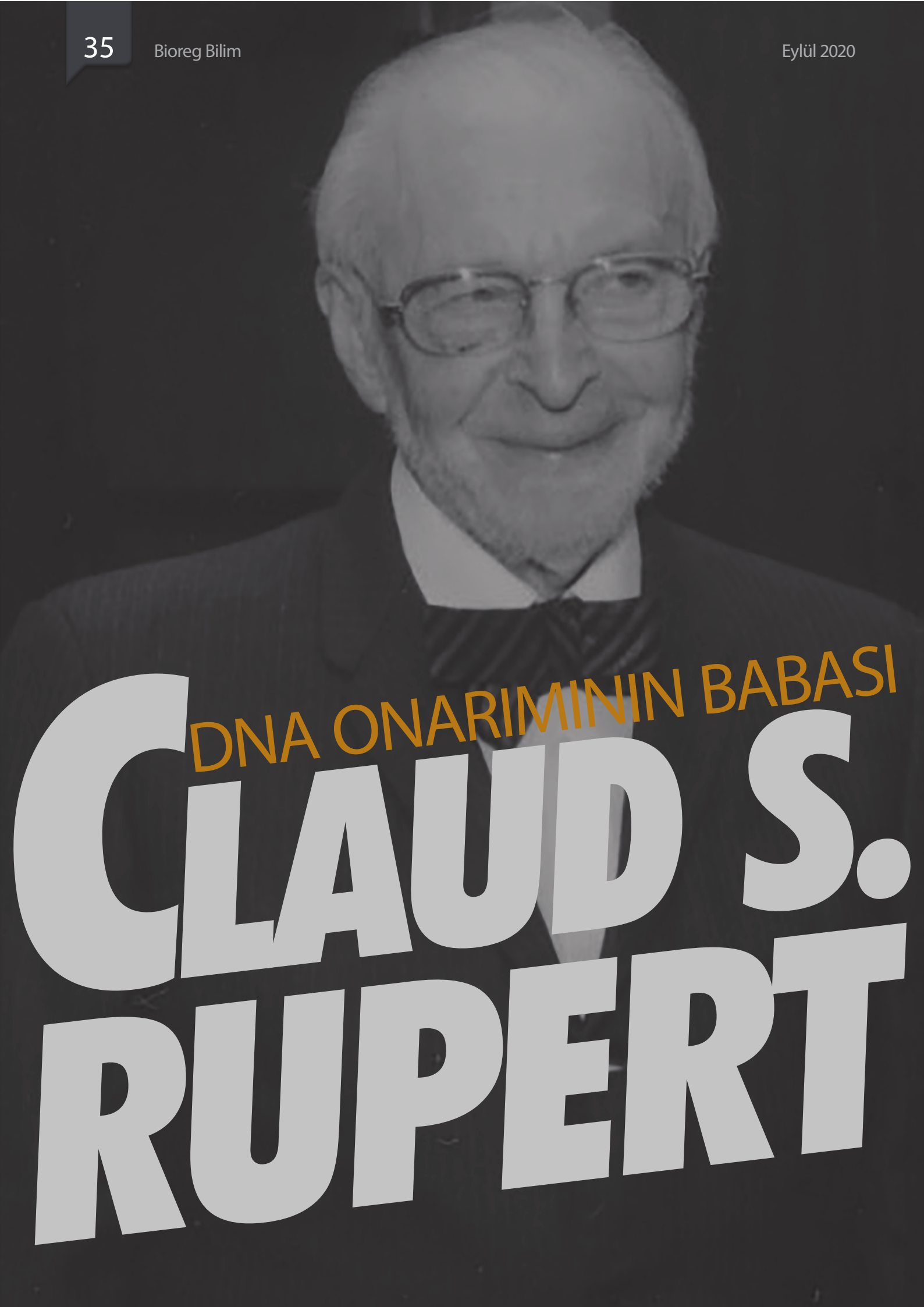




DNA ONARIMININ BABASI

CLAUDE S.
RUPERT

DNA Onarımının Babası

Aziz Sancar, North Carolina Üniversitesi

Çeviri: Merve Çalışır ve Adil Denizli, Hacettepe Üniversitesi, Kimya Bölümü, Beytepe, Ankara

