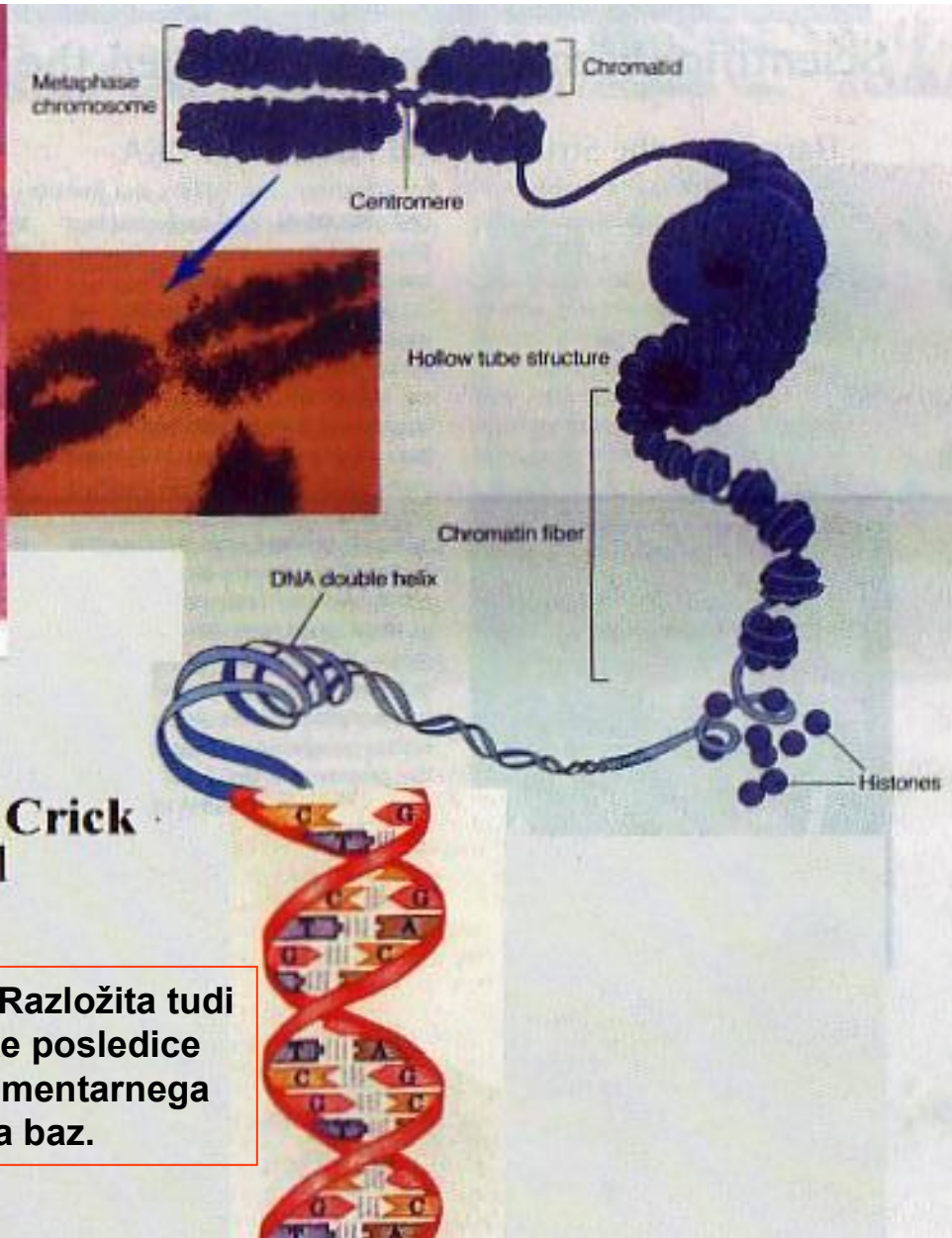
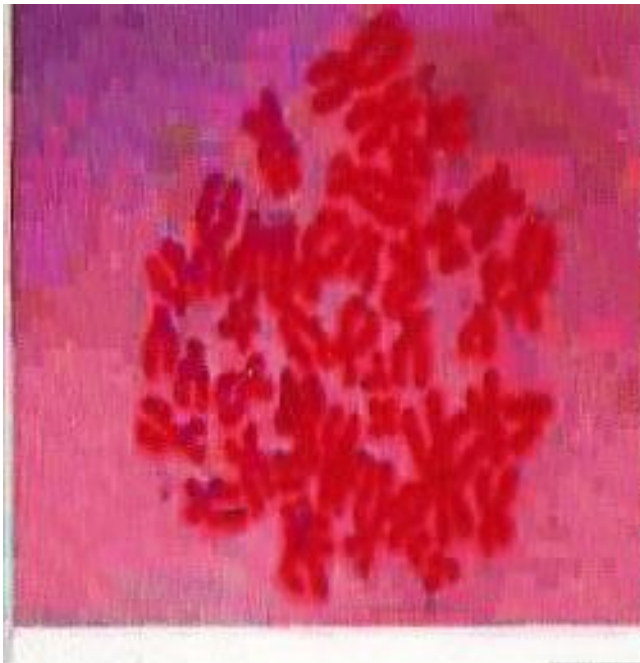


