve bira gibi insanların ihtiyaçlarının karşılanmasında yüzyıllardır kullanmışlardır. Binlerce yıldır küçücük organizmalar meyve, süt, tahıl gibi ürünleri yeni ürünlere dönüştürmektedirler. Mikroorganizmalar sayesinde yararlı ürünler üretilebileceği gibi, aynı zamanda da zararlı kimyasallar ve ürünler zararsızlaştırılmaktadır.

İlk defa Christian Friedrich Erxleben, bir doğa bilimci olarak, sistematik olarak yaptığı deneylerle maya hücrelerinin şekeri oksijensiz ortamda alkole parçaladığını göstermiş ve ispatlamıştır.

Asil çalışmalar ise Louis Pasteur ile başlamıştır. Biracının biri, Louis Pasteur'den biranın zaman zaman asidik olmasının nedenlerini araştırmasını istemiştir. Çünkü bu olay hep kimyasal bir olay gibi yorumlanmıştır. Pasteur mikroskop altında maya ve bakteri hücrelerini görmüştür. Mayaların alkole, bakterilerin de aside fermante olduğunu açıklamıştır. 1876 yılında da bu konuları aydınlatan detaylı bir kitap yazmıştır. İlk defa da bu olaylar için fermantasyon sözünü kullanmıştır.

1896 yılında da Eduard Buchner, mayalanmanın gerçekleşmesi için sadece canlı maya hücrelerinin bulunmasının yeterli olmadığını fark etmiştir. Hücreden gelen ve "Zymase" adı verdi bir ekstraktın da olması gerekmiştir. Bugün bu, enzim olarak adlandırılmaktadır. Enzimler günümüzde modern biyoteknolojinin en önemli yardımcı araçlarıdır.

Birinci Dünya Savaşı sırasında Almanya’nın dış dünya ile ilişkisi kesildiğinden, dinamit üretiminde kullanılan gliserin açığı baş göstermiştir. Bunun üzerine alkol elde ederken az miktarda yan ürün olarak oluşan gliserinin miktarını artırmak gerekmiştir. Bu da alkolleşme işlemi sırasında sodyumbisülfit ilavesi ile gerçekleşmiştir. Savaş hammaddesi ihtiyacı nedeni ile bir ayda bin ton gliserin üreten fermantasyon sanayi inşaa edilmiştir. Aynı yıllarda da İngiltere'de silah sanayi için aseton açığı vardı. Chaim Weizmann, bakterium clostridium acetobutylicum glucose’u oksijensiz ortamda kullanarak glikozdan aseton ve butanol üretmiştir.

1928 yılında da Sir Alexander Fleming, Penicilin'i keşfederek ilk defa silah biyoteknolojisi yerine tıbbi biyoteknolojinin temellerini atmıştır (Staphylococcus aureus). Böylece ilk "Antibiotica" bulunmuştur. Günümüzde dünyada her yıl yaklaşık olarak 10 000 ton antibiyotik madde üretilmektedir.

1970'li yıllarda da tek hücrelilerin genetik yapılarını bilinçli olarak değiştirme çalışmalarına ve araştırmalarına gidilmiştir. Mikroorganizmaların doğal yetenekleri ile sınırlı kalınmamaya ve hedefli olarak genetik manipülasyonlarla yeni yeni mikroorganizma üretimine başlanmıştır. Bunlardan birçoğu da doğada ayrışmayan veya zor ayrışan maddelerin ayrışmasını sağlayacak, maddeye özgün mikroorganizma olmasına çalışılmıştır. İlk defa Amerikalı araştırıcı James Watson ve İngiliz Francis Crick 1953 yılında DNA'nın yapısını keşfetmişlerdir. 1960'li yılların başında da genetik kodlar izah edilmiştir.

**BİYOTEKNOLOJİ UYGULAMA ALANLARI**

Biyoteknoloji insanlığın hizmetine aşağıdaki konularda sunulmuştur :

- Yeni aşı maddeleri üretilmesi

- Verimi fazla, dayanıklı bitki türlerinin üretilmesi

- Kozmetik maddeleri

- Ucuz kimyasal maddelerin üretilmesi

- Tıbbi tanı için monoklonal antikorların üretilmesi

- Yan etkisi olmayan ilaçların üretilmesi

- Mikropsuz aşıların üretilmesi

- Çevre dostu, sağlık dostu yiyecek katkı maddelerinin üretilmesi

- Kati ve sıvı atıkların zararsızlaştırılması, arıtılması

- Tehlikeli toksik atıkların zehirsizleştirilmesi

- DNA parmak izi

- Bitki ve hayvan klonlama

- Hormon ve enzimler üretme

- Kalıtsal hastalıkların önlenmesi

- Biyolojik savaş araçları üretme

- İnsan ömrünü uzatma

- Genetik açıdan iyileştirilmiş yeni ırkların üretilmesi

Biyoteknolojinin yararlanmak için başvuracağı mikroorganizma hazinesi çok zengindir ve kolay kolay biteceğe benzememektedir. Mikroorganizmalar çok hızlı gelişen canlılardır, bu ise biyoteknoloji için çok büyük bir avantajdır. 20 dakika gibi kısa bir zamanda popülasyon ikiye katlanabilmektedir. Mikroorganizmalar sayesinde sanayii amaçlı üretilen maddeleri aşağıdaki gibi sıralamak mümkündür:

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| * Alkoloidler
 | * Enzim inhibitörleri
 | * Farmakolojik maddeler
 |
| * Aminoasitler
 | * Herbisidler
 | * Pigmentler
 |
| * Antibiyotikler
 | * İnsektisitler
 | * Bitki geliştirme hormonları
 |
| * Antimetabolitler
 | * Lipitler
 | * Polisakkaritler
 |
| * Antitümör ilaçları
 | * Çözeltiler
 | * Proteinler
 |
| * Koenzimler
 | * Nükleik asitler
 | * Steroidler
 |
| * Emülsiyon maddeleri
 | * Nükleosidler, Nükleotidler
 | * Vitaminler
 |
| * Enzimler
 | * Organik asitler
 | * Şekerler
 |

**BİYOTEKNOLOJİNİN ETKİLİ OLDUĞU SEKTÖRLER**

Biyoteknolojinin etkili olduğu 5 temel alan bulunmaktadır:

* Tıp
* Tarım
* Hayvancılık
* Çevre
* Endüstri

**TIP ALANINDA BİYOTEKNOLOJİ**

Tıptaki moleküler yaklaşım, hastalığın belirtileriyle değil, en temel nedenleriyle uğraşan bir yaklaşımdır. Hızlı ve kesin tanı testleri, yeni immünoterapi yöntemlerinin kullanılması, hastalık tetikleyici birçok çevresel koşulun keşfi ve bozuk genlerin yerine sağlamlarının konmasını içeren gen terapisiyle çok sayıda sorun için çözümler üretilmektedir. Ayrıca biyoteknoloji yöntemleriyle ilaç tarama ve ilaç keşfi yapmak da mümkündür.

Özellikle tıp alanında biyoteknolojik uygulamaların gelişmesine PCR (Polymerase Chain Reaction) teknolojisinin keşfi öncülük etmiştir.

***PCR (Polymerase Chain Reaction)***

PCR (Polymerase chain reaction) ya da polimeraz zincir reaksiyonu, moleküler biyolojide uygulanan bir teknik olup, basitçe tüpte nükleik asitlerin uygun koşullarda çoğaltılması olarak tanımlanabilir. PCR tekniği sıcak su kaynaklarında yaşayan bakterilerden birinden elde edilen, yüksek sıcaklığa dayanıklı bir enzim sayesinde gelişmiştir.

PCR, bir çeşit "in vitro klonlama"dır. PCR, reaksiyonu DNA’nın iki zincirinin yüksek ısı ile birbirinden ayrılmasını (denatürasyon); daha sonra sentetik oligonükleotidlerin hedef DNA'ya bağlanmasını (hibridizasyonu); sonra zincirin uzamasını (polimerizasyonu) (çift iplikçikli DNA’ların sentezi) ve bu döngünün belirli sayıda tekrarlanmasına dayanır.

DNA Zincirinin Açılması (Denatürasyon):

Kalıp DNA (template DNA), 92-95 oC’de 1-2 dakika tutularak çift sarmal yapıdaki DNA iplikçikleri birbirlerinden ayrılmaktadır. DNA zincirini ayırmak için, bazı durumlarda 5-10 dakika ön ısıtma yapmak gerekebilir.

Primerlerin Açılan DNA Zincirlerine Yapışması (Hibridizasyon):

Reaksiyon sıcaklığının, 37-65 oC’ye düşürülerek oligonükleotid primerlerinin açılan DNA zincirlerinin kendi baz dizilerine karşılık gelen bölgeye yapışması işlemidir. Bu işlem, üretilecek baz uzunluğuna bağlı olarak 30-60 saniyede gerçekleşmektedir.

Primer Uzaması (Primer Extesion):

DNA zincirleri üzerine yapışan primerlerin DNA polimeraz enzimi aracılığıyla uzatılmasıdır. DNA polimeraz 72 oC sıcaklıkta daha iyi çalıştığı için genel olarak tüm çoğaltma işlemleri bu sıcaklıkta yapılmaktadır. PCR sonucunda elde edilen ürün, çoğaltılması hedeflenen DNA parçası ile iki primerin toplam uzunluğu kadardır.

Bu üç basamaktan oluşan işlem, bir PCR devrini temsil eder. Bu işlem, genel olarak 25 ile 40 defa tekrar edilerek başlangıçtaki DNA dizisinden milyonlarca yeni DNA parçacığı çoğaltılır. PCR sonucunda elde edilen DNA parçacıkları agar veya poliakrilamit jellerde yürütüldükten sonra, ethidium bromide (EtBr) veya gümüş nitrat (GN) ile boyanarak gözlemlenir

Yöntemin temeli, çoğaltılmak istenen bölgenin iki ucuna özgü, bu bölgedeki baz dizilerine tamlayıcı bir çift sentetik oligonükleotid primer (18-20 baz uzunluğunda) kullanılarak; bu iki primer ile sınırlandırılan genin enzimatik olarak sentezlenmesine dayanır.

PCR tekniği, çok az miktarda DNA ile çalışmaya olanak sağlamaktadır. PCR tekniği ile laboratuvar tanısında çok büyük bir hız ve kesinlik kazanılmış; birçok durumda radyoaktivite kullanımını gereksiz hale gelmiştir. PCR teknolojisi için:

**1)** DNA örneği (genelde genomik DNA),

**2)** Çoğaltılacak olan bölgeyi sağdan ve soldan çevreleyen bir çift sentetik primer,

**3)** dNTP (deoksiribonükleotid) ler (A,T,C,G),

**4)** Isıya dayanıklı DNA-Polimeraz enzimi,

**5)** Uygun pH ve iyon koşullarını (Mg+2) sağlayan tampon karışımı gereklidir.

PCR KULLANIM ALANLARI:

* Kalıtsal hastalıklarda taşıyıcının ve hastanın tanısında,
* Prenatal (doğum öncesi) tanıda,
* Klinik örneklerde patojen (hastalığa neden olan) organizmaların saptanmasında,
* Adli tıpta,
* Onkogenez (kemik tümörü) araştırılmalarında,
* Probe (DNA parçaları) oluşturulmasında / klonlamada / gen ekspresyon araştırmalarında,
* DNA dizi analizinde, bilinmeyen dizilerin belirlenmesinde,
* Büyük miktarda DNA örneklerinin oluşturulmasında,
* Geçmiş DNA'nın incelenmesi ve evrimin aydınlanmasında,
* Restriction Fragment Length Polimorfizm (RFLP, Sınırlayıcı Enzim Parça Uzunluk Çeşitliliği) Analizinde,
* Invitro fertilizasyon yapılan tek hücrede (tüp bebek),
* İmplantasyon öncesi genetik testlerin yapılması ve sonra implantasyon gerçekleştirilmesi ile bebeğin normal doğmasının sağlanması,
* DNA protein interaksiyonunun araştırılmasında (footprinting) kullanılabilir.

**Hastalıkların Teşhis ve Tedavisinde Biyoteknoloji**

Yirminci yüzyılın ortasında genetik hastalık olarak Huntington hastalığı ve Akdeniz Anemisi gibi hastalıklar kabul edilirken, son 30 yılda artan genetik bilgi birikimi nedeniyle "genetik temelli hastalık" tanımı da değişmiştir. Artık kalıtımsallığı %100’den az olan, birden çok gene bağlı hastalıklar da genetik hastalık olarak görülmeye başlanmıştır. Kalp ve dolaşım bozuklukları, bazı kanser türleri ve şeker hastalığı bu gruba örnek gösterilebilir. Genlerin kişilerin pek çok özelliğini belirlediği düşüncesi güçlendikçe, genetik kökeni çok açık olmayan kimi davranış özelliklerinin de genetik temelli olduğu kabul edilmiştir. Bu grup genetik bozukluklara da alkolizm veya şizofreni örnek verilebilir. Birçok hastalığın genetik kökeni için araştırmalar yapılırken artık çevresel etkiler de göz önünde bulundurulmaktadır. Özellikle, son iki gruptaki hastalıkların, genetik bir bileşeni olmakla birlikte, çevresel koşulların etkisiyle ortaya çıktığı düşünülmektedir.

Hastalıkla ilgili bir genin ve gendeki bir mutasyonun, arkasından ilgili proteinin işlevinin, fizyolojik etkisinin saptanması ve hücreler arası etkileşimde oynadığı rolün tanımlanmasıyla birlikte, yeni müdahale olanakları doğmaktadır. Kişinin genetik yapısının biyokimyasal yöntemler ve bilgisayar uygulamalarıyla ortaya çıkartılması ve olması gerekenle karşılaştırılması da uygun tedavi biçiminin geliştirilmesini sağlar. DNA dizileme teknikleri, bilgisayar donanım ve yazılım olanakları sayesinde binlerce gen dizilimi ve bunların ifade ettiği protein yapı ve işlevleri anlaşılmıştır. Genler ve proteinler; bunların yapı ve işlevlerine ilişkin bilgi birikimi, hastalıklara nasıl ve ne zaman müdahale edileceğinin kararlaştırılması sürecinde, daha etkin çözümlerin yolunu açmaktadır. Genomik tıp ve moleküler yaklaşım, hastalıkları ya da kişiler arası farklılıkları, moleküller arasındaki farklılıklar çerçevesinde tanımlayabilmektedir.

Yeni ilaç, aşı ve tanı testlerini geliştirme çabaları sayesinde, hem çok karmaşık biyolojik sistemler daha derinlemesine anlaşılabilmiş, hem de canlılar üzerinde yapılan küçük müdahalelerin canlılık sisteminde ne tür değişiklikler yaptığı ortaya çıkmıştır. Bütün bu çabaların ve bilgi birikiminin sonucunda da daha özel ve daha etkin ilaçların geliştirilmesi gerçekleşmiştir.

Geleneksel ilaç tasarımı, küçük organik moleküller üzerindeki çalışmalara odaklanmıştı. Bugünse, modern biyoteknoloji yöntemleri sayesinde, molekül temellerine göre tanımlanmış birçok hastalık için daha duyarlı tanı yöntemleri ve ilaçlar geliştirme konuları öncelik kazanmıştır. Ekonomik koşullar, ilaç sanayini geniş kitlelere yönelik büyük talep olan ilaçların geliştirilmesi yönüne çekmektedir. Bunun yanında gelişen teknoloji de daha özel, kişiye göre tasarlanmış ilaçların üretilmesine olanak tanımaktadır.

Tıp alanında Biyoteknolojinin kullanıldığı dört temel konu vardır:

* Tanı
* Aşı
* İlaç
* Gen Terapisi

***Tanı:***

Moleküler biyoloji bilgimiz derinleştikçe tıbbi tanı yöntemleri de artık birçok hastalığı, hastalığa yatkınlığı ve genetik bileşenleri daha önceden belirleyebilen, daha etkin, güvenli ve az maliyetli yöntemler olmuştur.