DNA onarımı alanının kurucu babası olan Claud Stanley Rupert Jr, 2 Şubat 2017'de Dallas, Teksas'ta hayatını kaybetti. Dr. Rupert, fotobiyoloji ve DNA onarım toplulukları tarafından büyük saygı gördü. 1964'te Uluslararası Fotobiyoloji Birliği tarafından verilen en yüksek tanınırlık olan Finsen Madalyası'nı aldı. 1966'da Amerikan Bilim İlerleme Derneği'ne seçildi. 1971'de Johns Hopkins Üniversitesi Akademisyenler Derneği'ne seçildi. Kasım 2016'da Dallas'taki Texas Üniversitesi (UTD) Kurucuları Binası (çalıştığı yer) Amerikan Mikrobiyoloji Derneği tarafından "Mikrobiyoloji Alanında Kilometre Taşı" olarak belirlendi: Dr. Rupert, hatıra plaketine resmedilen dört bilim insanından biridir. 24 Şubat 1919'da California, Porterville'de doğan Dr. Rupert, çocukluğunu yakındaki Exeter'de geçirdi. 1941'de Caltech'ten mezun olduktan sonra, II. Dünya Savaşı sırasında radyo ve radar teçhizatı konusunda uzmanlaştı ve ikinci teğmen olarak ABD Donanmasına katılmadan önce Lockheed için çalıştı. 1946'da terhis olduktan sonra Johns Hopkins Üniversitesi'nde (JHU) fizik alanında yüksek lisans eğitimine başladı. 1951 yılında kızılötesi spektroskopi çalışması ile doktorasını aldı. Bu dönemde moleküler biyolojiye ilgi duydu. JHU Halk Sağlığı Okulu Biyokimya Bölümü'nde Roger M. Herriott tarafından öğretilen popüler "Phage Genetics" adlı derste Dr. Rupert, 1949'da Albert Kelner tarafından Cold Spring Harbor laboratuvarında keşfedilen fotoreaktivasyon adı verilen teoriyi öğrendi. Bu teori, UV'nin bakterileri mutasyona uğratması ve öldürmesine rağmen, UV tedavisinden kısa bir süre sonra hücreleri görünür ışığa maruz bırakılarak etkilerin tersine çevrilebildiğini öne sürer. Çeşitli açıklamalar önerilmiştir, ancak mekanizma, iyi tanımlanmış bir in vitro sistemin bulunmaması nedeniyle belirsizdir. Rupert, Sol Goodgal ve Roger M. Herriott UV'nin biyolojik etkilerinin DNA hasarıyla ilişkili olduğuna ve ışıkla aktive edilen bir enzimin hasarı onarabileceğine inanıyordu. Bilimsel bir disiplin olarak DNA onarımı, 16 Haziran 1956'da Dr. Rupert'in UV ışınlı DNA'yı streptomisine dirençli Haemophilus influenza hücrelerinden E. coli özü ile karıştırdığı örneğin bir yarısını floresan ışıktaki diğer yarısını karanlıkta tuttuğu zaman doğdu. Daha sonra bu DNA'ları H. influenza streptomycin'e duyarlı hücreleri dönüştürmek için kullandı. Ertesi gün, ışığa maruz kalan örnek, karanlık tutulan numuneye göre yaklaşık 10 kat daha fazla streptomisine dirençli koloni ortaya çıkardı;

bu, ışıkla aktive edilen bir enzimin (fotolizaz) UV'nin neden olduğu DNA hasarını onardığını gösterir. Bunun sonuçları ve tekrarlanan bir deney derhal 19-22 Haziran 1956'da Johns Hopkins Üniversitesi'nde düzenlenen "Kalıtımın Kimyasal Temeli" sempozyumunda sunuldu. Sempozyuma "DNA'nın Yapısı"nı tartışmak için katılan Francis Crick, Dr. Rupert'in çalışmalarının önemini fark etti ve 1974 tarihli Watson-Crick 1953 makalesinde geriye dönük olarak şunları yazdı: Gerekli olmasına rağmen enzimlerin onarımdaki olası rolünü tamamen kaçırdık. Claud Rupert'in fotoreaktivasyon konusundaki ilk ve çok zekice çalışmasına göre, DNA'nın o kadar değerli olduğunu fark ettim ki muhtemelen birçok farklı onarım mekanizması mevcut.