## **GENOM**

**Zgradba, posledice raziskav za medicino**

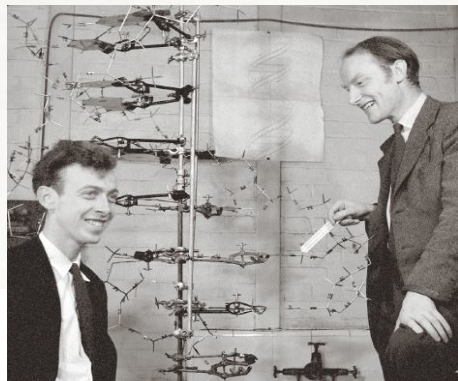
**Po-genomsko obdobje: funkcijska genomika**

- **transkriptomika**
- **proteomika**
- **metabolomika**

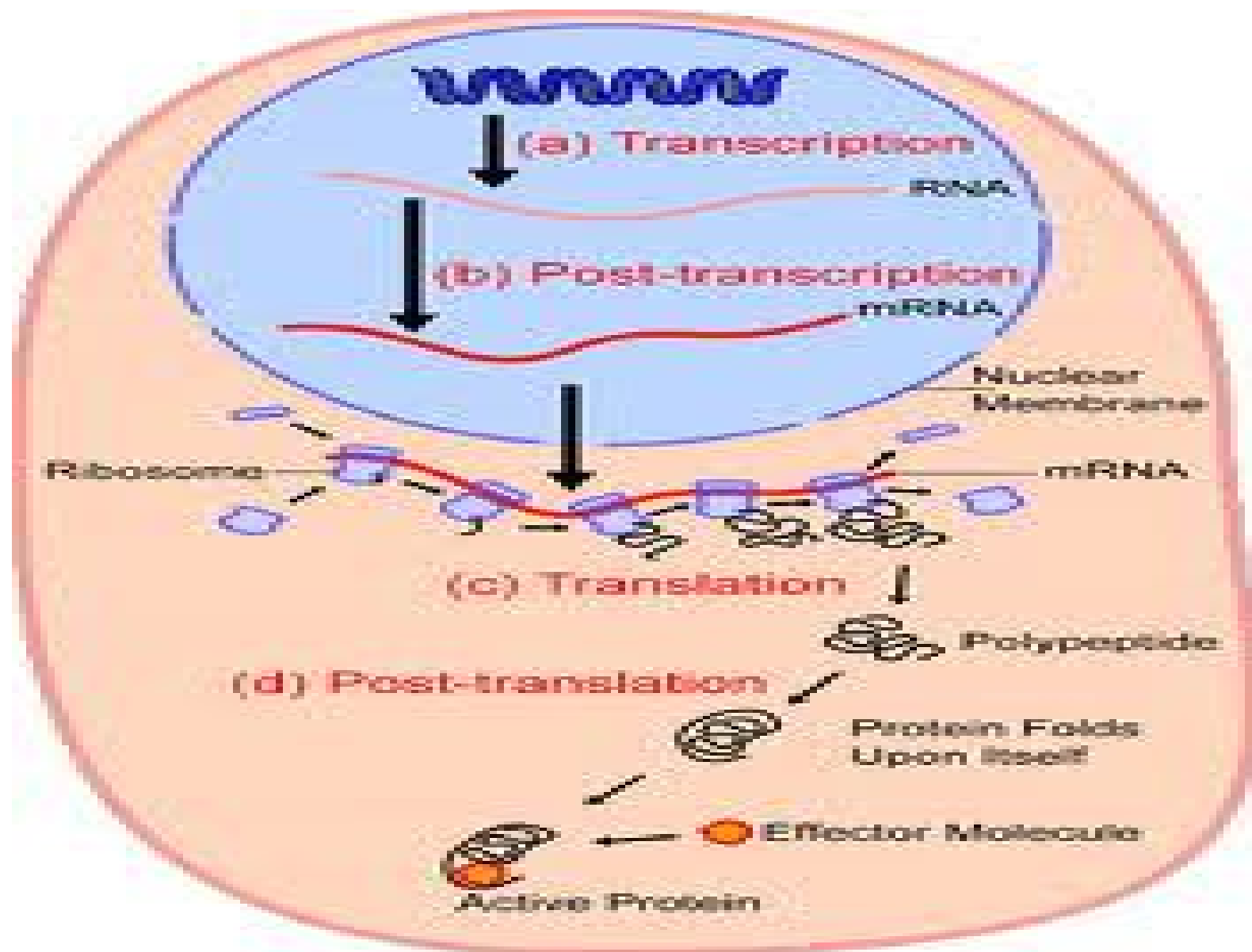


1953

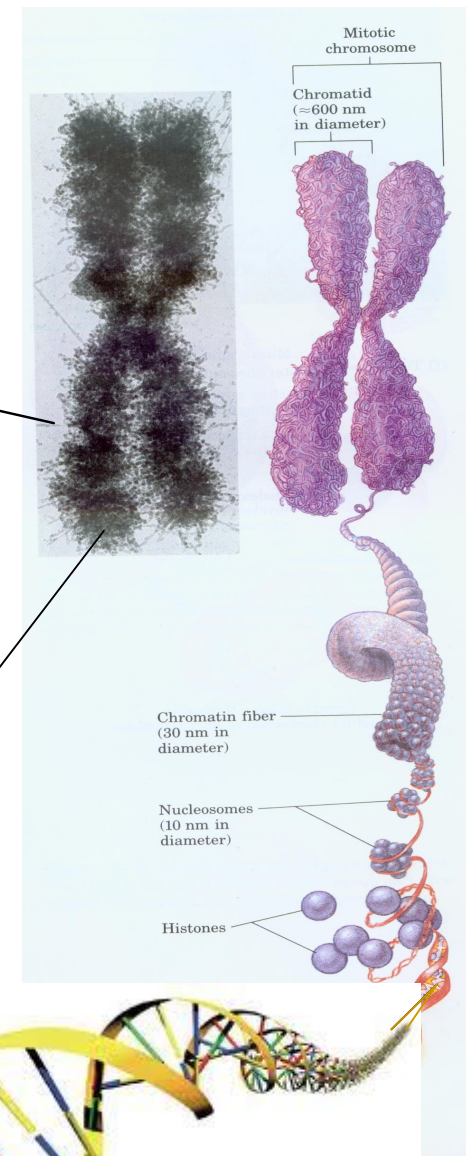