DNA analizini içeren tanıyla doğum öncesinde, bebeğin talasemi, Tay-Sachs, hemofili, kistik fibrozis, orak hücre anemisi, Huntington hastalığı gibi birçok hastalığın taşıyıcısı olup olmadığına ilişkin kesin bilgi verilebilmektedir. Sonuca göre, hamileliğin sürdürülüp sürdürülmemesi ya da ilerideki hamilelikler konusunda yardımcı olunmaktadır. Ayrıca, ileri yaşlarda görülebilecek kalp ve dolaşım bozuklukları ve Alzheimer hastalığı gibi hastalıkların, çevresel etkilerin yanı sıra kalıtsal kökeni olduğu bilindiğinden, uygulanan DNA’ya dayalı tanı yöntemleriyle kişilerin hastalığa yatkınlığı konusunda önemli ipuçları elde edilebilmektedir.

Ayrıca, insan vücudunun biyokimyasal parametreleriyle ilgili tanı testleri de her geçen gün geliştirilmektedir. Örneğin, LDL’nin (low density lipoprotein), öteki adıyla köyü kolesterolün, kandaki miktarını ölçmek için yeni bir test geliştirilmiştir. Eski testlerde başka birçok pahalı testi gerektiren toplam lipid profili gerekmekteydi. Bunun yanında, kan alımından önce hastanın 12 saat aç kalması lazımdı. Biyoteknoloji ürünü yeni testlerle LDL düzeyi artık doğrudan ölçülebilmektedir.

Monoklonal antikor teknolojisine dayalı tanı testleri sayesinde, bugün birbirine çok yakın mikroorganizmalar, hatta alt gruplar birbirinden ayrılabilmektedir. Yine monoklonal antikorlarla, birbirine çok yakın moleküller (örneğin, morfin ve eroin) arasında da ayrım yapılabilmekte ve ilaçların ve metabolitlerinin düzeyi ölçülebilmektedir.

Bugün piyasada bulunan hem monoklonal antikor hem de DNA tabanlı birçok tanı kiti vardır. Bunlar sayesinde hamileliğn yanı sıra; AIDS, hepatit, tüberküloz gibi hastalıklara sebep olan birçok patojen organizmanın kesin olarak belirlenmesi sağlanır; yakın geçmişte geliştirilmeye başlanan testler ile kanserin bazı türlerine (göğüs ve bağırsak kanseri gibi) yatkınlıklar saptanabilir. Böylece müdahalelerin daha hızlı ve etkin yapılması sağlanır. Zaten tanı kitlerinin en önemli özelliği de hızlı ve erişilebilir olmalarının yanı sıra klinik süreçlerle karşılaştırıldığında, hem zaman hem de para tasarrufu sağlamalarıdır.

Tanı testleri ve kitlerinin oluşturduğu tıbbi tanı alanında yakın gelecekte, tanı amaçlı kullanılacak biyoçiplerin de yaygınlaşması beklenmektedir. Normal bir bilgisayar, binlerce matematiksel denklemi nasıl bir saniyede çözebiliyorsa, bir biyoçip de karmaşık bir genetik bilgiyi aynı sürede analiz edebilir. Biyoçipler; idrar, kan ve tükürükte bulunan DNA ile etkileşerek belli bir virüsü, bakteriyi ya da belli bir hastalıkla ilişkili geni belirlenmek için kullanılabilecektir (Şekil 1).



***Şekil 1.*** Hastalık DNA’sını analiz eden biyoçip

 Araştırmalarını bu alana yönelten büyük biyoteknoloji şirketlerinin amacı, fiyatı 20 dolara kadar inebilecek tek kullanımlık biyoçipler üretmektir. İnsan kanındaki hepatit ve başka birçok virüsün tanısını yapmaya yönelik biyoçiplerin yanında, kanser teşhisinde kullanılacak biyoçipler de üretilecektir. Bu teknolojinin tümüyle uygulanmaya konması için en az 10 yıl gerektiği belirtilmektedir.

***Aşı:***

Biyoteknolojinin insan sağlığına bir başka katkısı da yeni aşıların geliştirilmesidir. Her türlü modern aşının dört temel ya da etkin bileşeni olabilir: 1) Cansız mikroorganizma, 2) Zararsız mikroorganizma, 3) Mikroorganizma ürünleri, 4) Saflaştırılmış mikroorganizma bileşenleri.

Tüm bu bileşenler canlının bağışıklık sistemini uyararak antikor üretimine neden olurken canlının, bu antijeni bir anlamda öğrenmesini ve hatırlamasını sağlar. Böylece canlı, o antijene karşı bağışıklık kazanmış olur.

Özellikle birinci ve ikinci grubu içeren klasik aşılar, zayıflatılmış ya da öldürülmüş mikropları (virüs ya da bakteri) içerir. Bu tür aşılar, herhangi bir hastalığa ya da beslenme bozukluğuna bağlı olarak, genel bağışıklık sisteminin güçsüz olduğu bazı durumlarda, vücutta istenmeyen tepkilere yol açabilir.

Etkin bileşeni rekombinant antijen olan biyoteknoloji aşısıysa, mikrobu değil onun bir parçası olan yüzeyindeki bir proteini, antijeni, içerir. Antijenleri labarotuvarda üretme ve izole etme yoluyla, mikrop içermeyen aşılar yapılabilir. Bu özellik, biyoteknolojik aşıları ile bazı durumlarda patojen mikroorganizmaları barındıran standart aşılar karşılaştırıldığında önemli bir özelliktir.

Bugün dünyada, 350 milyondan fazla insan Hepatit B virüsü (HBV) taşımaktadır. Hepatit B virüsü, akut ve kronik karaciğer bozukluğu, siroz ve sonunda kansere yol açan öldürücü bir virüstür. Afrika, Asya ve Pasifik ülkelerinde karaciğer kanserinin başlıca nedenidir. ABD’de kullanılan ilk HBV aşısı, Hepatit B enfeksiyonu olan hastalardan elde edilen plazma bileşenlerinden üretiliyordu. Bu yöntemle aşı üretimi hem masraflı hem de gereksinimi karşılayamayacak düzeydeydi. Günümüzde etkin bileşeni rekombinant antijen olan aşı, bu tür aşıların yerini almıştır. FDA (Food and Drug Administration), Hepatit B için üretilmiş biyoteknolojik aşıyı 1986’da onaylamıştır. Aşı, hepatit antijenini üreten genin, maya hücrelerine nakledilmesi yoluyla üretilmektedir. Fermantasyon sırasında üreyen mayalar antijen genini ve dolayısıyla antijen proteinini de üretirler. Antijen molekülleri, hücrelerden ayrıştırılıp saflaştırıldıktan sonra vücuda verilir. Bu aşamadan sonra vücut, HBV’ye karşı antikor üretmeye başlar ve ona karşı hazırlıklı duruma gelir. Rekombinant aşının ucuz olması ve büyük miktarlarda elde edilebilmesi, aşı programlarına büyük katkı sağlamıştır. Gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerin çoğu bu aşıyı sağlık programlarına almışlardır. Bu nedenle de karaciğer kanserinde önemli oranda düşüş kaydedilmiştir.

Viral enfeksiyona yol açan patojenlerden bir diğeri ise en öldürücü virüslerden biri olan Ebola’dır. Bu viral enfeksiyona yakalanan kişilerin % 90’ı ölmüştür. 1997’de ABD’li bir grup araştırmacı rekombinant teknolojiyle üretilen Ebola aşısının fare ve domuzlar üzerinde yapılan deneylerde başarılı olduğunu göstermişlerdir.

Araştırmacılar grip, AIDS, uçuk, kolera gibi virüslerle ilgili olarak da aşı çalışmalarını sürdürmektedir. Bunlardan AIDS, kanser ve multipl sklerosis (MS) aşılarının çalışmaları klinik deneme aşamasındadır. Kanserle ilgili aşılar ve kişilere özel üretilmiş aşılar da umut vaat etmektedir. Bu tür aşılar kanser hastalarının tümörlerinden üretilir ve kişiye özel olarak kullanılır. Son dönemde yapılan bir araştırmada da, bir grup ABD’li araştırmacı, 1998 yılında genetik modifikasyon ile patatese kendi bünyesinde kolera aşısı ürettirmiştir. Böylece bu aşının ağızdan alınabilmesinin yolu açılmıştır.

***İlaç:***

Biyoteknolojinin en etkili olduğu alanlardan biri belki de ilaçtır. Üretim süreci, mikroorganizmaların ya da canlıların ürettiği maddeleri (örneğin enzim) kapsayan ilaçlar biyoteknoloji ürünü ilaç olarak kabul edilir. Bu alanda genellikle mikroorganizmalar, tümör hibridleri ya da beyaz kan hücreleri kullanılır. İlaç biyoteknolojisinin amaçları, yeni ilaçlar geliştirmek ve kullanılan ilaçların daha güvenli ve etkili çeşitlerini üretmektir.

İlaç biyoteknolojisinin tarihi, Alexander Fleming’in penisilini keşfetmesiyle başlar. 1970 lerde yapılan iki önemli çalışmayla modern ilaç biyoteknolojisinin temelleri atılmıştır. Bunlardan biri, genetik materyalin farklı türler arasında aktarılması, diğeri de tümör ve bazı beyaz kan hücrelerinin birleştirilmesiyle oluşturulan “hibridoma”lardan çeşitli hastalıklara karşı değişik antikorların üretilmesidir. Günümüzde bu alanda artık, genetik klonlama ve rekombinant DNA teknolojileri kullanılmaktadır. Bu tür teknolojilerle üretilen ilaçlara rekombinant ilaç denir ve bazı sitokinler (bitki ve hayvan hücrelerinden alınan protein ve peptitler), enzimler, hormonlar, kan pıhtılaşma faktörleri ve monoklonal antikorlar bu tür ilaçlara örnek olarak verilebilir. Rekombinant DNA (rDNA) teknolojisi ilaç biyoteknolojisine büyük yenilik getirerek, insan vücudunun ürettiği maddelerin daha arı, daha güvenli ve daha etkili versiyonlarının üretilmesine olanak tanımıştır. Şu anda FDA onaylı anemi, kistik fibrozis, büyüme yetersizliği, hemofili, doku nakli reddi ve kanserin pek çok türünü tedavi etmek üzere çok sayıda rekombinant ilaç vardır; onlarcası da klinik deneme aşamasındadır.

İnsan Genom Projesi:

Proje, insan genomundan 175.000 baz çiftlik parçalar yapay bakteri kromozomlar haline getirip bakterilerde çoğaltılarak gerçekleştirilmiştir. Dizi çözümlemeleri yapıldıktan sonra, parçaların birbiriyle örtüşen dizileri belirlenmiş ve her parçanın özel enzimlerce kesilme profili kaydedilerek genomdaki yeri saptanmıştır. Bu çalışmalar, insanın genetik yapısının vücudun belirli ilaçlara karşı tepkisinin nasıl olacağını anlamak için yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar kişiye özel ilaç tasarlanabileceği umudunu vermektedir. Örneğin, insan genomunda her 100-300 nükleotitte bir görülen nükleotit polimorfizmlerinin hücrenin işlevini etkilemediği ama bazı hastalıklara olan yatkınlığı ve bir takım ilaçlara olan tepkiyi etkileyebileceği düşünülmektedir.

Ancak bu projeye, doğanın doğal düzenini tehlikeye atacağı ve istihdamdan sigortaya kadar günlük yaşamın her alanında “genetik ayrımcılığa” yol açacağı gerekçeleriyle kaşı çıkanlar bulunmaktadır.

İlaç biyoteknolojisindeki gelişmeler sonucunda üretilen ilaçlarla kronik ve tedavisi olmayan hastalıkları iyileştirilebilecek ve bir yandan da insan sağlığını korumak için yeni çözümler üretilebilecektir. Biyoteknoloji yöntemleri hem ilaç hem de ilaç mekanizması keşfinde kullanılmaktadır. Bu durumda, rekombinant reseptörlerin yerleştirildiği hücreler organik madde taramasında kullanılıp yeni farmasötik maddeler geliştirilmektedir.

Kan Büyüme Faktörleri ve Biyoteknolojinin Katkısı

Büyüme faktörleri, kimyasal mesajları ileten moleküllerdir ve kan hücrelerinin büyümesini, olgunlaşmasını ve çoğalmasını sağlar. Vücudun enfeksiyonlar ile mücadele etme yeteneği yetersiz kaldığında ya da vücut gerekli bir mesajcıyı üretemediğinde büyüme faktörleri tedavi amaçlı kullanılır.

Büyüme faktörleri, insan kanında çok ufak miktarlarda olduğu için ticari amaçla izole edilip saflaştırılması neredeyse olanaksızdır. Bu noktada rDNA teknolojisi ile istenilen protein (büyüme faktörü) hayvan, bakteri ya da maya hücresi gibi taşıyıcı bir organizmaya aktarılır. Taşıyıcı organizma, protein üretme mekanizmalarını kullanarak kendi proteinleriyle birlikte insan proteinin üretilmesini de sağlayabilir.

Örnek olarak böbreğin ürettiği eritropoyetin (EPO) proteini verilebilir. Alyuvarların üretimini tetikleyen EPO’nun eksikliği birçok böbrek hastalığında gözlenir ve kansızlığa yol açar. Önceden EPO eksikliğinde hastalar için tek çözüm kan nakliyken biyoteknoloji yöntemleri sayesinde EPO elde edilerek hastalara verilmektedir.

Bağışıklık ve enflamatuar sistemleriyle ilgili birçok büyüme faktörü şu anda geliştirilme aşamasındadır. Ürünlerin sayısı ve kullanım alanları her geçen gün artmaktadır. Ticari amaçların da etkisi ile çalışmalar kanser ve bağışıklık sistemi gibi tedavisi daha zor alanlara yönelmektedir.

***Gen Terapisi***

Hastalıkları ve belirtilerini tedavi etmek ya da kontrol etmek için ilaç kullanmak yerine hastanın genetik yapısının değiştirilmesi ya da hücrelerine eksik olan genin verilmesi, gen terapisi olarak adlandırılmaktadır. Günümüzde gen terapisi, artık ilaç tedavisiyle transplantasyonun birleşimi olarak düşünülmekte ve somatik (vücudu oluşturan) hücre tedavisi olarak gerçekleştirilmektedir. Gen terapisinin uygulanabileceği 4000 civarında tek gene bağlı genetik hastalık bulunmaktadır.

Gen terapisinin başarılı olması için aktarılacak genin saptanması, genin belli yöntemlerle hedef hücrelere aktarılması, genin işlerliğinin kontrol edilmesi ve aktarılan genin yaratacağı yan etkilerinin saptanması gibi birçok aşama gereklidir. Gen terapisi henüz geliştirilme aşamasındadır. Bu konuda aşılması gereken zorluklar bulunmaktadır; gen transferi için kullanılan tekniğin belirlenmesi, aktarılacak genlerin vücutta belirlenen hedeflere gitmemesi, aktarılan genin gereğinden fazla çalışması ve bağışıklık sistemini harekete geçirmesi.

Gen terapisinde tam anlamıyla başarıya ulaşmış ilk örnek 2000 yılında Fransız bilim adamlarının geliştirdiği teknoloji ile 8 ve 11 yaşlarındaki akut bağışıklık yetersizliği görülen iki çocuğun kemik ilikleri alınarak kemik iliği hücrelerine eksik gen aktarılmış ve genetik yapısı değiştirilen kemik iliği hücreleri de yeniden kemik dokusuna nakledilmiştir.

Hastaya aktarılan bir gen sayesinde hastanın vücudunda belli bir proteinin ya da başka bir maddenin üretilmesi sağlanabilir. Bunun dışında, hastaya aktarılan bazı genler sayesinde belirli hücreler ürettikleri protein nedeniyle ölmekte ya da bazı maddelere karşı duyarlı hale getirilmektedir. Bu uygulamanın kanser tedavisinde kullanılması yönünde çalışmalar sürdürülmektedir.

Tanı, aşı, ilaç ve gen terapisi dışında biyoteknolojinin tıp alanında uygulamaları ile ilgili biyoinformatik, biyoçip ve biyomateryaller gibi alanlar da vardır.

***Biyoinformatik:*** Bilgisayar teknolojisinin biyolojik bilginin işlenmesi amacıyla kullanılmasıdır. Bu amaçla bilgisayarlar, biyolojik ve genetik bilginin elde edilmesi, saklanması ve analiz edilmesi için kullanılır. Biyoinformatiğe olan gereksinim, İnsan Genom Projesi sonucu ortaya çıkan genetik bilginin işlenme sorunuyla artmıştır. Daha sonra genetik hastalıkların anlaşılması ve kişinin genetik yapısına özgü ilaç tasarımı gibi konular için de kullanılması düşünülmüştür. Biyoinformatik, moleküler biyoloji ve bilgisayar bilimlerinin kaynaşmasıyla oluşmuş, çok değişik uygulama alanları bulunan disiplinlerarası bir daldır.