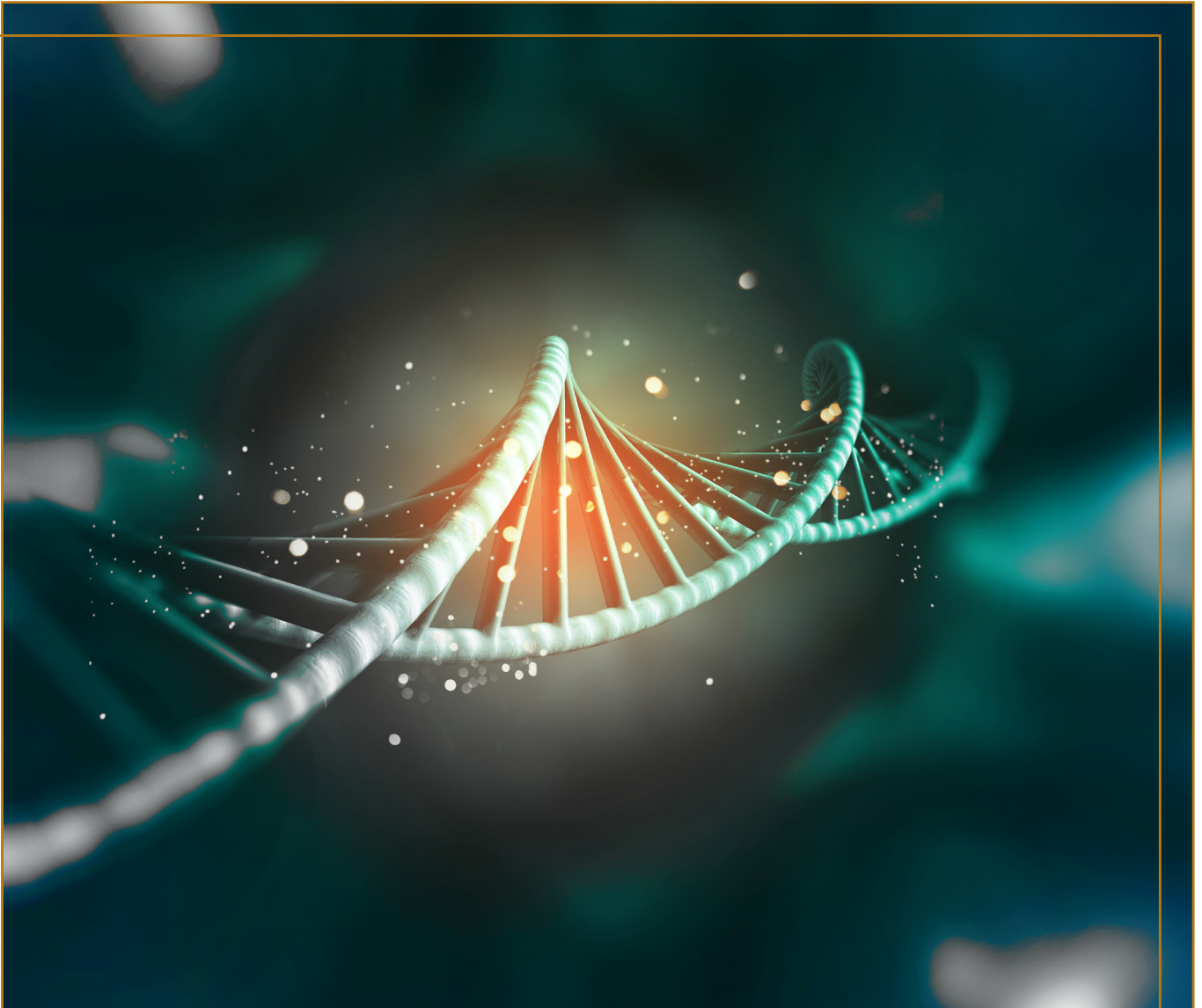
Rupert, önümüzdeki yirmi yıl boyunca zekice fotolizazı karakterize etti ve bu süreçte biyokimya birkaç kilometre taşı gerçekleştirdi: Birincisi, fotolizazın ışıktan bağımsız olarak hasar görmüş DNA'ya bağlandığını ve oldukça uzun ömürlü bir Michaelis kompleksi oluşturduğunu öne sürdü. Bu kompleks başlatılan kataliz içinde ışığın fotoliz tarafından emilmesidir. Bu modele dayanarak, UV ile ışınlanmış yüksek moleküler ağırlıklı DNA ile kısmen saflaştırılmış fotolizazı karıştırdı ve karışımı bir süroz gradyanıyla santrifüj etti. Fotolizazın UV hasarlı DNA ile birlikte tortulaştığını (ancak hasarsız DNA kontrolü ile değil) ve izole ES kompleksinin ışığa maruz kaldığı zaman fotolizaz UV hasarını onardığını buldu. Bu, spesifik DNA-protein kompleksi oluşumunu gösteren ilk deneydi.