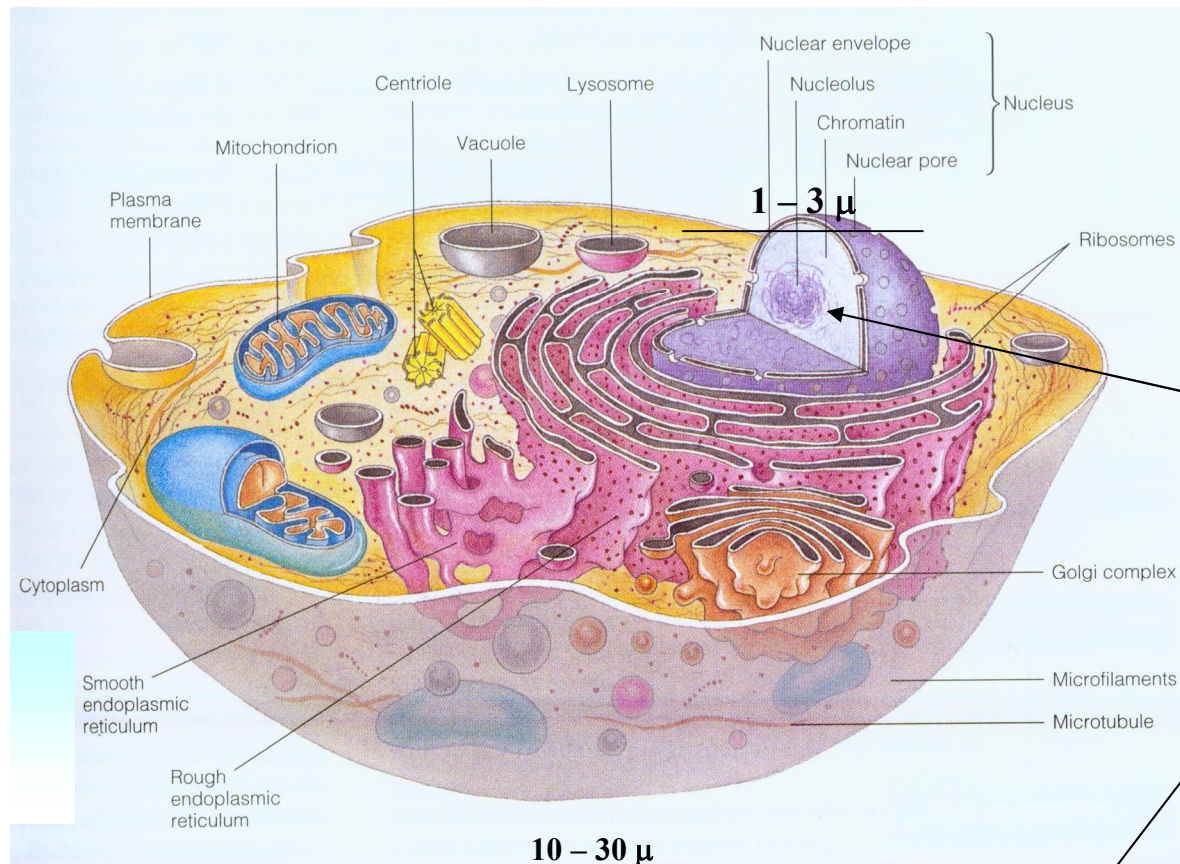
**James Watson and Francis Crick** discovered the double helical structure of DNA.



**Pozor: Razložita tudi biološke posledice komplementarnega parjenja baz.**

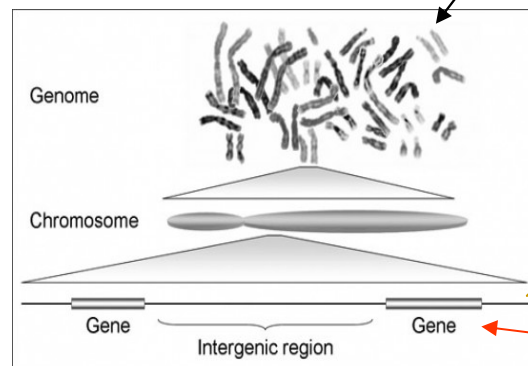


Osnovna dogma mol. biologije: temeljni dogodki.