***Biyoçip:*** Biyoçip teknolojisi, birçok genetik testi minyatür olarak gerçekleştirmek amacıyla, yarı iletken çip kullanılmasıdır. Birçok kısa DNA zincirini kendisine bağlayan biyoçipler üretilebilmektedir. Bu çipler, gerçek DNA örnekleri için bir test tüpü görevi görürken, DNA örneklerinin çipteki hangi noktaya bağlandığı özel bir mikroskopla görülmektedir. Biyoçiplerin, insan DNA’sındaki 29000 – 100000 genin saptanmasını büyük ölçüde hızlandırması beklenmektedir. Biyoçipler sağlık, tarım ve çevre alanında da kullanım alanları bulacaktır. Biyoçipler sayesinde, enfeksiyonlar, topraktaki tarım ilacı miktarı ve çevre kirliliğine yol açan pek çok madde saptanabilecektir.

***Biyomateryaller:*** Canlı dokuyla ilişkiye girme kapasitesi olan doğal ya da yapay materyallerdir. Bu maddeler, son yıllarda, tıp cihazları endüstrisine büyük katkı sağlamışlardır. Günümüzde biyomateryaller yalnızca anatomik yapıların yerine geçmekle kalmayıp, aynı zamanda vücuttaki yenilenme yeteneği olmayan doku ve organların doğal yenilenme mekanizmasını da uyarırlar. Biyomateryaller, biyoteknoloji ve tıp cihazları endüstrisi arasındaki kesişim alanı olarak değerlendirilmekte ve tıbbın her alanında geniş kapsamlı bir etkiye sahip olmaları beklenmektedir.

**TARIM ALANINDA BİYOTEKNOLOJİ**

Biyoteknolojideki gelişmeler sayesinde bir organizmadan, diğer organizmalara uygun genlerin aktarması mümkün hale gelmiştir. Bu teknolojiyi mısır ve pamukta olduğu gibi zararlılara dayanıklı ve soyada olduğu gibi herbisitlere dayanıklı çeşitlerin geliştirilmesi için kullanılmıştır. Fakat bugün bu teknoloji, bitki ve hayvanları çok farklı amaçlar yönünde değiştirmek ve geliştirmek için kullanılmaktadır. Bu çalışmaların sonuçları özellikle son yıllarda yoğun olarak tartışılmaktadır.

Geleneksel bitki ıslahının amacı yeni özelliklere sahip bitkilerin elde edilmesi ve bunlar arasından istenen özelliklere sahip bitkilerin seçilmesidir. Bu amaca ulaşmak için istenen özellikleri taşıyan ebeveyn bitkiler birbirleriyle melezlenmekte ve elde edilen döllerin, ebeveynlerin özelliklerini birleştirilmiş şekilde taşıyıp taşımadığına bakılmaktadır. Fakat bu yöntem kullanıldığında; ebeveynlerden döllere istenilen özelliklerin yanında istenmeyen özellikler de aktarılmaktadır. Daha sonra istenmeyen özellikler geriye melezleme yoluyla elemine edilebilmektedir. Ancak bu durumda uzun bir zaman sürecine ihtiyaç vardır.

Son yıllarda, geleneksel ıslah metotları ile kombine edilmiş mutasyon, protoplast kültürü, besi ortamında tozlanma ve döllenme, embriyo kültürü ve gen teknolojisi kullanılmaktadır. Özellikle gen teknolojisi metotlarının kullanımındaki fayda ve riskler üzerine farklı sosyal tabakalarda tartışmalar yapılmaktadır. Bu tartışmalar;

a) Belirli bir genin kontrollü olarak aktarılması, geleneksel melezleme çalışmalarına göre genetik materyaller arasında beklenmedik olayların ortaya çıkmasına daha az ihtimalle sebebiyet vereceği,

b) Alıcı bitkiye yabancı bir genin aktarılması sonucu bu bitkide bir toksinin oluşma ihtimalinin bulunduğu,

c) Bu bitki kullanılarak elde edilen gıdaların tüketilmesi sonucu insanlarda ve diğer canlılarda gıda alerjilerinin olabileceği,

d) Suni olarak aktarılan bu genin yabani bitkilere polen akışı nedeniyle geçebileceği ve bu yolla beklenmedik çevresel tehlikelerin ortaya çıkabileceği konusunda yoğunlaşmaktadır.

Yeni teknoloji kullanımının ekonomi ve toplum üzerine etkisini tartışmada veya insanın yapabileceği işlerin sınırlarını belirtmede herkes fikir beyan etmek için kendisini yeterli görebilir. Ancak bir genin ve genetik bilginin bir bitkiye aktarıldığında nasıl bir sonucun ortaya çıkacağını tahmin edebilmek için konuya ilişkin belli bir bilgi birikimine sahip olmak gerekir. Fakat bu bilgi birikimi dikkate alınmadan tartışma grupları; transgenik bitkilerin kullanımı ile tarımda doğabilecek yeni imkanların vazgeçilmez olduğunu savunmakta, doğayı sunileştirmenin insanlık suçu olduğunu ifade etmekte ve aynı fikre sahip araştırmacıların bir araya gelip gelecekte kendilerinin yapacağı araştırmalara karşı toplumda oluşacak tepkilere karşı düşünce geliştirdikleri düşünülerek bilirkişi gruplarına güvenilemeyeceğini vurgulamaktadırlar.

**GENETİK YAPISI DEĞİŞTİRİLMİŞ ORGANİZMALAR**

Genetik mühendisliği yöntemleriyle bünyelerine yabancı genler dahil edilerek “genetik yapıları” değişikliğe uğratılan ve bu yabancı genleri genomlarına sabit olarak entegre eden ve bu özellikleri gösteren bitki, hayvan ve mikroorganizmalar, genetik yapısı değiştirilmiş organizma olarak adlandırılmaktadır Genetik yapısı değiştirilmiş organizmalar;

a) Genetik Yapısı Değiştirilmiş Organizma (GDO),

b) Değiştirilmiş Canlı Organizmalar (DCLMO)

c) Genetik Olarak Modifiye Edilmiş Mahsüller (GM)

olmak üzere değişik isimlerle isimlendirilirler.

Genetik yapısı değiştirilmiş organizmalar bitkiler, hayvanlar ve mikroorganizmalar olarak üç ana grupta incelenmektedir.

**Genetik Yapısı Değiştirilmiş (Trangenik) Bitkiler**

Organizmaların moleküler yapı taşlarının (DNA) gen teknolojisi ile değiştirilmesi 1970’lı yılların başında E. coli bakterisinin genomlarının klonlanması ile gerçekleşmiştir. Bitkisel üretimde, genetik mühendisliği yöntemleri kullanılarak gıda üretimi ilk defa 1960’lı yılların başında gerçekleştirilmiştir. 1967 yılında mevcutlara göre daha yüksek kuru madde ihtiva eden cips amaçlı kullanılabilen patates geliştirilmiştir. Daha sonraki yıllarda mevcuttan daha iyisini elde etmeye yönelik olarak yapılan çalışmalar devam ederek; 1982 yılında rekombinant insülin piyasaya çıkarılmış (Hoffman, 1997). Gen transfer edilmiş bitkilerin tarla denemelerine ilk defa 1985 yılında başlanmıştır. Amerika Gıda ve İlaç Dairesi (FDA), 1994 yılında, genetik mühendisliği ile üretilmiş ilk gıda olan Flavr Savr Domatesine onay vermiştir. Ticari anlamda bitkisel üretim ise 1996 yılında başlanmıştır.

Daha iyi ürünler elde etmeye yönelik çalışmalarda birçok disiplinden yararlanma yoluna gidilmiştir. Nitekim 1902 yılında Japonya’da keşfedilen gram pozitif bir bakteri (Bacillus thuringiensis)’nin sahip olduğu bir genin (Bt) biyo-insektisit gibi bazı böceklere karşı doğal olarak dayanıklılık sağladığı belirlenmiştir. Bu gen daha sonra kültür bitkilerine transfer edilerek, kültür bitkilerinin çeşitli böceklere karşı dirençlerinin artırılması hedeflenmiştir. Bu tür uygulamaların insan, hayvan ve hedef dışı fauna üzerinde etkisiz olmalarına karşın sınırlı kalıcılıkları kullanımlarını kısıtlayan en önemli faktördür. Halen kullanılmakta olan biyo-insektisitlerin % 90’nı Bt genlerinin farklı versiyonlarından oluşmaktadır. Bugün Bt endotoksinleri toplam insektisit pazarının %5’ini oluşturmaktadır. Bt genlerinde olduğu gibi, bir başka organizmadan (Streptomyceses S. hyroscopicus) izole edilen Bar genleri de bitkilerin herbisitlere karşı dayanıklılığını artırmak amacıyla kullanılmaktadır. Nitekim Bar genleri, aktarıldığı bitkiyi bazı herbisitlere karşı dayanıklı hale getirmektedir.

Genetik Yapısı Değiştirilmiş Bitkiler üzerine yapılan çalışmalardaki amaç bitkileri hastalık ve zararlılara dirençli, tarımsal üretim maliyetlerini azaltarak, elde edilecek ürünün görünüşünü, besin değerini, işleme veya muhafazaya ilişkin özelliklerini iyileştirmek suretiyle ürün kalitesini yükseltmektir.

|  |
| --- |
| **Genetiği Değiştirilmiş Bitkiler** |
| **Tarla Bitkileri** | **Meyve** | **Sebze** | **Süs Bitkileri** |
| Arpa | Elma | Patlıcan | Krizantem |
| Darı | Muz | Karnabahar | Geranie |
| Mısır | Armut | Brokoli | Gerbera |
| Çeltik | Çilek | Chicoree | Karanfil |
| Çavdar | Ahududu | Bezelye | Pelargonie  |
| Sorgum | Kiraz | Havuç | Petunya |
| Buğday | Kivi | Patates | Nergis |
| Pamuk | Kavun | Lahana | Gül |
| Pancar | Portakal | Marul | Menekşe |
| Turp | Papaya | Kabak | Çim |
| Yonca | Erik | Zeytin |  |
| Kolza (Kanola) | Yaban Mersini | Domates |  |
| Şalgam | Karpuz | Taze patates |  |
| Hardal | Üzüm |  |  |
| Fasulye |  |  |  |
| Tütün |  |  |  |
| Şeker pancarı |  |  |  |
| Şeker kamışı |  |  |  |

**Türkiye’de Transgenik Bitkiler:**

Türkiye’de Transgenik Bitkilerle ilgili mevzuat hazırlığı çalışmalarına 31 Mart-1 Nisan 1998 tarihinde, Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü bünyesinde organize edilen ve ilgili araştırma kuruluşları ve genel müdürlükler ile üniversitelerden temsilcilerin katılımıyla yapılan “Transgenik Bitkiler ve Güvenlik Önlemleri” konulu toplantı ile başlanmıştır. Toplantı sonucunda; Transgenik bitkilerin ve ürünlerin ülkemize girişlerinde ne gibi teknik uygulamaların yapılacağına ilişkin görüş ve raporların hazırlanmasına karar verilmiştir. Belirlenen ana esaslar çerçevesinde teknik uygulamalara temel teşkil edecek görüş ve raporlar oluşturulmuştur. Bu çalışmalara paralel olarak “Genetik Yapıları Değiştirilmiş Organizmaların Üretilmesi, Pazara Sürülmesi ve Gıda Olarak Kullanımı” ile ilgili mevzuat çalışmaları da son aşamasına gelmiştir.

Türkiye’de hazırlanan mevzuat kapsamında transgenik bitkilerin alan denemeleri, 1998 yılından itibaren, Tarım Bakanlığına bağlı Araştırma Enstitüleri tarafından yürütülmüştür. Transgenik bitkilerinin alan denemeleri ile ilgili herhangi bir aksaklığa meydan vermemek için, “Bitki Çeşitlerinin Tescil Edilmesine İlişkin Yönetmelikte” gerekli değişiklikler yapılıncaya kadar, “Transgenik Kültür Bitkilerinin Alan Denemeleri“ ile ilgili talimatın aksayan yönlerinin düzeltilmesi amacıyla adı geçen talimatta yapılan değişiklikler 25. 03. 1999 tarihinde yürürlüğe girmiştir. 1999 yılında, Pamuk Araştırma Enstitüsü tarafından Nazilli’de ve Harran Tarımsal Araştırma Enstitüsü tarafından Akçakale’de pamuk, Çukurova Tarımsal Araştırma Enstitüsü tarafından Adana’da mısır ve pamuk ve Patates Araştırma Enstitüsü tarafından Niğde’de patates alan denemeleri başlamıştır. Bu ürünlerde risk analizi ve risk değerlendirmesi yapılabilmesi için gerekli gözlem ve ölçümler yapılmaktadır. Ayrıca gıda eşdeğerliliğinin tespit edilebilmesi için de gerekli analizler ilgili laboratuvarda yapılacaktır. Denemelere alınan transgenik bitkilerde bulunan ilave özellikler, pamukta yabancı ot ilacına, pembe ve yeşil kurda dayanıklılık, mısırda sap kurdu ve koçan kurduna dayanıklılık, patateste ise patates böceğine dayanıklılıktır.

**Transgenik Bitki Geliştirmenin Nedenleri**

Binlerce yıldan beri insanlar bitkilerin genetik özelliklerini ıslah ile değiştirmişlerdir. Takip edilen bu yol oldukça başarılı olmuştur. Ancak bu yol, eşeysel uyumlu ve yakın akraba bitkilerin melezlenmesi esasına dayanmaktadır. Dolayısıyla bir süre öncesine kadar, farklı türler arasında özelliklerin aktarılması mümkün olmamıştır. Gen teknolojisi bu engeli ortadan kaldırmış ve araştırıcılara bitki genlerinde belirlenmiş değişiklikleri yapabilme fırsatı vermiştir. Araştırıcılar da bu fırsatı; artan dünya nüfusunu beslemek ve giydirmek için kültür bitkilerinin verimini ve kullanılabilirliğini artırmak yönünde kullanmaya çalışmışlardır.

Bitkilerin genetik olarak manipüle edilmesinde birçok bilim dalından yararlanılmaktadır. Ancak bitkilerde gen teknolojisini başarılı olarak uygulanabilmesi için genleri bitkilere aktarabilecek uygun yöntemlere ve üzerinde çalışılan sistem hakkında detaylı moleküler genetik bilgiye sahip olmak gerekir.

**Bitki Gen Teknolojisindeki Hedefler**

Bitkilerde uygulanan gen teknolojinin hedefleri mevcuda göre daha üstün özelliklere sahip bitkilerin geliştirilmesidir. Üzerinde durulan karakterler ve yapılan çalışmalar aşağıdaki gibi ana başlıklar altında özetlenebilir.

***Zararlılara dayanıklılık***

Böcekler, bir taraftan bitki dokularını yiyerek bitkilere mekanik zarar vermekte, diğer taraftan virüs, mantar ve bakteri gibi hastalık etmenlerinin bulaşmasına sebep olmaktadır. Böceklere dayanıklı bitkilerin elde edilmesinde, zararlı böceklere karşı kullanılan toksinler ve etki mekanizmaları kullanılmaktadır. Bacillus thuringiensis, belli böcekler için toksik olan, fakat diğer hayvanlar ve insanlara zarar vermeyen bir madde oluşturmaktadır.

Bu özelliğinden yararlanarak farklı bitki türlerinde zararlı böceklere karşı dayanıklılık oluşturulabilmiştir. Bütün böcekler için toksik olmayan Bt toksinlerine alternatif proteaz inhibitörlerinin aktarılmasında yatmaktadır. Bunlar arasında Vigna. sinensis’e ait bir tripsin inhibitör protein geni, patates ve domatesten yara ile oluşan proteaz inhibitör aileleri olan OI-I ve PI-II ve belli Serin-Proteinaz inhibitörleridir. Antimetabolitik enzimler, örneğin böceklerin önemli sindirim enzimlerini engelleyerek normal böcek fizyolojisini etkilemektedirler. Diğer başka insektisit dayanıklılık geni olarak Streptomyces türlerinden bir Kolesterol-Oksidaz geni ve bezelyeden bir lektin geni izole edilebilmiştir. Lektinler böcek bağırsağında besin bileşiklerini bağlamakta ve normal sindirimi bozmaktadırlar.

