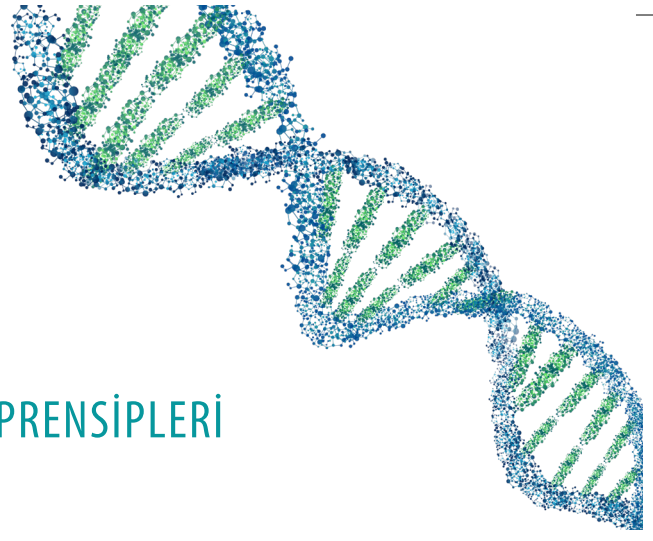


BÖLÜM 17

YENİ NESİL ANALİZ PLATFORMLARININ PRENSİPLERİ



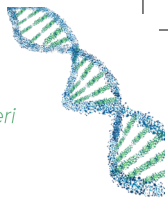
Süleyman YILDIRIM¹

DNA Dizileme Yöntemlerinin Tarihçesi

Protein ve RNA biyopolimerlerinin dizilenmesinde kullanılan ilk metotlar DNA dizilemesinden önce geliştirildiğinden DNA'nın dizilenmesi için de örnek olmuştur. DNA dizileme metotlarının gelişmesi 70'li yılların başında Ray Wu'nun geliştirdiği ve hemen sonraki yıllarda gelişen Sanger teknolojisine de önemli katkısı olan primer uzatma stratejisi ile başlamıştır^{1,2}. İki Nobel ödülü alan Fredirick Sanger³ günümüzde daha çok geliştirdiği DNA dizileme yöntemi ile bilinse de ilk ödülünü insülin proteininin dizisi ve genelde proteinlerin amino asit dizilerinin örüntülerinden oluştuğunu gösterdiği için almıştır. Sanger'den önce (ve genelde yeni nesil bilim çevrelerinde Sanger'dan daha az bilinen) Allan Maksam ve Walter Gilbert 1973 yılında yalnızca 24 nükleotit uzunluğundaki laktöz-represör DNA bağlanma dizisini RNA molekülü dizisine kopyaladılar. Ardından yaklaşık iki yıl süren çalışmaları sonucu ilk kez DNA molekülünü dizileyerek literatüre kendi isimleriyle bilinen DNA dizinleme yöntemini kazandırdılar⁴. Bu yöntem, DNA'nın nuk-

leobaza özgü kısmının kimyasal modifikasyonuna ve ardından değiştirilmiş nükleotitlere bitişik bölgelerde DNA omurgasının bölünmesine dayanır. Maxam-Gilbert dizileme, DNA dizileme için yaygın olarak kabul edilen ilk yöntemdi ve aynı yıllarda geliştirilen Sanger dideoksi yöntemiyle birlikte, ilk nesil DNA dizileme yöntemlerindedir. Sanger dizilimi ise Maxam-Gilbert yöntemi gibi elektrofores tabanlıdır. *In vitro* DNA replikasyonu sırasında, DNA polimerazının zincir sonlandırıcı dideoksinükleotitlerle DNA polimeri oluşturmasının, rastgele katalizine dayanan bir DNA dizileme yöntemidir. İlk olarak 1977'de Frederick Sanger ve meslektaşları⁵ tarafından geliştirildikten sonra, Sanger dizileme yaklaşık 40 yıl boyunca yeni teknolojiler gelişinceye kadar en yaygın olarak kullanılan DNA dizileme yöntemi haline geldi². Ayrıca ilk olarak 1986 yılında Applied Biosystems tarafından otomasyonu yapıp ticarileştirilirken Maxam-Gilbert yöntemi ise ancak 1994 yılında otomasyonu yapıldı. Bu bakımdan Maxam-Gilbert yöntemi otomasyonunun gecikmesi, Sanger yöntemine göre daha kompleks ve radyoaktif ve hidrazin gibi toksik madde kullanımı

¹ Prof. Dr., İstanbul Medipol Üniversitesi Uluslararası Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD., suleymanyildirim@medipol.edu.tr



Kaynaklar

1. Heather JM, Chain B. The sequence of sequencers: The history of sequencing DNA. *Genomics* 2016;107: 1-8.
2. Shendure J, Balasubramanian S, Church GM, et al. DNA sequencing at 40: past, present and future. *Nature* 2017;550: 345-353.
3. Sanger F. The Chemistry of Insulin 1958.
4. Gilbert W, Maxam A. The nucleotide sequence of the lac operator. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1973;70: 3581-3584.
5. Sanger F, Nicklen S, Coulson AR. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1977;74: 5463-5467.
6. Paul Berg WG, Frederick Sanger. The Nobel Prize in Chemistry 1980/1980.
7. Goodwin S, McPherson JD, McCombie WR. Coming of age: ten years of next-generation sequencing technologies. *Nat Rev Genet* 2016;17: 333-351.
8. Shendure J, Ji H. Next-generation DNA sequencing. *Nat Biotechnol* 2008;26: 1135-1145.
9. Leamon JH, Lee WL, Tartaro KR, et al. A massively parallel PicoTiterPlate based platform for discrete picoliter-scale polymerase chain reactions. *Electrophoresis* 2003;24: 3769-3777.
10. Metzker ML. Sequencing technologies - the next generation. *Nat Rev Genet* 2010;11: 31-46.
11. Reuter JA, Spacek DV, Snyder MP. High-throughput sequencing technologies. *Mol Cell* 2015;58: 586-597.
12. Zhao W, Ali MM, Brook MA, Li Y. Rolling circle amplification: applications in nanotechnology and biodetection with functional nucleic acids. *Angew Chem Int Ed Engl* 2008;47: 6330-6337.
13. Li Q, Zhao X, Zhang W, et al. Reliable multiplex sequencing with rare index mis-assignment on DNB-based NGS platform. *BMC Genomics* 2019;20: 215.
14. van Dijk EL, Auger H, Jaszczyszyn Y, Thermes C. Ten years of next-generation sequencing technology. *Trends Genet* 2014;30: 418-426.
15. Anderson MW, Schrijver I. Next generation DNA sequencing and the future of genomic medicine. *Genes (Basel)* 2010;1: 38-69.
16. Rothberg JM, Hinz W, Rearick TM, et al. An integrated semiconductor device enabling non-optical genome sequencing. *Nature* 2011;475: 348-352.
17. Logsdon GA, Vollger MR, Eichler EE. Long-read human genome sequencing and its applications. *Nat Rev Genet* 2020;21: 597-614.
18. Amarasinghe SL, Su S, Dong X, Zappia L, Ritchie ME, Gouil Q. Opportunities and challenges in long-read sequencing data analysis. *Genome Biol* 2020;21: 30.
19. Wang T, Antonacci-Fulton L, Howe K, et al. The Human Pangenome Project: a global resource to map genomic diversity. *Nature* 2022;604: 437-446.
20. Shendure J, Findlay GM, Snyder MW. Genomic Medicine-Progress, Pitfalls, and Promise. *Cell* 2019;177: 45-57.