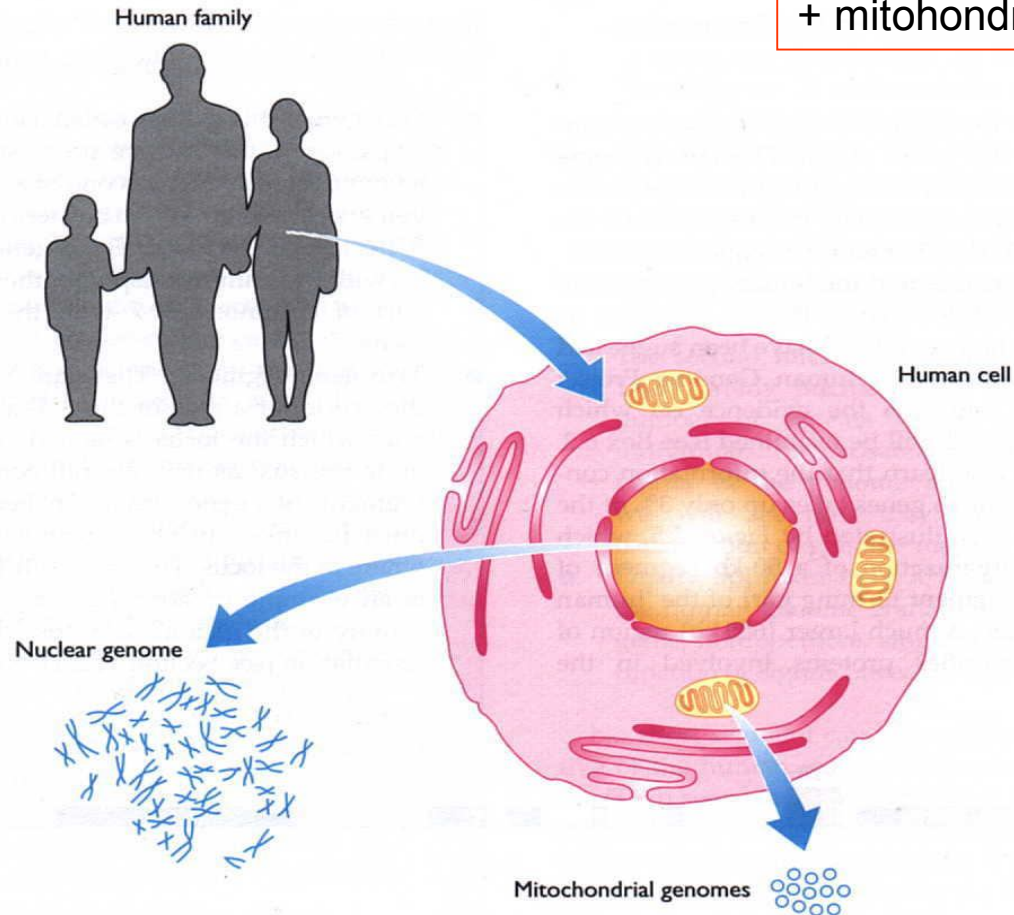
**Človeško telo:  $10^{14}$  celic**  
**Celica: 46 kromosomov**  
**25.000 – 35.000 genov**  
**>100.000 proteinov**

**Molekule DNA so velevzite v kromosome.**



**Diskreten odsek v DNA, ki nosi zaključeno sporočilo, je gen.**

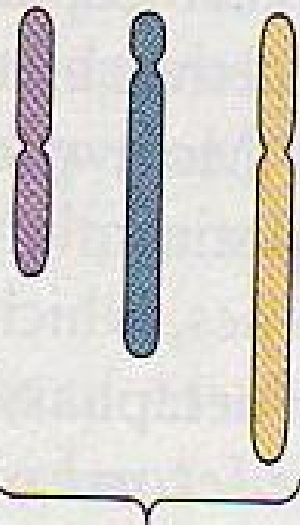
Definicija človeškega genoma:  
22 avtosomnih kromosomov  
+ kromosoma X in Y  
+ mitohondrijski kromosom.



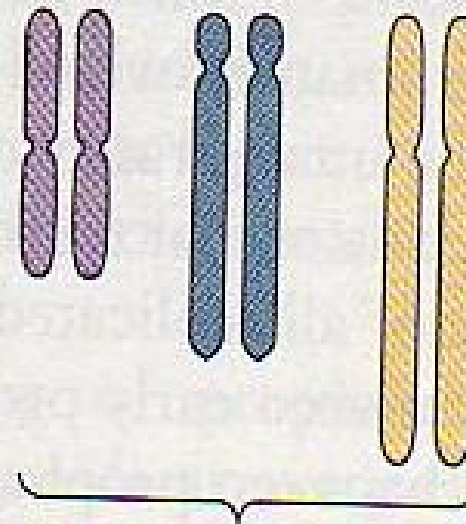
**Človeški genom je diploiden = celica vsebuje dva niza 22 homolognih somatskih kromosomov + 2 spolna kromosoma (XX ali XY) + majhen mitohondrijski kromosom (manj kot 1 genoma).**