Böylece bu tip bir proteini içeren bitkiler böcek zararından korunmaktadırlar. Bu genlerin aktarılması ve transgenik bitkilerde çoklu dayanıklılık sisteminin geliştirilmesi ile zararlı böcek popülasyonlarında dayanıklılığın hızlı bir şekilde gelişmesi engellenmek veya uzatılmak istenmektedir.

***Hastalıklara Dayanıklılık***

Bitkiler patojen enfeksiyonunu sınırlamak için farklı teşvik edilebilen savunma mekanizmalarına sahiptirler. Bunlar arasında hücre duvarlarının ligninleşmesi, küçük antibiyotik moleküllerin üretilmesi, yaralanmış bölgedeki konukçu hücrelerin ölmesi ve reaktif oksijen türlerinin üretilmesi sayılabilir. Virüsler, bakteriler, mantarlar ve nematotlara (solucanlara) karşı sistematik olarak edinilen dayanıklılık birçok sayıdaki dayanıklılık geninin beraber hareket etmesiyle ortaya çıkmaktadır

Virüsler, mantarlar ve bakteriler özellikle meyveler ve sebzelerde büyük zararlar yaparlar. Virüsler, bir bitkiden diğer bitkiye bulaşmak için böcek gibi aracılara ihtiyaç duyduğundan bunlara karşı genel olarak dolaylı yollarla mücadele yapılmaktadır. Mantar ve bakterilerin bitkilere bulaşması olayında konukçu-patojen ilişkisinin ön plana çıkması nedeniyle dayanıklılığın gen teknolojisi kullanılarak aktarılması, böcek ve virüslere göre daha az başarılı olmuştur

***Herbisitlere Dayanıklılık***

Tarımsal alanlarda yabancı otlar nedeniyle verimde oluşan kayıp dünya çapında % 10-15 olaraktahmin edilmektedir. Geniş alanlarda yapılan tarımda bu nedenle genelde yabancı ot kontrolü için herbisitler kullanılmaktadır. Seçici olarak etki eden herbisitler (Bromoksinil, Sulfonylharnstoffe), belli morfolojik ve fizyolojik özelliklere sahip yabancı otları öldürmektedirler. Bazı seçici herbisitler uzun süre toprakta kalabildiklerinden taban suyuna karışmakta ve dayanıklı yabancı otların ortaya çıkması tehlikesini doğurmaktadır. Total herbisitler ise toprakta çabucak çözünmektedirler. Fakat bunlar hem yabancı otlar hem de kültür bitkileri için aynı derecede toksiktirler. Herbisitlere dayanıklı transgenik bitkiler, herbisitlerdeki etkin maddeyi inaktif hale getiren ve herbisitin hücum ettiği alanı herbisit zarar meydana getirmeyecek şekilde değiştiren proteinleri kodlayan dayanıklılık genlerine sahiptirler. Bu dayanıklılık genleri ya mikroorganizmalar ya da doğal olarak dayanıklı bitkilerden izole edilmektedir.

***Strese Dayanıklılık***

Çevreden kaynaklanan strese maruz kalan bitkiler kendilerini korumak için stratejiler geliştirirler. Sıcaklık, soğuk, su eksikliği, yüksek tuzluluk veya ağır metallere karşı yüksek toleransın bitkilere aktarılması bunların marjinal alanlarda yetiştirilmesini mümkün kılacaktır. Gen teknolojisi kullanılarak ekstrem koşullara toleranslı bitkilerin geliştirmek henüz başlangıç safhasındadır. Strese karşı daha yüksek bir tolerans, antioksidanların oluşumunu sağlayan enzimleri kodlayan genlerin aktive edilmesiyle sağlanmaktadır. Nicotiana tabacum’a Mangan- SOD geninin aktarılması ile ozon zararı 3-4 kat azaltılabilmiştir. Bitkilerin sıcaklık, tuzluluk veya soğuk stresi altında su düzeyinin dengede tutulmasında osmolitik maddeler büyük öneme sahiptir. Osmolitik maddeler, suyu bağlayabilmekte ve proteinlerin yapılarının korunmasında su moleküllerinin yerini alabilmektedirler. Osmolitik maddeler çoğunlukla şeker ve amino asit döngüsünden oluşan düşük moleküler bileşiklerdir. Mannito-Hidrogenaz oluşumu için bir genin bitkiye aktarılmasıyla bir şeker alkolü olan mannitol birikmekte ve bu birçok bitkide kurağa karşı dayanıklılığı ortaya çıkarmaktadır.

Soğuğa karşı toleransı artırmak için kloroplast membranlarının lipitler ile doyurulmasına katkıda bulunan genler uygundur. Kloroplastların, tilakoid membranının oluşturulmasıyla ilgili yağ asitleri ne kadar fazla doymuşluk derecesine sahip ise soğuğa karşı hassasiyet ve buna bağlı olarak fotosentezin durdurulması azalmaktadır. Kabaktan, tütüne gliserol-3-fosfat-asiltransferaz oluşumu için DNA’nın aktarılması buna örnek olarak verilebilir.

Model bitki arabidopsis thaliana‘da soğuğa karşı korunmada genlerin harekete geçirilmesinde anahtar rol oynama ihtimali olan bir düzenleyici gen (CBF1) izole edilmiştir.

Tuza karşı dayanıklılığın artırılması için farklı stratejiler mevcuttur. Transgenik çeltikte örneğin Glutamin-Sintataz enziminin fazla ürettirilmesi ile tuza karşı tolerans arttırılmıştır. Athrobacter globiformis’den Arabidopsis’e Cholinoxigenaz geninin aktarılması bitkilerde Glisinbetainlerin birikimine ve böylece tuza karşı dayanıklılığın artmasına sebep olmuştur.

Bitkilerde ağır metallere karşı toleransı artıran genlerin aktarılması ile sadece kirlenmiş topraklarda bitkilerin iyi yetişmesi sağlanmaz. Aynı zamanda aşırı kirlenmiş toprakların iyileştirilmesi de sağlanmış olur. Bitkilere özel zehirlenmeyi ortadan kaldırma mekanizması ağır metallerin fitojelatinlere (örneğin organik asitlere) bağlanması ve bunların hücrelerin vakuollerinde biriktirilmesidir. Methalotionein genlerinin tütüne aktarılmasıyla bu bitkide Cadminyuma karşı tolerans artırılmıştır. Liriodendron tulipifera’ya civaya karşı dayanıklı bir bakteriden civa redüktaz geninin aktarılması ile toksik civa konsantrasyonlarına karşı tolerans elde edilmiştir

***Erkek Kısırlığı***

Geniş alanlarda hibrit tohum üretmenin ön şartı, tohum elde edilecek bitkinin, kendini tozlamasını engelleyecek bir mekanizmaya sahip olasıdır. Erkek kısırlık geninin, özel bir gene bağlanması ve bu genin bir hibrit döle aktarılması ile % 100 steril döl elde edilebilir. Her iki hattan birinin % 100 erkek kısır, diğerinin % 100 döllenebilmesi yanında F1 hibrit bitkilerin fertilitesi saf hatları muhafaza etmek için restore edilebilmelidir. En iyi karakterize edilen ve pratik olarak kullanımda olan sistem Barnase-Barstar sistemidir.

***Verim***

Bitkilerde verimin oluşmasında fotosentez, solunum ve azot fiksasyonu önemli rol oynar. Fakat bu mekanizmalar oldukça karmaşık olup moleküler temelleri henüz tam anlaşılamamıştır. Örneğin “azot fiksasyonu” özelliğinin bitkilere aktarılabilmesi için bakterilerinden bitkilere anahtar enzim olan Nitrogenazı kodlayan bir çok yapısal protein (nifH, D,K) geni aktarılmalı ve bunların etki şekli koordine edilmelidir.

Bakterilerde nodülasyon faktörlerinin etki alanının değiştirilmesi ile önemli kültür bitkilerinde nodülasyon sağlanmıştır (Hoffmann, 1997). Chlorella sorokiniana alg’ınden izole edilen ve bitkilere aktarılan bir gen azotu değerlendirme oranını artırmaktadır. Çeltikte belli proteinlerin oluşumunu engelleyen ve dane olum dönemini uzatan bir geninin aktarılması ile verim artırılmıştır.

***Kimyasal İçerik***

Besin maddelerinin kalitesini değiştirmede kullanılan yöntemlerdeki amaç içerik maddelerini beslenme fizyolojisi açısından veya gıda fizyolojisi açısından daha uygun formlara dönüştürmek veya bitkilerde bulunmayan ya da az bulunanlara aktarmak veya zenginleştirmektir. Bu konuda yapılan bazı çalışmalar çizelgede verilmiştir.



Bitkilerdeki şeker ve nişasta metabolizmasının değiştirilmesinde, sadece bir nişasta formu (amiloz veya amilopektin) üzerinde durulmaktadır. Bu da nişastanın gıda ve kimya sanayinde kullanımını kolaylaştırmaktadır. Bakteriyel bir genin aktarılması ile patateste Cyclodextrin üretilebilmektedir. Cyclodextrin gıda ve eczacılık sanayinde uçucu maddelerin veya aromatik bileşiklerin stabilize edilmesinde veya istenilmeyen maddelerin (acılık, kolesterin) uzaklaştırılmasında kullanılmaktadır. Özellikle gelişmekte olan ülkelerde insan sağlığı açısından önemli olan vitaminler, mineral maddeler ve iz elementleri yeterince alınamamaktadır. Örneğin dünya nüfusunu besleyen bitkilerin başında gelen çeltik, çok az miktarda A vitamini içermektedir. Ayrıca tahılda bulunan Fitat nedeniyle demirin kullanımı etkilenmektedir. Bu nedenle ß-karotin üreten ve daha fazla demir biriktiren ve kullanılabilirliğine sahip çeltik geliştirmek amaç olmuştur. Sonuçta Golden Rice adında bir çeltik elde edilmiştir.

Değiştirilmiş yağ asidi kompozisyonuna sahip bitkiler ticari olarak satılmaktadır. Beslenme fizyolojisine veya endüstriye uygunluk bakımından örneğin C10 ila C22 atomlarını içeren yağ asitlerine sahip kolza çeşitleri geliştirilmiştir (Wenzel ve Mohler, 2001). Yağ asitleri kompozisyonların değiştirilmesinde, geriye dönüş sebebiyle istenmeyen sonuçlar ortaya çıkmaktadır. Yağ asitleri metabolizması ile ilgili belirlenen enzimler yanında serbest ve membrana bağlı olan yağ asitlerinin değişimini sınırlayan mekanizmalar vardır. Bitkilerdeki protein kompozisyonunun değiştirilmesinde hedef amino asitlerdir. Özellikle Lisin birçok gıda maddesinde ve yem bitkisinde yeterli miktarda bulunmamaktadır. Birçok araştırmada hedef Lisin biyosentesinde rol oynayan bir enzimi bitkilere aktararak tanedeki Lisin oranının artırılmaktır.

***Olgunlaşma***

İlk yapılan transgenik değişikliklerin amacı ürünlerin dayanıklılık ve depolama süresini ve de tadını değiştirmek amacıyla olgunlaşma süresi üzerinde yoğunlaşmıştır. Olgunlaşma süresinin geciktirilmesi ile ilgili başlangıç noktası bitkilerdeki etilen oranının düşürülmesidir. Bu da doğal enzim proteininin oluşumunu engelleyen domates kökenli Aminosiklopropan-Karboksilat-Syntaz27 (ACC) geni ile başarılmıştır. Alternatif olarak ACC-Deaminaz enzimi oluşumu için bitkilere bakteriyel bir gen aktarılabilir ki bu etilen oluşturan enzim ile ACC maddesi için reka-bete girer ve ACC’yi α-Ketobytrata dönüştürür.

Olgunlaşma süresi ile ilgili diğer bir yol Polygalaktorunaz enziminin engellenmesidir. Bu enzim Pektinin ana unsuru olan Polygalakturonik asidi parçalamakta ve bu sayede meyvelerin yumuşaması gecikmektedir. Polygalakturonaz oluşumunu kontrol eden bir geninin domatese aktarılması ile ABD’de ilk kez gen teknolojisi kullanılarak değiştirilen bir gıda ürünü Flavr Savr R domatesi tescil edilmiştir.

***Zehirli ve Alerjik Maddeler***

Bitkilere, kaliteyi etkilemesi yanında içerik maddelerinin hazmını veya kullanılabilirliğini sınırlayan, toksik etki gösteren veya bazı insanlarda tüketildiğinde alerjik reaksiyonlara sebep olan bir dizi madde bulunmaktadır. Gen teknolojisi kullanılarak bu tip maddelerin oranının azaltılması veya daha az toksik veya alerjik etki yapan formlara dönüştürülmesi hedeflenmiştir. Zehirli maddeler arasında tahıllar ve sebzelerde bulunan demir gibi önemli mineral maddelerin alımını engelleyen fitin asit bileşikleri (Fitat) vardır. Fitaz enziminin ilave edilmesiyle tohumdaki fitin asit oranı çeltikte olduğu gibi azaltılabilmektedir. Glikoalkaloidler patates ve domateste bulunan toksik maddelerdir. Patateste Glikolalkaloidi Alpha-Chaconin bakımından anahtar enzim olan UDP-Glukoz-Glucosiltransferazın etkisi bir genin aktarılması ile durdurulabilmiştir. Bilinen allergenlerin birçoğu protein yapısında olup, tahıllardaki Gluten28, soya, yer fıstığı ve cevizden elde edilen proteinlerdir. Antisens RNA teknolojisi sayesinde çeltikte alerjik etki yapan proteinin oranı azaltılabilmiştir.

***Yenilenebilir Ürünler***

Gen teknolijisinin diğer bir kullanım alanı da endüstriyel proteinler, yağlar, karbonhidratlar ve yenilebilir sentetik maddelerin üretilmesidir. Transgenik bitkiler yüksek aktivite gösteren protein ve kompleks bileşiklerini üretmek için uygun organizmalardır. Transgenik bitkilerden protein üretimi ile ilgili çalışmalar çok yönlü olup, gıda maddesi sanayinde enzimlerin kullanılması yanında eczacılıkta etkili olan çok sayıda etken maddeyi de kapsamaktadır.

Bitkisel ve organik yağlar önemli endüstriyel hammaddelerdir. Bitkisel yağlar, fosil yakıtlara kıyasla yüksek olan maliyetleri nedeniyle endüstriyel kullanım için ikinci derecede öneme sahiptirler. Endüstriyel yağlarda aranan özellikler dikkate alınarak kolzada yağ asidi kompozisyonu asidi kompozisyonuna sahip kolza çeşitleri geliştirilmiştir

Bitkilerde karbonhidrat üretimi, nişasta sanayinde yıllardan beri kullanılan bir tekniktir. Endüstri bakımından yapıştırıcı ya da folyo yapımında kullanılan değiştirilmiş nişasta, kağıt ürünleri üretiminde hammadde olarak kullanılan Bitkilerde karbonhidrat üretimi, nişasta sanayinde yıllardan beri kullanılan bir tekniktir. Endüstri bakımından yapıştırıcı ya da folya yapımında kullanılan değiştirilmiş nişasta, kağıt ürünleri üretiminde hammadde olarak kullanılan selüloz, jel ve kabartıcı olarak kullanılan pektinler öneme sahiptirler. Bugüne kadar endüstriyel olarak elde edilen nişastanın % 80’ni kimyasal veya fiziksel işlemlere tabi tutulmaktadır. Karbonhidrat metabolizmasında yapılacak değişiklikler, bu oranı belirgin derecede düşürebilir.



Birçok bakteri alifatik polyester (PHB) üretiminde kullanılmaktadır. Toksik olmayan bu tür ürünlere şekil verilebilir. Ayrıca bu tür ürünler biyolojik olarak da ayrıştırılabilir. Bu özelliğinden dolayı bu ürünler kısaca “Biyoplastik” olarak adlandırılırlar. Bitkilerde bu tür ürünlerin üretimini kodlayan üç gen (phbA, phbB, phbC), R. eutropha adlı bakteriden izole edilmiş ve Arabidopsis thaliana’ya aktarılmıştır. Bakteriyel fermantasyon sonucu elde edilen ve BiotopolTM adı altında piyasaya sürülen polihidroksibütrat kopolimeri (PHB/V), PHB’ye göre endüstriyel kullanım açısından daha uygun özelliklere sahiptir.