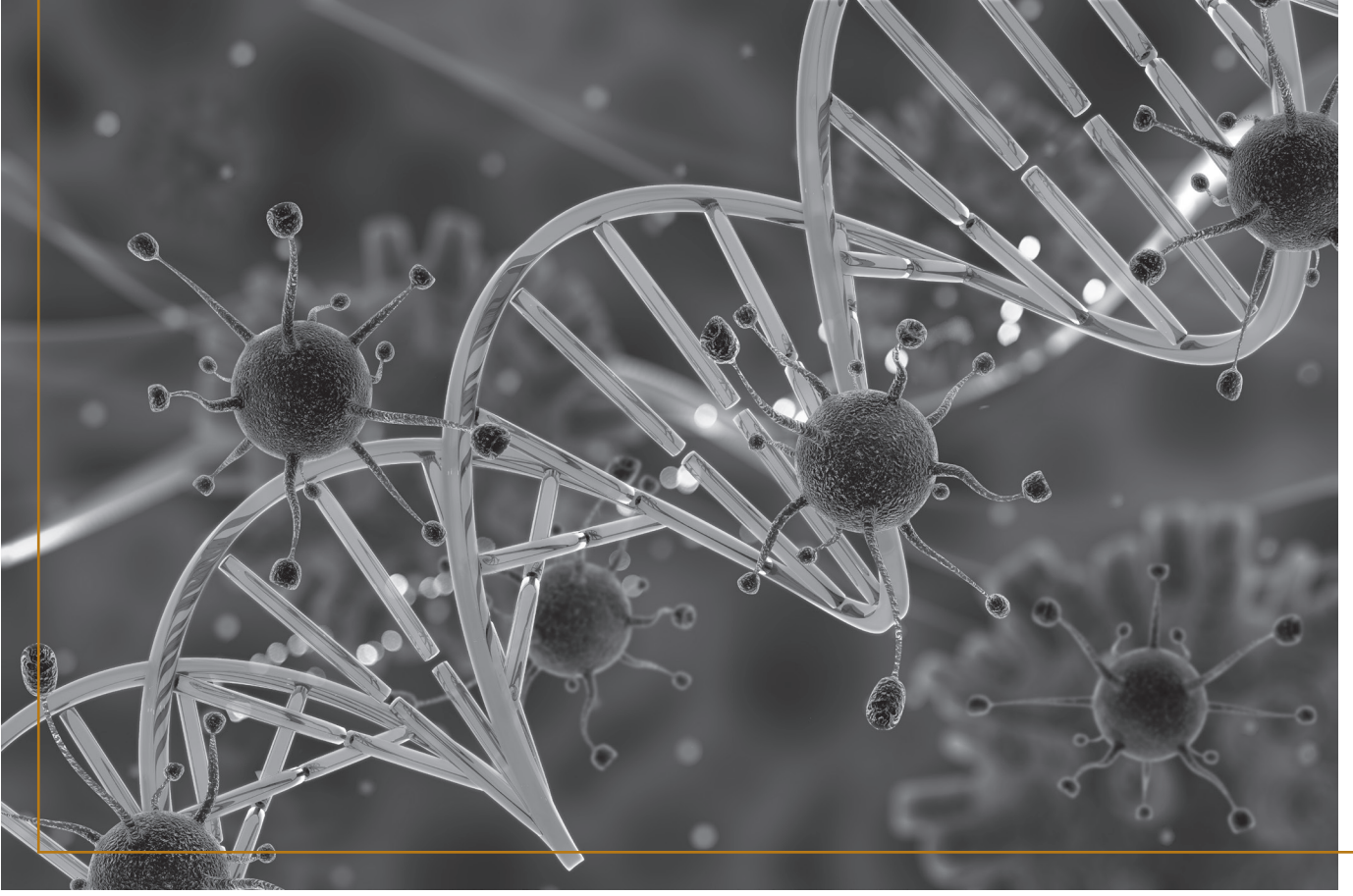
Birkaç yıl sonra Mark Ptashne bu yöntemi lambda baskılayıcısını izole etmek için kullandı ve böylece baskılayıcıların spesifik DNA sekanslarına bağlanan proteinler olduğunu gösterdi. İkincisi, Dr. Rupert, yeni keşfedilen flaş fotoliz yöntemini ilk kez bir biyolojik sistemde kullandı ve ticari kameraların flaş sistemi ile enzimatik reaksiyonun hız katsayısını (1 milisaniye süre) belirledi. Üçüncüsü, 1960 yılında UV'nin iki bitişik pirimidinden siklobutan dimerler ürettiği keşfedildiğinde, Dr. Rupert bunun, C5-C5 bağı ve C6-C6 bağı kırarak için ışık kullanarak fotolizaz tarafından onarılan lezyon olduğunu gösterdi.