**Haploid (N)**

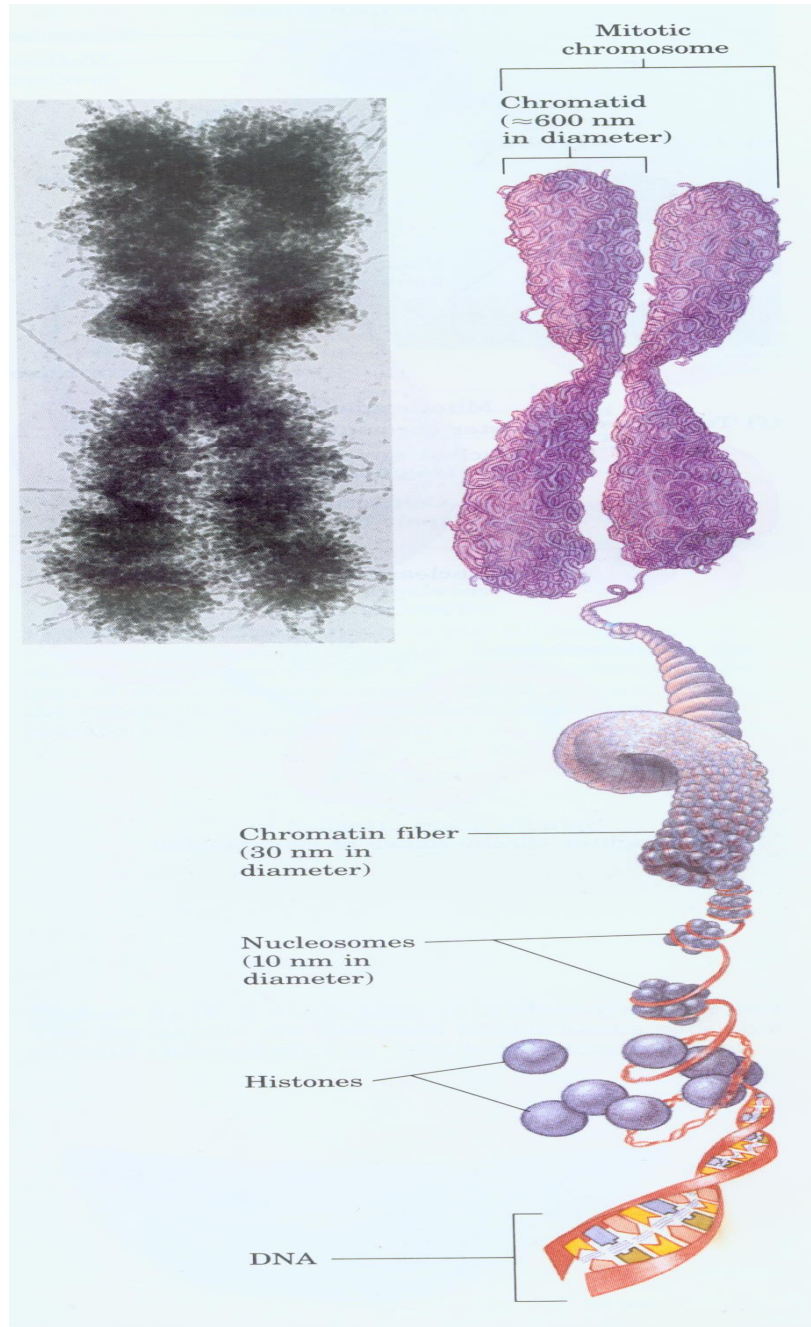
**Diploid (2N)**



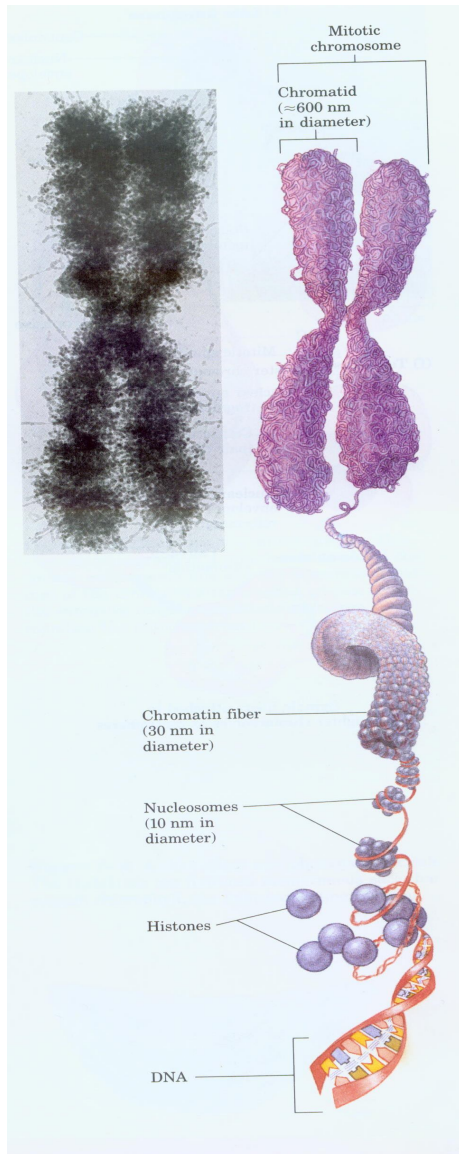
**Nehomologni  
kromosomi**



**Trije pari homolognih  
kromosomov**



Kromosomi so velezvite molekule DNA, v združbi z jedrnimi (predvsem histonskimi) proteini.