***Sekonder Metabolitlerin Üretimi***

Bitkiler ana içerik maddeleri (karbonhidratlar, proteinler ve lipitler) yanında sekonder içerik maddelerine de sahiptirler. Bu tür içerik maddeleri sekonder metabolit olarak adlandırılmaktadır. Farmakolojik etkilerinden dolayı bazı sekonder metabolitler bitkisel ilaçlarda hammadde olarak kullanılmaktadır.

Sekonder metabolitler kısmen sentetik olarak elde edilemezler ve bitkilerden ekstrakte edilmeleri gerekmektedir. Biyosentez yollarının anlaşılması ve önemli genlerin tespiti ile sekonder metabolitleri değiştirme ve onların bitkideki oranlarını artırma mümkün hale gelmiştir. Gen teknolojisi sayesinde ilaçların etken maddelerinin teşhis ve tedavi amacıyla kullanımı mümkün olabilmiştir. Örneğin serum ve aşılar bitkilerde üretilebilmiştir. Bu ürünler tıpta (teşhis, tedavide, yenebilir aşı maddeleri), kimya ve ilaç endüstrisinde (katalitik antikor, biyosensorlar) ve tarımda (hastalık ve zararlılara dayanıklılık, gıda ve yem kalitesinin artırılması) kullanılmaktadır. Aşılar, hem pasif hem de aktif bağışıklık kazandırmaya uygun olup, organ nakli sonrası tedavide de kullanılabilmektedirler.

Bugüne kadar geleneksel yolla yeterli miktarda üretilemeyen ilaç ham maddelerinin bitkiler vasıtasıyla üretimi, bir alternatif yöntem olarak kullanılmaktadır. Kompleks proteinlerin sentetik olarak üretilmesi zor olmasına karşılık bitkiler vasıtasıyla proteinlerin üretilmesi daha kolaydır. Transgenik bitkilerden elde edilen proteinlerin depolanma özelliği, diğerlerine göre daha yüksektir. Geleneksel yolla yetiştirilen patates yumrusunda, normal depolama koşullarında iki yılda en az % 50 kadar aktivite kaybı tespit edilmiştir.

Transgenik bitkilerde üretilen aşılar, hayvansal sistemlerdeki üretime göre patojenlerle (örneğin AIDS veya Hepatit virüsleri, BSE ve toksinler) bulaşma tehlikesi daha azdır. Ayrıca ağızdan uygulanabilen aşıların üretim maliyeti daha düşüktür. Zira aşılar bitki besinleri ile beraber alınabilmekte ve maddelerin izolasyonu ve temizlenmesine gerek kalmamaktadır.

Ayrıca diğer bir avantajı da farmakolojik maddelerin doğrudan mevcut tarımsal üretim sürecine entegre edilebilmesidir. Bitkisel ürünlerin izole edilmesi ve işlenmesinde kullanılan teknikler oldukça gelişmiştir. Örneğin patates endüstrisinde ve biracılıkta bu yönde çeşitli deneyimler mevcut olup, bu yolla ürünler en saf haliyle elde edilebilmektedir. Proteinlerin temizlenmesinin gerektiği durumlarda ticari kullanımda toplam % 1 oranında çözülebilir protein bulunması gerekmektedir. Transgenik bitkilerde ticari olarak üretilen ilk protein tavuktaki viridin proteini olup, bu transgenik mısır bitkisinde üretilmekte ve teşhis amacıyla kullanılmaktadır.

***Ornemental Bitkiler***

Ornemental bitkilerinde, klasik ıslah yöntemleri ile bugüne kadar elde edilmesi mümkün olmayan yeni renk ve formlar gen teknolojisi ile elde edilebilmiştir. Petunyalardan ilgili genlerin aktarılması ile beyaz karanfilden mavi çiçekli bir form elde edilmiştir. Çiçek rengi flavinoidler (sarı, kırmızı, kızıl pembe, mavi), karatinoidler (sarı/portakal rengi) ve betalainler (sarı/kırmızı) tarafından belirlenmektedir. Flavanoidlerdeki farklı renk varyasyonundan antosiyanlar sorumludur ki bugüne kadar yüzlerce antosiyan, bitkilerden izole edilerek kimyasal yapıları belirlenmiştir. Flavonoid sentezinin moleküler temellerinin açığa kavuşturulması çiçek renginin gen teknolojisi ile değiştirilmesini mümkün kılmaktadır.



Çiçek rengi yanında çiçek şekli de ıslah çalışmalarıyla yönlendirilebilmiştir. Aslan ağzı (Antirhinum majus) ve Arabidopsis thaliana’da yapılan araştırmalar sonucu çiçek şeklinin oluşumuna etki eden birçok gen saptanmıştır. Araştırmalar sonucu çiçek yapraklarının (çanak, taç, çiçek ve meyve yaprakları) bir veya birkaç genin kontrolünde olduğu ve üç fonksiyonel alan tarafından belirlendiği yönünde kanaat oluşmuştur. Ancak günümüze kadar çiçek formu değiştirilmiş transgenik süs bitkisi geliştirilmemiştir. Ornemental bitkilerde diğer çalışma alanları; etilen sentezini etkileyerek aynı olgunlaşma süresine sahip olan formlar geliştirmek, çiçeklerin ömrünü uzatmak, güllerde mantar hastalıklarına karşı dayanıklılığı artırmak ve uygun bir transfer sistemi ile süs bitkilerinde strese karşı dayanıklılığı artırmaktır.

***Kirlenmiş Toprakların Temizlenmesi***

Ağır metaller ve zararlı maddeler ile kirlenmiş toprakların temizlenmesinde, yabani ve kültür bitkilerinin toprak üstü organlarında bu tür zararlı maddeleri biriktirme özelliğinden faydalanılmaktadır.



Gen teknolojisi ile bir taraftan kültür bitkilerinin zararlı maddelere karşı toleransı artırılmaya çalışılmakta, diğer taraftan zararlı maddeleri ayrıştıran bitkiler üzerinde ıslah çalışmaları yapılmaktadır. Buna örnek olarak patlayıcı maddeler ile kirlenmiş topraklardan TNT’yi temizleyen transgenik tütün verilebilir. Temizleme olayı; tütün bitkisine aktarılan bir bakteriyel ezim (Pentathritol- Tetranitratreduktaz) sayesinde gerçekleşmektedir. Diğer bir örnek manolya’ya cıvaya dayanıklı bakterilerden aktarılan bir gen sayesinde iyonize cıva, daha az tehlikeli olan metallik cıvaya dönüştürebilmektedir. Diğer bir örnek renk değişimi sayesinde mayın temizliğinde kullanılan bitkidir.

***BİYOTEKNOLOJİK UYGULAMA***

**I. Bitki Doku Kültürü Yöntemiyle Bitki Üretimi**

Aseptik şartlarda yapay bir besin ortamında hücre, doku veya organ gibi bitki kısımlarından yeni doku bitki veya bitkisel ürünlerin üretilmesidir.



**Bitki doku kültürü şartları:**

**1. *Uygun doku:*** çoğunlukla sürgün uçları ve meristemi kullanılır

**2. *Aseptik koşullar:*** Çalışma ortamının mantar, bakteri ve virüslerden arındırılması, ayrıca çalışılan dokunun zarar görmemesi

**3. *Uygun büyüme (besin) ortamı:***

* Makro elementler (azot, fosfor,sodyum,magnezyum, kükürt, vb.)
* Mikro elementler (demir, manganez, çinko, bakır,vb.)
* Vitaminler (tiamin, nikotinik asit, vb.)
* Şekerler (sakkaroz, glikoz, vb.)
* Jel yapıcı maddeler (agar, fitajel, jelatin, vb.)
* Amino asitler (glisin, arginin, vb.)
* Bitki büyüme düzenleyicileri

**4. *İstenen özelliklere sahip kopya bitki üretimi:*** Kök, sürgün veya yaprakların oluşumunun sağlanması, Bu organlar, yeni meristematik hücrelerin farklılaşarak gelişmesi sonucunda oluşurlar.

Bitki doku kültürü ile şu amaçlara ulaşılır:

* İstenilen zamanda,istenilen kadar üretim
* Türlerin kaybolma tehlikesi yok
* Standart kalitede ve bol miktarda üretim
* İstenildiği kadar bitkinin elde edilme kolaylığı

**II. Mikro-çoğaltım (çelikleme) yöntemiyle bitki üretimi**



**Uygulanışı:**

* Kültüre alınıp çoğaltılacak bitki seçilir
* Bitkiye ait meristem doku izole edilerek uygun besi ortamına alınır
* Burada organogenezin (Kök ve gövde oluşumu) gerekleşmesi sağlanır
* Uygun olan klonlar seçilir
* Klon bitkilerin toprağa ekimi yapılır

***Bitki biyoteknolojsinin faydaları***

* İyi çiçek meyve gibi özelliklere sahip bitkilerin kontrollü üretimi
* Hızla olgun bitki üretimi
* Çoklu bitki üretiminde
* Tohum veya gerekli polinatörlerin yokluğunda tohum üretimi
* Mutasyona uğratılmış bitki hücresinden bütün bitkiyi elde etme
* Steril kaplarda bitki üretimi hastalıklardan ve patojenlerden büyük oranda korunmayı sağlar
* Tohumdan üreme ve gelişme şansı çok az olan bitkilerin üretimini sağlar; orkide
* Virüslerden ve diğer enfeksiyonlardan temiz bitkiler alt kültür ve tarım için stok olarak kullanılabilir.

Not: Yabancı genlerin bitkiye aktarımı ve transgenik bitki üretimi, kültürde yetiştirilen bitki kısımlarının(tek hücre veya hücreler) kullanılarak yapılır.

**III. Rekombinant DNA ve Transgenik canlı üretimi**

* DNA ve Genler tüm canlılar için yapı ve görev bakımından aynıdır.
* Replikasyon-transkripsiyon ve translasyon özellikleri ve sonuçları aynıdır.
* İki farklı DNA nın birleştirilmesinden Rekombinant DNA oluşur.
* Bu tür DNA ları taşıyan canlılara veya başka canlı türünden gen almış canlılara Transgenik canlı denir.



***Gen klonlamasında aşamaları***

* Gen taşıyan DNA'nın (veya RNA) saf olarak elde edilmesi,
* Genin yerinin belirlenmesi,
* Genin çıkarılması,
* Taşıyıcı (vektör) DNA'nın elde edilmesi,
* Gen DNA'sının vektör DNA'sı ile birleştirilmesi,
* Oluşan rekombinant vektör DNA'nın alıcı hücreye aktarılması,
* Seleksiyon,
* Gen ürününün kontrol edilmesi.

 **Biyoteknolojik yöntem**

***1. DNA izolasyonu:*** Bazı kimyasal maddeler ve enzimler ile canlı hücrelere ait hücre zarı veya canlı hücre duvarının yıkılıp DNA’nın ortaya çıkarılmasına DNA izolasyonu denir. Bu uygulama hedef genin elde edilmesi için gereklidir. Hedef geni taşıyan DNA hücrelerden izole edilip saf olarak elde edildikten sonra restriksiyon endonükleaz enzimi ile kesilir.



 ***2. Hedef genin vektöre eklenmesi:*** Kesilmiş DNA parçalarından işaretleniş hedef gen seçilir. Aynı endonükleazla kesilmiş ve vektör ödevi görecek yabancı DNA parçası (çoğunlukla plazmid) ile birleştirilir. Oluşan yeni DNA’ya rekombinant DNA, bu olaya ise rekombinasyon denir. Günümüzde yaygın olarak kullanılan vektörler bakteri plâzmitleri ve virüs DNA’larıdır.

Plasmid:

Bazı bakterilerde ana DNA dan başka halka şeklinde olan küçük DNA lardır. Plasmidlere farklı genlerin eklenmesi ile bakteri farklı özellikler kazanır.

Bunlar:

• Küçüktür (birkaç bin baz çifti)

• Genellikle tek bir veya birkaç gen taşıyabilecek yapılardır

• Daireseldir

• Tek replikasyon merkezi taşır



***3. Rekombinat DNA nın bakteriye (canlıya) aktarılması:*** Bu şekilde bir vektör aracılığı ile elde edilen yeni plâzmid genellikle bir bakteriye nakledilir ve bakteri içerisinde çoğaltılarak rekombinat DNA klonları elde edilir.

***4. Gen klonlama:*** Belirli bir DNA bölümünün kesilerek bir vektör içerisine konulması ve daha sonra bakteri içerisinde çoğaltılması işlemlerine gen klonlaması denir. Gen klonlaması virüs, bitki, hayvan ve bakteri aracılığıyla gerçekleştirilebilir.

Konak hücreler:

Prokaryotlar: Bakteriler

Ökaryotlar: Bitki hücreleri, memeli hücreleri

*Konak bitki hücreleri:*

•Yüksek yapılı bitkilere gen aktarmak için plasmid vektörler kullanılır.

•Toprak bakterisi Agrobacterium tumifaciens, bitki hücrelerini enfekte eder ve birçok farklı bitki türlerinde “gal” adı verilen tümörler oluşturur.

•Tümör oluşumu, bakterinin taşıdığı tümör-indükleyici (Ti) plasmidi sayesinde olur.

 ***5. Hedef genin canlıya aktarılması:*** İzole edilip çoğaltılmış genle istenen canlılara uygun tekniklerle aktarılır.

**a.**Yabancı DNA’nın bakteri hücresine aktarımı:

DNA’nın Hücreye aktarımı hücre zarının sıcaklık şoku ve yoğun tuz çözeltisi ile işleme sokulması sonucunda hücre zarındaki delikler genişler. Böylece rekombinant DNA hücre zarından içeri girer. Bu şekilde DNA’nın herhangi bir canlı hücreye aktarılmasına transformasyon denir.

**b.**Yabancı DNA’nın hayvan hücresine aktarımı:

I. *Elektroporasyon yöntemi*: Hücrelere kısa süreli elektrik akımı uygulanarak, DNA hücre zarında oluşan geçici deliklerden hücre içerisine aktarılır.

II. *Biyolistik yöntemi*: Hücre veya dokunun üzerine DNA kaplı parçacıklar içeren çok hızlı olan mermi ile ateş edilmesi tekniğidir.

III. *Mikroenjeksiyon yöntemi*: Çok ince uçlu iğneye sahip enjektör ile hücre zarı geçilip, doğrudan hücre çekirdeğine rekombinant DNA’nın enjekte edilmesidir.

IV. *Retrovirüs aracılığıyla*: Konak hücreyi enfekte ettikten sonra RNA, Ters transkriptaz enzimiyle çift zincirli DNA molekülüne çevrilir. Bu DNA, konak genomuna katılır ve hücre bölünmesi sırasında yavru hücrelere aktarılır.

**c.**Yabancı DNA nın bitki hücresine aktarımı:

I. *DNA tabancası*: Bu yöntemle izole edilmiş hedef genler bitki hücresin yüksek hızlarla gönderilerek hücreye zarar vermeden girmeleri sağlanır.

II. *Vektörlerle*: Yüksek yapılı bitkilere gen aktarmak için plasmid özellikteki vektörler kullanılır. Bu amaçla Ti-plazmid kullanılmaktadır.

|  |
| --- |
| **Ti- DNA (Plazmid) neden önemlidir?*** Yabancı genler, Ti-DNA parçasının içine sokulur. Oluşan rekombinant Ti DNA yı taşıyan bakterinin bitkiyi enfekte etmesiyle, rekombinant plasmid bitki hücrelerine aktarılır.
* Ti-DNA konak hücre kromozomuna katıldığında, yabancı genler bitki genomuna girmiş olur.

Örnek: Mikro-enjeksiyon tekniği ile insanda ve hayvanda insülin oluşumunu sağlayan gen bakteriye yerleştirilebilir. Bu şekilde bakterinin insülin üretmesi sağlanmış olur. Bakteriler yoluyla insülin üretilmesi kolay ve ucuzdur.Örnek: Nergis bitkisinden alınan beta-karoten geni bir bakteri aracılığıyla pirinç bitkisine aktarılarak, pirinç bitkisinin (Altın pirinç) beta karoten üretme sağlanmıştır.Pirinçle beslen toplumlarda A vitamini eksikliğine bağlı hastalıkların (Kseroftalmi) önüne geçilmiştir. |

***A. Gen klonlaması sırasında kullanılan araçlar:***

Virüsler:

1-DNA virüsleri: DNA-----------mRNA---------------Protein

2-RNA virüsleri: mRNA---------cDNA----------mRNA-------------Protein

***B. Gen klonlaması sırasında kullanılan enzimler:***

****

 **1.** Bir hücrenin DNA zincirini, farklı yerlerinden ve istenen uzunlukta kesilmesini sağlayan enzimler restriksiyon endonükleaz enzimidir.