Son olarak, flaş fotolizi kullanarak, Dr. Rupert, terim icat edilmeden önce bile in vivo enzimoloji yaptı: hücredeki fotolizaz moleküllerinin sayısını, ES kompleksinin derişimini, E ve S bağlanmasının açık ve kapalı oranlarını ve kataliz oranını belirledi. Ayrıca, fotolizaz kromoforunun yok olma katsayısını doğru bir şekilde tahmin etti. Ancak kromoforun doğası, enzimin orijinal keşfinden sonra yaklaşık 25 yıl boyunca hala bilinmiyordu. Rupert, 1965'te Johns Hopkins'ten Southwest İleri Araştırmalar Merkezi'ne taşındı. O ve diğer birçok fotobiyolog alanın ön saflarında araştırma yaptı. Merkez 1969'da Dallas'ta Texas Üniversitesi oldu ve o ve merkezin diğer üyeleri Texas Üniversitesinin profesörleri oldu. 1974'te fotolizaz kromoforunu tanımayı

umarak laboratuvarına katıldım. Rupert ideal bir akıl hocasıydı. Fizikokimya ve fotobiyoloji konusundaki geniş bilgisini özgürce paylaştı; öğrencilerini düşünmeye teşvik etti ve eleştirel olmadan çalışmalarımızı yorumladı. Yeni bir fikrimiz olduğunda bizi takip etmeye teşvik etti. Laboratuvarına katıldığımda rekombinant DNA icat edilmişti. Geni klonlamayı, enzimi fazla üretmeyi ve saflaştırmayı önerdim. 1975-1976 yılları arasında geni klonladığım, bu doktora için yeterliydi. Laboratuvarında geçirdiğim yıllar bilimsel kariyerimin en mutlu yıllarıydı; UTD'deyken meslektaşım Gwen ile tanıştım, ve evlendim. Rupert, kendi laboratuvarımı kurmak için North Carolina Üniversitesi'ne taşınmadan önce 5 yıl boyunca nükleotid eksizyon tamiri üzerinde

çalıştığım Yale Üniversitesi'nde benim için doktora sonrası bir pozisyon ayarladı. Orada, Gwen ve ben sonunda fotolizazı yeterli miktarlarda saflaştırdık ve enzimin ışık emici bileşenlerini flavin ve folat olarak belirledik. Dr. Rupert çok sevindi. Daha sonra geni sıraladığımızda ve bireysel kofaktörlerin rollerini incelediğimizde, onun tavsiyesini tekrar aldık. Bu işbirliğini iki makale izledi. Enzimin keşfinden 33 yıl sonra, fizikokimyacı Dongping Zhong ve ben, femto saniye flaşlı fotoliz kullanarak gerçek zamanlı olarak fotolizaz aracılı bağ kırılması ve bağ yapımını gözlemledik. Rupert sonunda araştırmanın odağını tepkime mekanizmasından fotolizaz geninin düzenlenmesine kaydırıldı. 1975-1980 yılları arasında UTD'de Doğa Bilimleri ve Beşeri Bilimler dekanı ve daha sonra





akademik işlerden sorumlu başkan yardımcısı olarak görev yaptı. 1992 yılında emekli oldu. Lisansüstü çalışmalarım ve kariyerim boyunca Dr. Rupert akıl hocam olduğu için şanslıydım. Bilimsel danışmanlığına ek olarak, hayırseverliği ve ahlakı ile benim için bir rol modeliydi. Clara ve Stan Rupert'in evindeki şükran yemekleri efsaneydi. Yemekler de atmosfer de olağanüstüydü. Her kesimden etnik, dini arka planlardan, siyah, beyaz, İngiliz, Alman, Çin, Türk, Hint, Amerikan Kızılderilisi, Yahudiler, Müslümanlar, Hindular, ateistler ve neredeyse tüm mezheplerin bir araya geldiği bir buluşma olurdu. Rupert, bana yabancı olduğumu hissettirmeyen ilk Amerikalı oldu.

Stan ve Clara çocukları severdi. Kendileri iki genç yetiştirdiler; ve hayatının son 25 yılında, Dallas'taki Baylor Hastanesinde Yenidoğan Yoğun Bakım ünitesinde düzenli olarak gönüllü oldular. Karısı, oğlu, kızı ve iki torunu ile yaşadı. O bana bir baba gibiydi: Onu çok özleyeceğim.

“

O bana bir baba gibiydi: Onu çok özleyeceğim.