Short region of DNA double helix



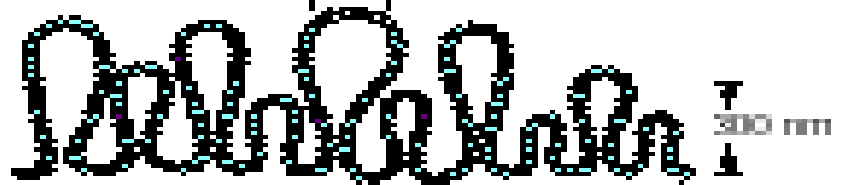
"Beads on a string" form of chromatin



30-nm chromatin fibre of packed nucleosomes



Section of chromosome in an extended form



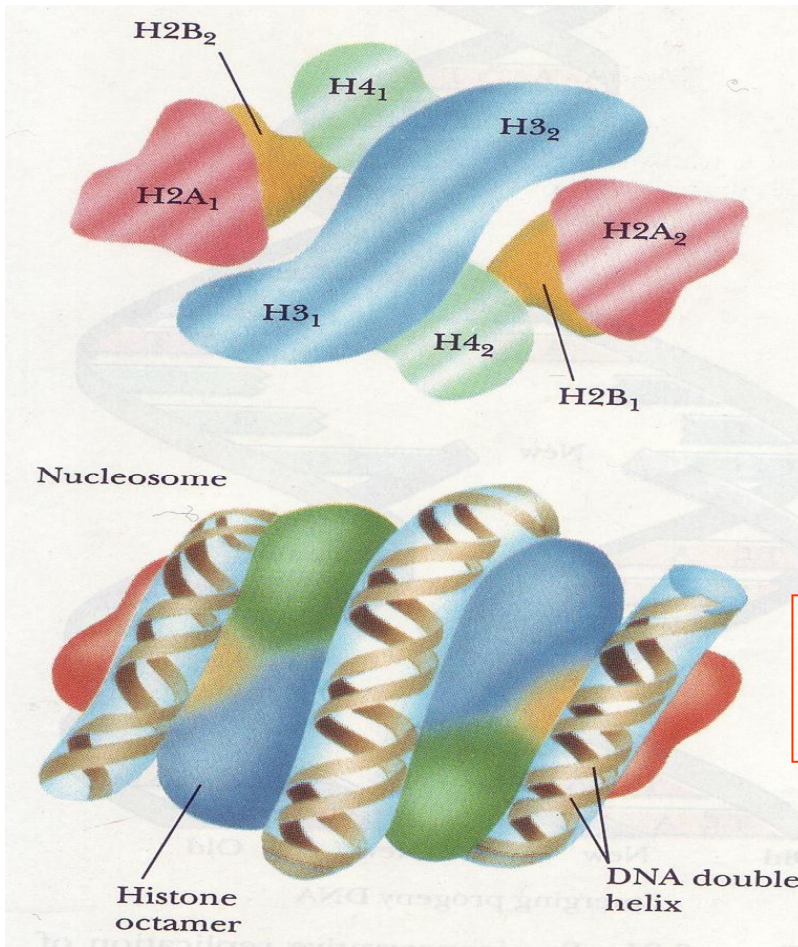
Condensed section of chromosome



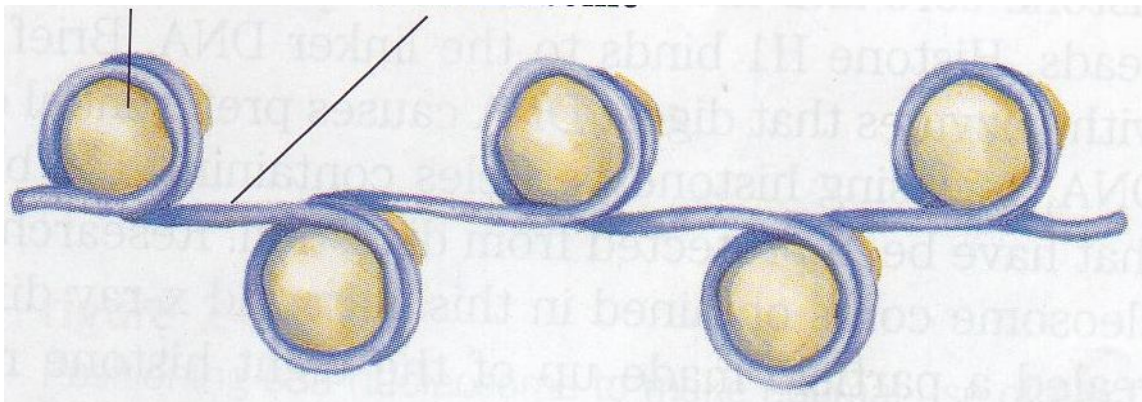