**2.** Kesilen DNA parçalarını birbirine ekleyen enzim ligazdır.



**3.** DNA polimeraz enzimi DNA moleküllerinin çoğaltılmasını sağlayan enzimdir. Çoğaltılmak istenilen DNA parçasının bir zincirin dizilimi bilindiğinde polimeraz enzimi aracılığı ile yeni DNA zincirleri elde edilir.

**4.**Ters transkriptaz :RNA dan cDNA sentezleyen enzim

**5.** DNA eşlenmesinde başlangıç nukleotidlerini (RNA) yerleştiren Primaz enzimdir

**IV. Gen tedavisi**

Sahip olduğu mutant (zararlı) gen taşıyan somatik hücreye bunun yerine normal (sağlıklı) aleli sokmaktır. Sağlıklı genlerin hücreye sokulması, bir vektör yada gen sistemi ile başarılmaktadır.

Gen tedavisi genin aktarıldığı hücre tipine göre iki gruba ayrılır:

***1.Somatik gen tedavisi:*** Yeni genler vücut (somatik) hücrelerine transfer edilmekte ve sadece tedavi edilen bireyi etkilemektedir.

***2.Eşey (germ) hücre tedavisinde***: İnsan eşey hücreleri tedavi edilmekte ve genetik değişimler yeni kuşağa da aktarılmaktadır.

**V. Jel Elektroforez ve DNAparmak izi**

Bir DNA parmak izi oluşturmak için aşağıdaki yol takip edilir.



1. DNA hücreden izole edilir

2. DNA endonükleaz enzimleri ile kesilir

3. Kesilmiş DNA bir elektroforezdeki jel üzerine yerleştirilir

4. Negatif yüklü DNA lar elektroforezdeki pozitif uca doğru hareket ederler

5.Sistem kapanır ve DNA lar özel boyalar ve radyoaktif tekniklerle gözlenir şekilde işaretlenmiştir.



**DNA parmak izi**

Rekombinant DNA tekniğinin kullanım alanlarından birisidir. Bir insanın DNA'sını oluşturan nükleotit dizisi ile diğer insanın DNA'sını oluşturan nükleotit dizisi birbirinden farklıdır. buna göre iki farklı insanın DNA'sında her 100 nükleotitde 1 veya 2 nükleotit gibi farklılıkların olduğu anlaşılmıştır.

Restriksiyon enzimleri DNA yı belli nukleotid tekrar bölgelerinden keserler. Aynı DNA larda aynı tekrarlar olduğu için kesimleri sonunda aynı parçalar oluşur.Farklı DNA ların kesiminde benzer parça oranı DNA lar arasındaki benzerliği verir. Bu şekilde kesilmiş DNA ların elektroforezde karşılaştırılması ile benzerlikleri tespit edilir.Bu yönteme DNA parmak izi denir.

*Uygulanışı:*

Aynı kesici enzimle DNA’lardan farklı büyüklükte ve sayıda DNA parçaları elde edilir. Bu DNA parçaları jel içine enjekte edilir. Elektroforez adı verilen bir yöntemle farklı uzunlukta DNA parçaları birbirlerinden ayrılır. Kısa olan DNA parçalarının hareketleri uzun olanlara göre daha hızlıdır. DNA parçaları jel üzerinde büyüklüklerine göre belirli uzaklıklarda bantlar oluşturur. Bu bantlaşma her bireyin kendine özgüdür. Buna DNA parmak izi adı verilir. Bu yöntemle adli olaylarda şüphelinin DNA'sı olay yerinde bulunan DNA'larla karşılaştırılarak suçu gerçekten işleyip işlemediği belirlenebilir. Ayrıca DNA parmak izi şüpheli çocuğun adli tıpta ana-baba tayininde de kullanılır.

**VI. Monoklonal Antikor Teknolojisi ve Hibridoma**

Monoklonal antikor teknolojisi ile, antikorların saf halde ve oldukça büyük miktarlarda üretilir.Bu amaçla biyoteknoloji kullanılarak sürekli olarak antikor üreten "hibridoma" adı verilen hücreler elde edilir

Hibridoma teknolojisinin temelinde üç bilgi bulunur:

1- B-lenfositleri tek bir antijene özgü antikor üretip salgılayan, yaşam süreleri birkaç günle sınırlı kan hücreleridir.

2- Tümör hücreleri bölünerek çoğalma kontrolünü kaybetmiş, hızla üreyen ölümsüz hücrelerdir.

3- Belli koşullarda aynı organizmaya ait değişik hücreler birleştirelerek her iki hücrenin özelliklerini taşıyabilen melez hücreler (hibridoma) elde edilebilir.

Hibridoma hücreleri B ya da T lenfositlerinin kanserli hücrelerle birleştirilmesi sonucu oluşur, bir taraftan sürekli bölünürken diğer taraftan antikor ya da T hücresi reseptörleri meydana getirir.

Bu şekilde antikor üretimine monoklonal antikor teknolojisi denir.

Özetle biyoteknolojik yöntemler aracılığıyla klonlanmak istenen DNA bölümleri restriksiyon endonükleaz enzimi ile kesildikten sonra vektör olarak kullanılacak hücrenin plazmiti içerisine yerleştirilir ve DNA ligaz enzimi ile birleştirilir. Bu şekilde elde edilen yeni plazmit genellikle bir bakteriye aktarılarak çoğaltılır. Biyoteknolojide kullanılan vektörler bakteri plazmitleri ve virüslerdir. Kesilmiş bir DNA parçacığının yabancı DNA parçacığı ile birleştirilmesi sonucu ortaya çıkan DNA'ya rekombiant DNA denir. Rekombinant DNA'ya sahip canlıya transgenik canlı denir. Biyoteknolojide rekombinant DNA elde edilmesine yönelik tekniğe gen klonloması denir.

Gen klonlamasında önemli olan aşamalar kısaca şöyledir (genel prensipler).

• Gen taşıyan DNA'nın (veya RNA) saf olarak elde edilmesi,

• Genin yerinin belirlenmesi,

• Genin çıkarılması,

• Taşıyıcı (vektör) DNA'nın elde edilmesi,

• Gen DNA'sının vektör DNA'sı ile birleştirilmesi,

• Oluşan rekombinant vektör DNA'nın alıcı hücreye aktarılması,

• Seleksiyon,

• Gen ürününün kontrol edilmesi.

**HAYVANCILIK ALANINDA BİYOTEKNOLOJİ**

**Faaliyet ve İlgi Alanları**

* Hayvanlarda gen transferi
* Hayvan gen kaynaklarının tanımlanması (Evcil ve yaban türlerde biyoçeşitliliğin belirlenmesi, tür, ebeveyn tanısına yönelik DNA parmakizi çalışmaları)
* Hayvan genomik ve proteomik çalışmalar
* Üreme Biyoteknolojisi (Klonlama, in vitro fertilizasyon, biyobankaların oluşturulması)
* Hayvan hücre teknolojisi
* Hibridoma teknolojisi (Monoklonal / Poliklonal antikor üretimi)
* İmmünojenik madde hazırlanması
* Tanı teknolojileri (Bitki, insan ve hayvan sağlığına yönelik zararlı ajanların tanısı) (ELISA, FIA, CELISA, Antijen ve antikora dayalı Strip testler İmmünobiyosensör, immünokromatografik testler).
* Deney hayvanları üretimi ve deney hayvanlarında toksisite, biyouyumluluk çalışmaları

Biyoteknoloji ürünü aşılarla büyük ve küçükbaş hayvanlar başta olmak üzere birçok çiftlik hayvanı hastalıklardan korunabilmektedir. Çiftlik hayvanları ishale, ev hayvanları lösemiye ve kanatlı hayvanlar da nörolojik hastalıklar gibi hastalıklara karşı rekombinant aşılarla aşılanabilmektedirler. Ayrıca, evcil hayvanlara kuduzun bulaşmasını engellemek için doğadaki hayvanları aşılanmış yemlerle kuduza karşı aşılamak da mümkündür. Bunların yanında, gıda zehirlenmesine yol açan Salmonella bakterisinin çiftlik hayvanlarının sindirim sistemlerine yerleşmesini engelleyen ve patojenik olmayan bakterilerin hayvanlara aktarımı gibi yöntemler de hayvancılıkla ilgili biyoteknoloji uygulamaları arasındadır.

Daha kaliteli et, süt ve yün elde edilmesi ve hastalığa dayanıklı hayvanların geliştirilmesiyle ilgili çok sayıda gen saptanmıştır. Ayrıca, hayvanlara tıbbi değeri yüksek moleküller ürettirmenin teknikleri geliştirilmiştir. Ancak, genetik mühendislik tekniğini doğrudan hayvanlara uygulayarak istenilen özelliklerle ilgili genleri taşıyan transgenik hayvanlar üretmenin yolu henüz açık değildir. Bunda teknik nedenlerin yanısıra etik ve hukuksal tartışmaların sürüyor olması da etkilidir. İstisna olarak, daha hızlı büyüyen ve daha büyük boyutlara ulaşabilen GDO Tilapia ve somon balıkları sayılabilir. Protein gereksiniminin çok olduğu Afrika ülkeleri için önem taşıyan bu balıklar, kontrollü bir biçimde balık çiftliklerinde üretilmektedir.

Hayvancılık sektöründe, yakın gelecekte etkili olması beklenen önemli bir gen mühendisliği tekniği de klonlamadır. Klonlama, bir canlının genetik kopyasının üretilmesi biçiminde tanımlanabilir. Bakteri ve maya gibi tek hücreli canlılar bu biçimde ürerler. Tek hücreli canlılar, belli bir zaman sonra bölünerek kendi kopyasını üretmektedir. Hayvan klonlanmasında ise yetişkin hayvanlardan alınıp laboratuvar ortamında kültürü yapılmış hücrelerden birinden genetik bilgiyi içeren hücre çekirdeği çıkartılır ve yine hücre çekirdeği çıkarılmış bir yumurta hücresine aktarılır. Bu yumurta hücresi, spermle döllemeye gerek kalmadan, gelişmek üzere, taşıyıcı anne hayvanın rahmine yerleştirilir. Gebelik sürecinin sonunda doğan hayvan, genetik maddesi alınan hücrelerin sahibi hayvanla her açıdan aynıdır. Bir başka deyişle onun genetik kopyasıdır. Bu yöntemin ilk başarılı örneği 1996’da Dolly adlı koyunun klonlanmasıyla gerçekleşmiştir.

Bu teknik sayesinde çiftçiler, üstün nitelikli (yüksek verimde süt veren, yüksek kalitede et sağlayan) hayvanları, dölleyici bir hayvana gerek kalmadan, çoğaltma olanağına erişmişlerdir. Ancak, benzer biçimde, henüz çözümlenmemiş teknik güçlükler ve klonlamanın ortaya çıkardığı etik tartışmalar yüzünden, bu teknoloji şimdilik yaygın kullanıma açık değildir.

Sözü edilen tüm bu teknolojiler, daha verimli bir biçimde gıda üretimini sağlayan geleneksel hayvan besiciliğinin bir uzantısı olarak görülmekle birlikte, ekolojik dengelerin bozulacağı konusundaki kaygılar uyandırmış ve toplumun birçok kesiminin ve kurumunun içinde yer aldığı tartışmaları da beraberinde getirmiştir.

**ÇEVRE BİYOTEKNOLOJİSİ**

Canlı organizmaların ve onlardan elde edilen ürünlerin zararlı atıkların arıtımında ve çevre kirliliğinin önlenmesinde kullanılması çevre biyoteknolojisinin konusudur.

Çevre biyoteknolojisi uygulamaları çoğunlukla doğal mikroorganizmalarla (bakteri, mantar, vb.) atıkların arıtılması için kullanılır. Aynı zamanda bu işlemler için genetiği değiştirilmiş mikroorganizmaların kullanımı da mümkündür. Geleneksel yöntemlerden daha verimli olan biyoteknolojik yöntemler yüksek sıcaklıklarda yakma ve atık sahaları oluşturma gibi yöntemlere alternatifler oluşturabilmektedir.

Çevre konusundaki hassasiyetlerin artması ile çevre biyoteknolojisi uygulamaları artacaktır. Bugün, dünyadaki birçok kent, atık sularını temizlemek için mikroorganizmaları kullanmakta ve bu kentlerin sayısının hızla artması beklenmektedir. Organik kimyasal madde ya da kağıt ve fermentasyon ürünleri üreten birçok fabrikanın atıkları biyoteknoloji yöntemleriyle temizlenmektedir. Birçok kent ve yerleşim bölgesi, "kahverengi alan" diye adlandırılan boşaltılmış endüstri bölgelerini, biyoremediasyon ve benzeri yöntemlerle temizlemeyerek yeniden kullanıma açmaktadır. Böylece yeni endüstri bölgelerinin kurulması önlenerek "yeşil bölgeler" de korunmuş olmaktadır. 1993 yılında, Houston’da 300.000 ton toprak, kimyasal olarak parçalanması zor maddelerden biyoremediasyon sayesinde arındırılmıştır. Biyoremediasyon yöntemleri, TNT gibi zararlı bileşikleri parçalamak için askeri kurumlarca da kullanılmaktadır. Zararlı maddelerle kirlenmiş bölgelerde, biyoteknolojik yöntemlerin kullanılması geleneksel yöntemlere göre 10 kat daha ucuza mal olmaktadır.

Çevre biyoteknolojisi ile

* Atıkların arıtılması
* Atıklardan yararlı maddelerin (Ör: Metan gazı) elde edilmesi
* Çevre koşullarının kontrolü ve kirliliklerin belirlenmesi için biyosensör uygulamaları mümkündür.
1. **ATIKLARIN ARITILMASI**

Bazı bakteriler, atık maddelerin içindeki metilen klorit ve kükürt gibi toksik maddelerle beslenir. Çevre mühendisleri, çevre biyoteknolojisinin ana alanlarından biri olan ve bu tür bakterilere dayanan biyoremediasyon adlı yöntemi uygularlar.

Atıkların döküldüğü bölgeye besin aktarımı yapılarak, toprağın bakteri kompozisyonuna göre, halihazırda toprakta bulunan bakteriler etkin duruma geçirilir. Öteki yöntemde de toprağa yeni bakteriler aktarılır. Bakteriler, zararlı atıkları, zararsız yan ürünlere ddönüştürdükten sonra ya ölürler ya da sayıları normal popülasyon düzeyine gelir. Böylece ekolojik denge bozulmaz. Ayrıca, toprakta bulunan mikroorganizmaların belirlenmesi ile toprak rehabilitasyonu için en uygun kombinasyon oluşturulabilmektedir. Bakterilere benzer bir biçimde, kirlenen bölgelerdeki metaller ve atıklarla beslenmesi için bitki ve mantarlar da kullanılabilmektedir.

1. **ATIKLARDAN YARARLI MADDELERİN ELDESİ**

Bazı durumlarda atıkları işlemede kullanılan mikroorganizmaların yan ürünleri yararlı ürünler oldukları için geri kazanım sağlayabilmektedirler. Bunlara bir örnek, anaerobik arıtma teknolojisidir. Atıklarında organik madde yoğunluğu fazla olan fabrikalarda uygulanan bu teknolojide, uygun biyokimyasal parametrelerin (pH, sıcaklık) sağlandığı reaktörler kullanılır. Bu reaktörlerde oksijensiz (anaerobik) koşullarda yaşayan metan bakterileri, organik atıkları parçalayarak kirliliği giderirken bir yandan da metan gazı üretirler. Anaerobik biyoteknoloji yardımıyla hem kirlilik ortadan kaldırılır hem de yan ürün olarak metan gazı elde edilir. Sonra da metandan elektrik üretilerek işletmeye ek bir enerji kaynağı sağlanır. Özellikle gıda (şeker, alkol, et, süt, meşrubat), kağıt ve selüloz endüstrisi biyoteknolojinin bu uygulaması için çok uygundur.

1. **BİYOSENSÖR UYGULAMALARI**

Çevreyle ilgili bir başka biyoteknoloji de birçok potansiyelinin yanı sıra çevre koşullarının kontrolü ve kirliliklerin belirlenmesinde de kullanılabilen biyosensörlerdir. Geliştirilen biyosensörler ve benzer birçok alet yardımıyla, çevreye bırakılan atıkların saptanmasının yanında, suyu ve havayı kirletebilecek endüstri atıklarının çevreye verilmesinin önlenebileceği görülmüştür.

**Atıksu Arıtılmasında Kullanılan Mikroorganizmalar**

***Filtreci (Süzgeçcibaşi)***

Bir çok organizma aktif çamur suyunun içinde bulunan kati besin maddelerini filtrasyon donanimlari ile alip, kullanmaya yeteneklidirler. Sindirme sistemlerine uygun besin addelerini elimine etmektedirler. Carchesium Polypinum yerleşik bir hayvancil olarak bakterilerden oluşan besin maddesini ayni şekilde yanina getirmektedir. Tipik süzücü organizmalar Paramecium caudatum' dur. Hareketli oluşlari nedeni ile bakteri konsantrasyonunun yoğun olduğu bölgeleri arayip bulurlar. Philodina plena çarksi hayvanciklar da süzücüdürler. Philodina'nin türleri bir yere yerleşip suyu süzüp besinlerini alirlar. Ortam besin bakımından fakirleşince, zengin olan yere hareket ederler.

***Çorbacı***

Çok sayidaki organizmalar çözülmüş veya kolloidal durumda bulunan besinleri alirlar. Besin alinmasi ya tamamen kütlesinin tüm yüzeyinden difüzyon yolu ile almakta, ya da belirli yerlerden "hücre ağzi" alinmaktadir. Bakterilerin çoğu ilave enzimler sağlayarak çözülmemiş besin maddelerinin sivilaşmasini ve çözülmüş hale gelmesini sağlarlar. Flagalet'ler besin maddelerini çözünmüş olarak ve bir hücre ağizi ile alirlar. Çorbayi ağiz yolu ile yerler.

Aktif çamur, optimal ayriştirma (aritma) veriminin elde edebilmek için aktif çamur özündeki organizmalarin türce çok zengin olmasi gerekir. Metabolizmalari farkli olan substratlari (atiksu içeriğini) besin maddesi olarak kullanan bu organizmalar atiksu içeriğini aritmaktadirlar. Bu nedenle de aktif çamur çok çeşitli beslenme tiplerini bünyesinde bulundurmaktadir.

***Çarkçı Hayvancıklar (Rotaria)***

Şu ana kadar sözü edilen organizmalarla kiyasladiğimizda, bunlarin gerçekten çok hücreli hayvanlar olduğunu görürüz. Dişliye benzeyen suda kabarciklar yapan çarksi bir organi vardir. Rotaria türünde bu çok belirgin bir şekilde görülmektedir

***Emici Kirpiksi Hayvancık***

Emici Şnfusorium'lar veya Suctorium'lar Siliatlara en yakin akraba hayvanciklardir. Hareketli kirpikler yerine emici yoklama killari vardir. Bir çok Suctorium'larda bir kavrayici killar demetler halinde oluşmaktadir. Türlerin çoğunda sap vardir. Fakat Myonem yoktur. Tocophrya'da iki demet kavrayici killar (Tentakel) bulur.

***Çansı Hayvancıklar***

Siliatlar içinde çansi hayvanciklar (Vorticella, Carchesium Polypinum, Epistylis) önemli yer almaktadir. Bunlarin kirpiksi giysileri gerilemiştir. Buna karşilik şapka çansi hayvancik görünümleri baskin olmuştur. Sadece ağiz etrafinda tac şeklinde kisa kirpikleri vardir. Vorticella'nin dallanmamiş sapi vardir. Carchesium polypinum'un ise dalli, kontraksiyon yapabilir sapi vardir. Epistylis gibi olan türler de Myonem içermediği için hareketli değildir. Durgundur.

***Kamçımsı Hayvancıklar***

Kamçimsi hayvanciklar hayvanlar alemi ile bitkiler alemi arasinda yer alirlar. Hareketli kamçi şeklindeki iplikleri ile taninirlar. Bir litre çamurda çok yoğun ve milyonlarca bulunmaktadir. Mikroskop altinda ya karanlik fonda, ya da fazli kontrast işiklandirma durumlarinda görülebilirler.

***Nematodlar***

Nematodlar ipliksi kurtçuklardir ve genelde az yüklü atiksu aritma tesislerinde görülmektedir.

***Kirpiksi Hayvancıklar***

Kirpiksi Hayvanciklar veya siliatlar aktif çamur organizmalar içinde şekil zenginliğine sahip gruplarin en başinda gelmektedir. Görünüşte tek hücreli organizma almalarina rağmen içsel organizasyonu oldukça komplike ve oldukça çok iyi gelişmiştir. Siliatlarin yüzeyleri çok sayida kirpik şeklindeki plazma çikintilari ile kaplidir. Bu siller sayesinde besin maddesi kendilerine çekilir ve besin bulmak için hareketleri sağlanmaktadir. Kirpiksi hayvanciklar bakteri kolonilerini yemek ve bakteri yumaklarini (aktif çamur yumağini) biçmek için uzmanlaşmişlardir. Bu otlakçi hayvanciklardan tipik uzman olanlari Euplotes'in türleridir. Ağiz açikliklarinin etrafindan komplike yapilaşimli kirpiksi demetler vardir.

***Değişken Hayvancıklar (Şekilsizler)***

"Değişken hayvancik" kavrami bu hayvanciklari sürekli olarak şekil değişterebilme yeteneğinden gelmektedir. Çeşitli türleri sürünen, akar hareketleri ile zahiri ayaklar oluştururlar. En küçük değişken hayvancik 0.02 mm büyüklüğündedir. Bu grubu Vahlkampfia temsil eder. Hareketleri sirasinda zahiri ayaklar oluşur. Mayarella'lar ise çok fazla, fakat kisa ayaklara sahiptir. Arcellada kabuk şeklinde etrafini kapsayan kiliflar vardir. Bunun yaninda çok büyük türlerde vardir: 1 mm den büyük olabilirler ve çiplak gözle de görmek mümkündür.

***Kirlilik Yük Durumunu Belirleyen Organizmalar***

Aktif çamur tesisi, sistemi işletmeye alindiğinda önce bakteriler, çoklukla da Zoogloelar ve sonra da Flagellatlar ve Amipler görülür. Bunlari takiben de serbest yüzen ve yerleşik siliatlar göze çarpar , dominant populasyon olarak bulunur.

Organizmalara göre tesisin;

- Çok yüklü - Orta yüklü - Az yüklü olarak ayrilmasi mümkündür.

**Organik Katı Madde Çürütme Reaktörleri**

Organik maddeleri çürütme reaktörlerini doğal ve yapay reaktörler olarak ayirmak mümkündür. Doğada biyomasi anaerobik koşullarda metan gazina dönüştüren mikroorganizmalar batakliklarda, göl diplerinde, bağirsakda, özelliklede geviş getiren hayvanlarin bağirsağinda, çok çeşitli olarak bulunur. Bu bakteriler heterotrof bitkilerdir ve besinlerini hücre membranlarindan ozmotik basinç yardimi ile alirlar, kullanirlar ve sindirim atiklari olarak atarlar. Bakteri hücreleri önce su alarak şişer, hücre gelişir ve büyür, sonra da büyüyen hücre bölünür. Bakterilerin çoğalmasi mevcut ortamdaki besin maddelerine bağlidir ve çoğalmalarini yedi safhada incelemek mümkündür:

1. Başlama fazı;

2. İvmelenme fazı;

3. Logaritmik gelişme fazı;

4. Engellenme fazı;

5. Duraklama fazı;

6. Ölüme geçiş fazı;

7. Ölüm fazı (Logaritmik ölüm fazı).

Ölüm fazında artık ölüm orani maksimum değerine ulaşmiştir ve eşit zaman araliklarinda mevcut bakteriler ayni oranda ölmektedir. Büyük moleküllü organik bileşikler metan bakterisininin membranindan geçemeyecekleri için önce diğer bakteri kültürlerinin ortak etkisi altinda; bu yüksek moleküllü maddeler alçak moleküllü yağasiti, alkoller gibi maddelere parçalanmaktadir. Ancak bu maddeler metan bakterileri tarafindan substrat olarak alinabilir ve kullanilabilirler. Metan bakterileri bu asit oluşturucu bakteriler sayesinde yaşamlarini sürdürebilirler. Asitleşme fazini da metanlaştirma fazi izler. Metan bakterileri asit bakterileri için toksik etki yapan kendi metabolizma atiklarini zararsiz hale getirir. Büyük moleküllü bileşiklerden her iki anafazin bakterileri doğrudan doğruya yararlanamadik-lari için, arka arakaya siralanmiş glikoz moleküllerini monomer haline gelinceye kadar parçalamalari gerekmektedir. Bu işi gerçekleştirebilmeleri için de hücre dişi metabolik faaliyet göstererek , hücre dişina , 1. Oksidoredüktazlar, 2. Transferazlar, 3. Hidrolazlar, 4. Lüazlar, 5. İzomerazlar, 6. Ligazlar gibi enzimler salgilayarak maddelerin parçalanmasini sağlarlar.

Toksik elementler ve maddeler çürütme kulesine girdiğinde, genelde metan bakterilerine zarar verirler. Toksik madde konsantrasyonu değişmediği sürece, metan bakterileri bu duruma adaptasyon sağlayabilirler. Diğer taraftan çok değişik toksik maddeler, düşük konsantrasyonlarda da bulunsa, birlikte çok daha fazla toksik etki (sinerjik etki) gösterebilirler.

Çürümeyi engelleyen maddeler ise Cu, Cr, Ni, Siyanür, Benzin, Deterjan, v.d. gibi kimyasal maddelerdir. Ağır metallerin toksik etkileri sülfürler tarafindan giderilmektedir. Metal iyonuile sülfür iyonu zor çözülür bileşikler oluşturabilirler.

**ENDÜSTRİYEL BİYOTEKNOLOJİ**

Günümüz üretim süreçlerini kolaylaştıracak ve iyileştirecek daha etkin, daha dayanıklı enzimleri ve biyoaktif bileşikleri doğada bulunan zengin kaynaklardan sağlama arayışı sürmektedir. Kağıt üretimi, tekstil işlemleri, kimyasal sentez tepkimeleri gibi birçok kimyasal işlem, bazen çok yüksek ya da çok düşük sıcaklıklara bazen de çok yüksek ya da düşük pH derecelerine gereksinim duyar. Amaç, bu zor koşullarda yaşayabilecek mikroorganizmalar ve işlerliğini kaybetmeyen biyomoleküller bulabilmektir. Dünyadaki mikroorganizmaların henüz %1’inden azı kültüre edilip sınıflandırıldığı için, yeni moleküller bulmanın önü açıktır.

Endüstriyel biyoteknoloji teknikleri gıda, temizlik, tekstil, kağıt ve kimya endüstrilerinde verimi artırmak ve çevreye olan zararı azaltmak amacıyla kullanılmaktadır. Bu yöntemler birçok ürünü kimyasal yöntemlerle üretmeye alternatif olmuştur. Artıları olduğu gibi eksileri de olmasına karşın, biyolojik yöntemlerle üretim birçok alanda kimyasal yöntemlerin yerini almıştır.

**Organik Bileşiklerin Üretiminde Kimyasal ve Biyolojik Yöntemlerin Karşılaştırılması**

***Biyolojik Yöntemlerin Üstün Yönleri***

* Protein, antikor gibi karmaşık moleküller, kimyasal yöntemlerle üretilemez.
* Biyodönüşümlerden daha yüksek verim elde edilir.
* Biyolojik sistemler düşük sıcaklıklarda ve nötre yakın pH larda çalışabilirler.
* Katalitik tepkimeler daha spesifik olarak gerçekleştirilebilir.
* İzomerik bir bileşenin fazladan oluşması önlenebilir.

***Biyolojik Yöntemlerin Zayıf Yönleri***

* Ürünlere, yabancı ve istenmeyen mikroorganizmalar kolayca bulaşabilir.
* İstenilen ürünün, karmaşık bir ürün karışımının içinden ayrıştırılması gerekir.
* Büyük hacimlerde su kullanımı ve tüketimi gerekir.
* Biyolojik süreçler, kimyasal süreçlere göre daha yavaştır.

Endüstriyel biyoteknoloji şirketleri, kimyasal üretimlerde kullanmak amacıyla, biyolojik sistemlerden yararlanarak enzim gibi biyokatalizörleri ya da kimyasal maddeleri üretirler. Bilim adamları, ticari değeri olan birçok enzimi elde ettikleri mikroorganizmaları kendi doğal ortamlarında saptayabilmişlerdir. Ekonomik değeri olan enzim ya da kimyasal maddeler, bu organizmalardan istenilen miktarlarda üretilmektedir. Bunların çoğu insan terapötik proteinlerinde olduğu gibi fermentasyon sistemlerinde üretilir. Enzimler etki ettikleri bileşiklere göre sınıflandırılırlar. Kullanım alanı en yaygın olan ve biyoteknoloji yöntemleriyle üretilebilen enzimlerden bazıları proteinleri parçalayan proteaz, selülozu parçalayan selulaz, yağlara etkiyen lipaz ve nişastayı basit şekerlere dönüştüren amilazdır.

Endüstriyel biyoteknolojinin gıda endüstrisinde çok geniş bir uygulama alanı vardır. Alkollü içecekler, mayalanmış ürünler, fermente edilmiş ürünler, meyve suları, gıda koruyucu ve lezzet artırıcı maddeler, ssüt ve süt ürünleri, sirke gibi gıda maddelerinin üretimi için yüksek performans gösteren maya ve bakterilerin ve gıda üretim süreçlerinin belirli aşamalarında gerekli enzimlerin geliştirilmesi ve kullanımı örnek olarak verilebilir.

Örneğin, nişastanın glukoz ve fruktoza dönüştürülmesi için biyoteknoloji enzimleri kullanılmaktadır. Ayrıca, mısır ve başka tahıllar, yüksek fruktoz mısır şurubu ya da maltoz şurubu gibi birçok tatlandırıcıya enzimatik işlemlerle dönüştürülebilir. Öteki uygulamalar arasında, tahıldan etanol üretimi ve peynir üretiminde kullanılan renninin (chymosin, genç büyükbaş ve küçükbaş hayvanların midelerden de elde edilir) mikro organizmalara ürettirilmesi sayılabilir. Peynir yapımında kullanılan chymosinin büyük kısmı artık GDO mikroorganizmalardan elde edilmektedir ve hayvanların sindirim yolundan elde edilene göre daha saf, daha verimli ve daha ucuzdur.

Birçok kimyasal madde de biyoteknoloji yöntemleriyle üretilebilmektedir. Kimyasal sentez, yüksek miktarlarda enerji kullanımına ve istenmeyen yan ürünlere yol açmak tadır. Kimya endüstrisinin verimliliği biyokataliz yöntemiyle artırılmıştır.

**Fermentasyonla Üretilen Endüstriyel Kimyasal Maddeler**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Organik Kimyasallar** | **Mikrobiyal Kaynaklar** | **Kullanım Alanları** |
| Asetik Asit | *Acetobacter* | Endüstriyel çözücü ve birçok organik kimyasal için ara ürün |
| Aseton | *Clostridium* | Endüstriyel çözücü ve birçok organik kimyasal için ara ürün |
| Bütanol | *Clostridium* | Endüstriyel çözücü ve birçok organik kimyasal için ara ürün |
| Etanol | *Saccharomyces* | Endüstriyel çözücü, sirke, ester, eter ve meşrubatların üretiminde ara ürün |
| Formik Asit | *Aspergillus* | Tekstil boyama, deri terbiyesi, lastik üretimi |
| Gliserol | *Saccharomyces* | Çözücü, tatlandırıcı, patlayıcı, baskı, kozmetik, sabun, antifriz |
| İzopropanol | *Clostridium* | Endüstriyel çözücü, kozmetik ürünler, antifriz, mürekkep üretimi |
| Laktik Asit | *Lactobacillus* | Gıda ekşilendirici, boya, deri terbiyesi |
| Propilen Glikol | *Bacillus* | Antifriz, çözücü, sentetik reçine üretimi, küf önleyici |
| Süksinik Asit | *Rhizopus* | Vernik üretimi, parfümler için boya ve esterler |

Ayrıca alkoloidler, aminoasitler, antibiyotikler, antimetabolitler, antitumor ilaçları, koenzimler, emülsiyon maddeleri, enzimler, enzim inhibitörleri, herbisidler, insektisitler, lipidler, çözeltiler, nükleik asitler, nükleosidler, nükleotidler, organik asitler, farmakolojik maddeler, pigmentler, bitki geliştirme hormonları, polisakkaridler, proteinler, steroitler, vitaminler ve şekerler biyoteknolojik yöntemlerle elde edilen önemli sanayi ürünlerindendir.