Entire mitotic chromosome

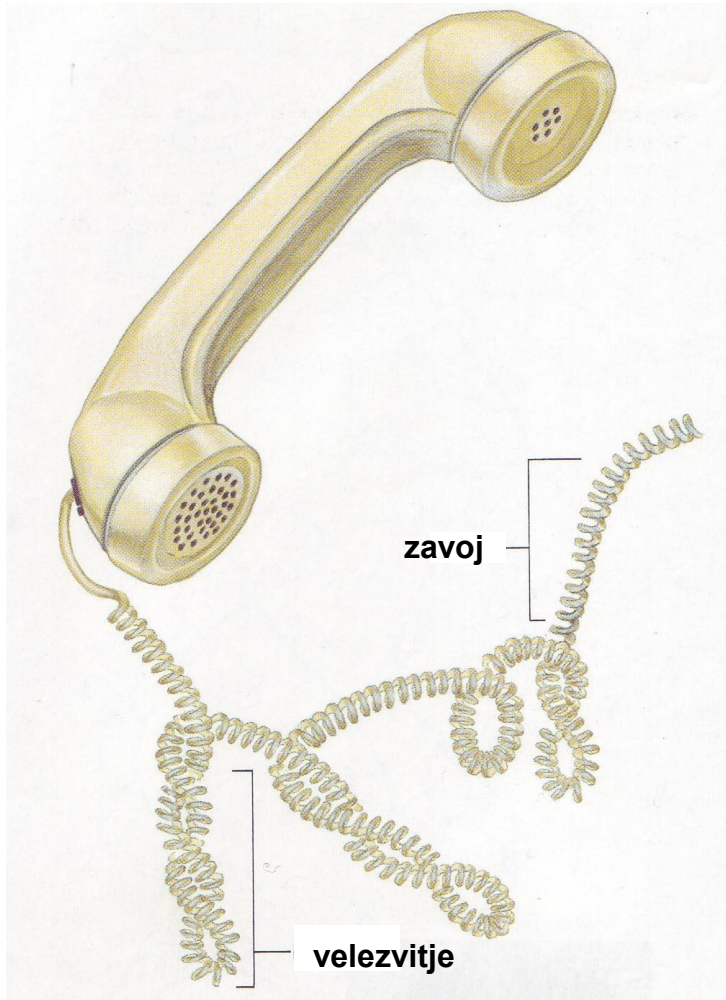


Stopnje velevzivanja dvojne vijačnice DNA.



Nukleosom =  
2 zavoja DNA okrog  
histonskega oktamera





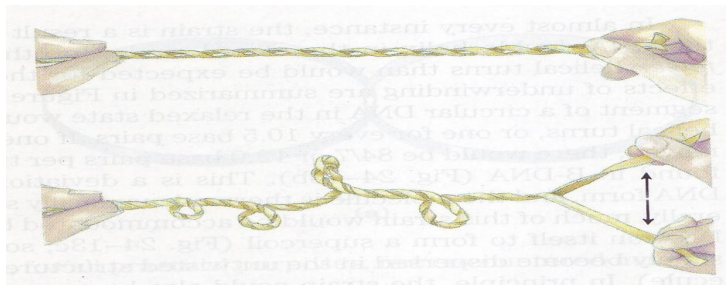
2 kromatidi  
(vsaka 10 zavojev)

1 zavoj  
(30 rozet)

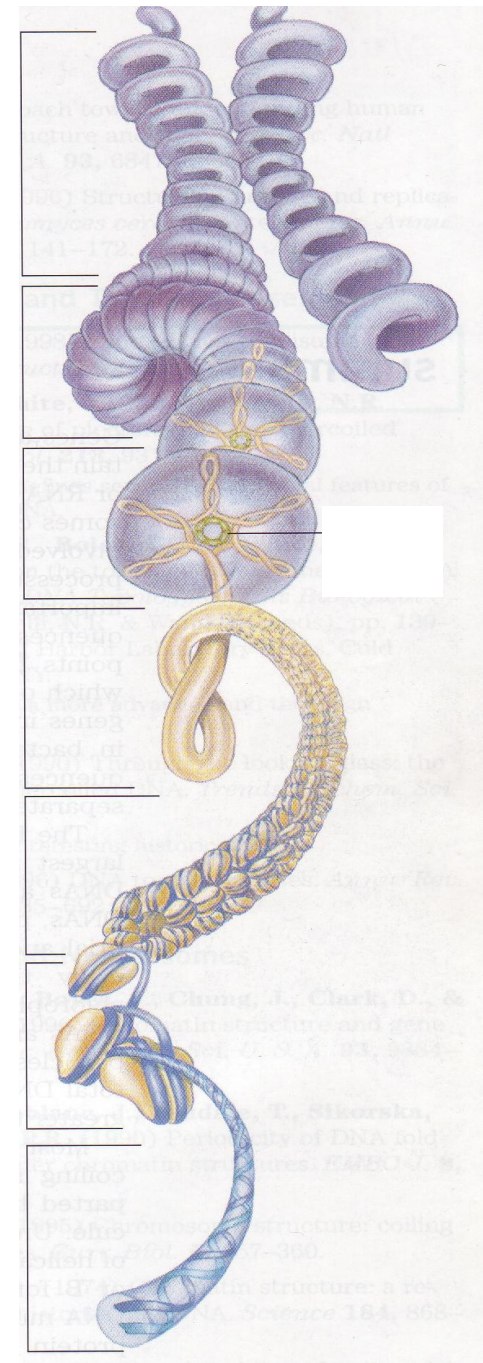
1 rozeta  
(6 zank)