Tekstil dünyasında da biyoteknoloji, iplik ve kumaşlarla ilgili birçok işlemde kullanılır. Örneğin, dokuma sırasında kumaşın zarar görmesini engellemek için kaplama yapıştırıcı olarak kullanılan nişastayı zamanı geldiğinde sökmek için amilaz enzimi kullanılmaktadır. Mikroorganizmalardan elde edilen tripsin enzimi derinin tüylerden temizlenmesini sağlamaktadır.

Hem pazar talepleri hem de çevresel nedenler yüzünden daha az klorlu ürünler ve yan ürünler üretmesi gereken kağıt endüstrisi, endüstriyel enzimler pazarının en hızlı büyüdüğü alandır. Kullanımda olan süreçler, hala çevreyi kirletmektedir. Daha temiz bir süreç sağlayan biyolojik yöntemde, lignosellilozik maddeler lignin parçalayıcı mantarlarca parçalanır. Enzimler ayrıca, liflerin fiziksel özelliklerinin geliştirilmesinde ve kağıt dayanıklılığının artırılmasında kullanılmaktadır.

Maden ve metal endüstrisinde kullanılan biyoteknoloji ikiye ayrılabilir: Mineral biyooksidasyon (biyoleaching) ve metal biyoremediasyonu ve eldesi. Biyoleaching, bakterilerin, (örneğin Thiobacillus ferrooxidans) bakır, çinko ve kobalt gibi değeri yüksek metalleri, sülfit minerallerinden ayrıştırma sürecini kapsar. Bu teknikle hem zamandan kazanılmakta hem de zehirli gazların ve atıkların oluşumu engellenmektedir.

Metal biyoremediasyonu ve eldesi, alkalin içeren eski yöntemlerin yerine kullanılmakta ve ağır metal içeren büyük miktarlarda atık su oluşumunu engellemektedir. Yeni yöntemle enerji, su ve asit kullanımından tasarruf edilmekte, daha verimli üretim gerçekleşmekte ve daha az atık oluşmaktadır.

**ENERJİ KAYNAĞI OLARAK KULLANILAN BİYOKÜTLELER**

Enerji kaynağı olarak kullanılan biyokütle; ağaç ve ağaç atıkları, enerji için üretilen bitkiler, pamuk çırçırlama atıkları, suyu çıkarılmış şeker kamışı ve ya pancarı posası, pirinç ve buğday samanı ve atıkları (kabuk), mısır sapı ve somakları, budama ve temizlenen yabanıl otlar, hayvan ve insan dışkısı, arıtma çamurları, gıda atıkları, atık kağıt ve karton, kentsel katı atıkların önemli bir kısmı sayılabilir.

**Biyokütle Enerjisi**

Biyokütle enerijisi canlı, yenilenebilir ve cansız, yenilenmeyen, çevreyi kirleten enerji kaynaklarına (fosil yakıtlar) alternatif olan ve daha ucuz olan bir enerji türüdür. 1 ton yaş biyokütleden yaklaşık olarak 1 varil (159 lt) petrolden elde edilen kadar enerji elde edilir. Bu tür enerjinin bir avantajı da fosil yakıtlarda da olduğu gibi depolanabilir olmasıdır, gerektiği zaman kullanılabilir. Biyokütle enerjisi günümüz dünyasında toplam enerji kullanımının yaklaşık % 15’i kadar kullanılmaktadır. Özellikle gelişmekte olan ülkelerde genellikle odun olarak bu enerji kullanılmaktadır. Modern biyoteknoloji, günümüzde insanlığın fosil yakıtların tükenmesi ve kirletici olmasına alternatif yeni, daha temiz enerji üretimine imkan sağlamaktadır. Özellikle biyoetanol, biyodizel ve biyogaz üretimi ve kullanımı konusunda ilerlemeler kayedilmiştir.

**Biyokütlenin Daha Temiz Enerjiye Dönüştürülmesi**

Biyokütle enerjisi fermentasyon prosesi ile etanol, gazlaştırma işlemleri ile yanabilir biyogaza (metana) ve biyokimyasal dönüşümle biyodizele dönüştürülebilir.

Biyokütleden biyogaz, biyoetanol ve biyodizel üretimi bu enerji türlerinin daha ekonomik ve çevresel olarak daha sürdürülebilir olması nedenleri ile daha avantajlı olduğu için tercih edilmektedir. Bu enerji türlerinin cazip olmasının bir nedeni de atık biyokütlelerden, atık katı atıklardan da biyoyakıt elde edilmesidir. Eğer petrolden elde edilen enerjinin önemli bir kısmı biyoyakıtlardan elde edilebilinirse, birçok devletin orta doğu ve diğer petrol üreten ülkelere bağımlılığı ve daha az petrol kökenli yakıtlar kullanıldığı için sera gazı salınımı azalacak, üstelik bu ülkelerde biyoyakıt üretimine dayalı endüstriler gelişecektir.

**BİYOGAZ**

Biyogaz teknolojisi, hayvan gübresi, tarımsal atıklar, mutfak artıkları, tüm bitkisel artıklar, insan dışkısı ve arıtma çamurlarından gaz elde edilmesini için geliştirilmiş bir teknolojidir.

Bu teknoloji 1950’li yıllarda Hindistan ve Çin’de kırsal kesimde yaşayan insanların iki problemine çözüm amacı desteklenmiş ve yaygınlaştırılmıştır. Bunlarda bir tanesi insanların ihtiyacı olan yakıt ve gübrenin sağlanması, diğeri ise yakıt olarak kullanım sonucu azalan ormanların yok olmasını önüne geçmekti.

Esas olarak metandan oluşan biyogaz, lokal bitkisel kaynaklardan elde edilerek ucuz ve temiz enerji kaynağı olarak ısıtma, pişirme ve elektrik ihtiyacını karşılamaktadır. Biyogaz bitkisel materyalden ve hatta yüksek C/N içerikli kentsel katı atıklar içerisindeki atık biyokütleden elde edilebilir.

Bioyokütleden biyogaz elde edilmesi biyokütle enerjisi kullanım (yararlanma) verimini artırır. Yaklaşık 1 ton kuru ağırlığı olan biyokütleden 36 m3 metan ve 350 kg gübre elde edilir. Gaz üretimi selülozik ve yeterli azot oranı olan maddelerde daha fazladır. Kompleks polisakkaridlerden de biyogaz üretimi avantajlıdır. Sebze ve meyve artıkları, gıda işleme ve süt fabrikası atıkları, hayvan dışkıları, %24 katı madde içeren mezbahana atıkları biyogaz üretmek için kullanılmaktadır.

Sucul bir tür olan su sümbülü metan üretimi için büyük öneme sahip bitki türüdür. Her kg kuru ağırlığı başına biyogaz metan içeriği % 67-91 olan 370 litre metan üretilir. Metan gazının kalorifik değeri 22000 kJ/m3 civarındadır. Biyogaz % 63 metan, % 27 karbondioksit, % 10 Hidrojen, az miktarda hidrojen sülfür ve azot gazı içermektedir. Metan kokusuz, renksiz ve toksik olmayan bir gazdır.

**Biyogaz Kullanımının Dünyadaki Yeri**

Biyogaz tesisleri günümüzde özellikle gelişmekte olan ülkelerde kullanılmaktadır. Özellikle tropikal bölgelerde ormansızlaşmanın önüne geçilmesi için bu teknoloji gün geçtikçe önem kazanmaktadır. ABD ve Avustralya gibi gelişmiş ülkelerde ise bu teknoloji, kentsel katı atıklardan enerji elde edilmesi, elektrik üretimi için kömür yerine daha temiz olan bu enerji türünün tercih edilmesi ve sera gazı emisyonlarının azaltılması maksadı ile son yıllarda önem kazanmıştır.

ABD, elektrik üretimi için % 100 biyogaz ile çalışan motorlar (jeneratör) geliştirmiştir. Biyogazdan CO2 giderimi ile metan yüzdesi artırılarak motorların verimi de artırılmıştır. Avustralya’da biyogaz arıtma tesisinde oluşan arıtma çamurlarından üretilmektedir. Üretilen elektrik arıtma tesisinde kullanılmakta ve bu elektrik üretimi ile her yıl 300 ton kömür kullanılmayarak 700 ton CO2 salınımının önüne geçilmiştir.

Biyogaz tesisleri Çin ve Hindistan’da çok yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Hindistan’da devlet bu tesislerin kurulması için çiftçilere yardımda bulunmaktadır. 8 milyon insana bakım ve işletim için bu sayede iş imkanı sağlanmıştır. Bu ülkede tarımsal atıkların yanında su sümbülü gibi bitkilerden biyogaz elde edilmektedir. Bambu ağacından biyogaz üreten bir tesis yapılmıştır. Biyogaz elde edilmesi için Hindistan’da her yıl 80 milyon ton Giant Grass (dev çimen) yetiştirilmektedir. Hindistan’da Okhla arıtma tesisi çamurundan elde edilen biyogaz ile 6000 evin ihtiyacını karşılayacak elektrik enerjisi üretilmektedir. Bu ülkede yapılan çalışmalarda insan dışkısından elde edilen biyogazla caddelerin aydınlatılması için gerekli olan elektrik enerjisi üretilmektedir.

**BİYOALKOL – BİYOETANOL**

Petrol kökenli yakıtların yakılması sonucu oluşan hava kirliliği problemleri ve 1970’li yıllarda meydana gelen petrol krizi nedeni ile daha temiz bir yakıt olan biyoetanol ile ilgili çalışmaların dünyada tekrar arttığı gözlenmiştir. Biyoetanol çevresel olarak daha temiz olduğundan petrolün yerine kullanılma potansiyeli olan sıvı bir yakıttır. Biyoetanol çevresel olarak sürdürülebilir olan bitkilerden, ucuz bir maliyetle ve yüksek performanslı yakıt olarak üretilebilir. Otomobillerde ve diğer taşıtlarda kullanılabilmektedir ve kullanıldıklarında sıfıra yakın sera gazı oluşturur.

Biyokütleler (atık biyokütlelerde dahil) biyoetanol üretimi için ideal olan selüloz ve nişastayı içermektedir. Etanol, bu biyokütlelerin maya ve bazı mikroorganizmaların enzimatik reaksiyonları sonucunda üretilir. Baggase etanol üretimi için uygun bir bitkidir. 6000 kg baggase (şeker kamışı yada pancar posası) ile 1000 litre % 95 lik etanol elde edilir. Kağıt atıklar % 61 selüloz, % 15 hemiselüloz, %21 lignin, % 2 protein, kül vd. içerir. Bu içeriğe sahip kağıt etanol üretimi için idealdir. Şeker kamışı işleyen fabrika atıklarından oluşan melas (şeker tortusu) ve baggase, kağıt ve kağıt hamuru fabrikası atıkları, talaş, bıçkı artıkları, çeltik ve buğday sapları, sucul bitkiler etanol üretimi için uygun hammaddelerdir. 112 kg şeker fabrikası atığından 54 kg etanol elde edilir.

Çevre biyoteknolojisindeki yeni gelişmeler ile mısır somakları, çeltik, buğday sapları, bazı tür çimenlerden biyoetanol ve bazı kimyasallar ile plastik üretilmektedir. Bu şekilde üretilen plastikler çevreye dost plastiklerdir ve % 100 biyolojik olarak parçalanabilir plastiklerdir.

Brezilya’da 1975’ten beri biyoetanol oto yakıtı olarak kullanılmaktadır. Şeker kamışından fermentasyonla biyoetanol üretilir. Şeker kamışı yerine manyok bitkisinden de etanol üretilmeye başlanmıştır. Biyoetanol, petrol ile karıştırıldığında enerji verimini artırır. Klasik motorlarda % 15 etanol karıştırılırken, geliştirilen motorlarda karışım oranı % 40 a çıkartılmıştır. Brezilyada sadece üretilen bu etanol ile çalışan otomobillerde üretilmeye başlanmıştır. Bu yakıt ALCOOL ismi ile satılmaktadır.

Biyoetanol üretiminin yan ürünü organikçe zengin bir sıvıdır; hayvan yemi, gübre ve biyogaz yakıtı olarak kullanılma potansiyeli olmasına rağmen genellikle alıcı ortama bırakılarak özellikle yüzeysel su kaynaklarında aşırı bir kirlenmeye sebep olmaktadır.

ABD, Avrupa ve Avustralya’da fosil yakıt miktarlarını az kullanmak ve kirleticileri azaltmak için etanol benzin ve dizel ile karıştırmaktadır. Dünyada bu teknoloji ile üretim çok hızlı bir şekilde gelişerek 150 milyon ton ile petrol kökenli yakıtların % 15’ine kadar kullanım oranı artmıştır.

**BİYODİZEL**

Dizel motorların çalıştırılması için hayvansal yağlar, domuz yağı ve atık yağlardan elde edilen biyodizel alternatif bir yakıt olarak dünyanın bir çok ülkesinde üretilmektedir. Avrupa ülkelerinde yıllık 2 milyon ton üretimi olan biyodizel için Almanya, Fransa, İtalya ve Çek Cumhuriyeti en büyük üreticilerdir. Avustralya’da günde 50.000 litre üretim yapılmakta, bu değer 250.000 litreye çıkartılmaya çalışılmaktadır. Bir Kanada şirketi yılda 35.000 kilolitre üretim için tasarlanmıştır. Biyodizel ABD’de sakatat ve hindi işleme fabrikası atıklarından da üretilmektedir. Evsel atıklar ve atık lastiklerden de biyodizel üretilebilmektedir.

Herhangi bir bitkisel yağdan da biyodizel üretilebilir. Bu nedenle restoranların atık yağlarının yeniden kullanımı biyodizel üretimi ile sağlanabilmektedir. Biyodizel yağ asitlerinin metil (etil) esterleridir. Saf halde yada dizel ile karıştırılarak kullanılabilir. 3:1 oranında ayçiçek yağı ve dizel karışımı dizel yakıtının tek başına verimine yakın verimliliğe sahiptir.

Biyodizel alkoller ile doğal yağların birleştirilmesi ile üretilir. Yağ 60oC’ye kadar ısıtılır, kimyasal olarak KOH ile birlikte etanol veya metanol ilavesi yapılır. Bu işlem yağın kimyasal yapısını değiştirir. Daha sonra bu sıvı, biyodizel ve gliserin olarak ayrılır. Düşük ya da ultra düşük kükürt içerikli biyodizel ile dizel karışımı kullanımı motorda yakıtın lubrikasyon (yağlayıcı ) özelliğini geliştirir.

Rudolf Diesel 1911’de biyodizeli keşfetmiştir. Biyodizel üretimi son yıllarda yılda % 25 artarak gelişmiştir. Bu ürün toksik olmayan, biyolojik olarak parçalanabilir, kükürt ve aromatik bileşik içermeyen ve düşük CO2 emisyonu olan bir yakıttır. Herhangi bir modifikasyon yapılmadan dizel motorlarda kullanılabilir. 150 oC de yanma oluşur, (normal dizelden 73oC daha yüksektir).

Biyodizel üretiminde son gelişmeler petro-bitkiler yetiştirilmesidir. 15 C’lu bitkiler olarak bilinen bu türler çöl topraklarda yetiştirilebilir ve biyodizel üretimi için elverişli bitkilerdir *Jatropha curcus, euphorbia spp., caiotropis procera, c. gigantea, jojoba simmondsia, pongamia* bu türlerdendir. Bu bitkiler karbonhidratça zengin yağ içerirler ve bir diğer özellikleri de sera etkisine sebep olan CO2’i diğer bitkilere oranla daha fazla kullanma eğiliminde olmalarıdır.