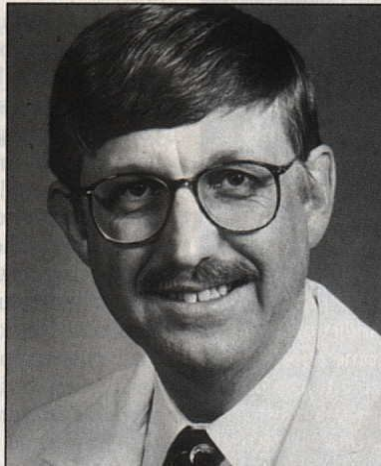
1 zanka  
(75.000 bp)

30 nm fibril

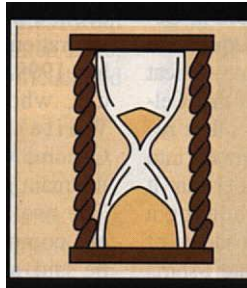


DNA



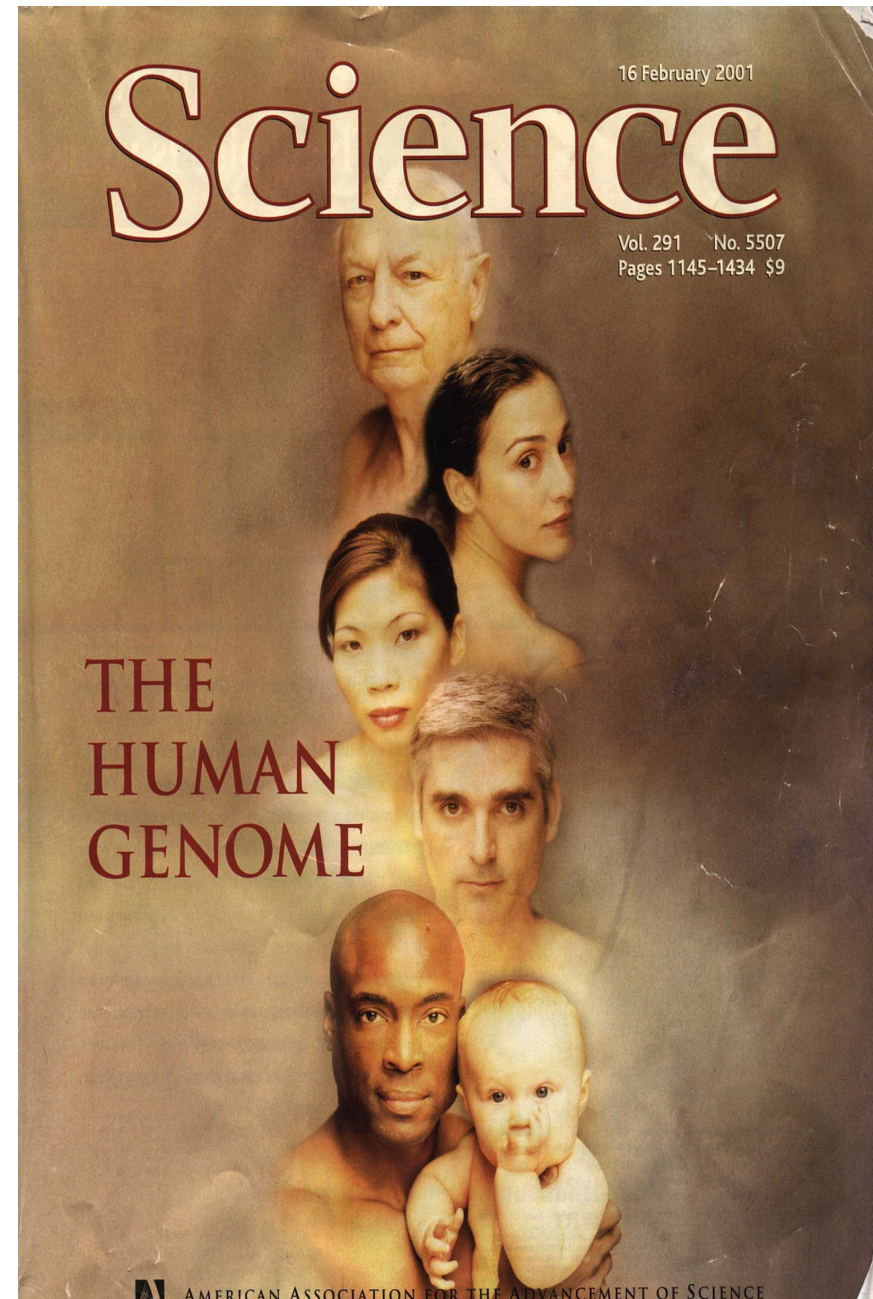
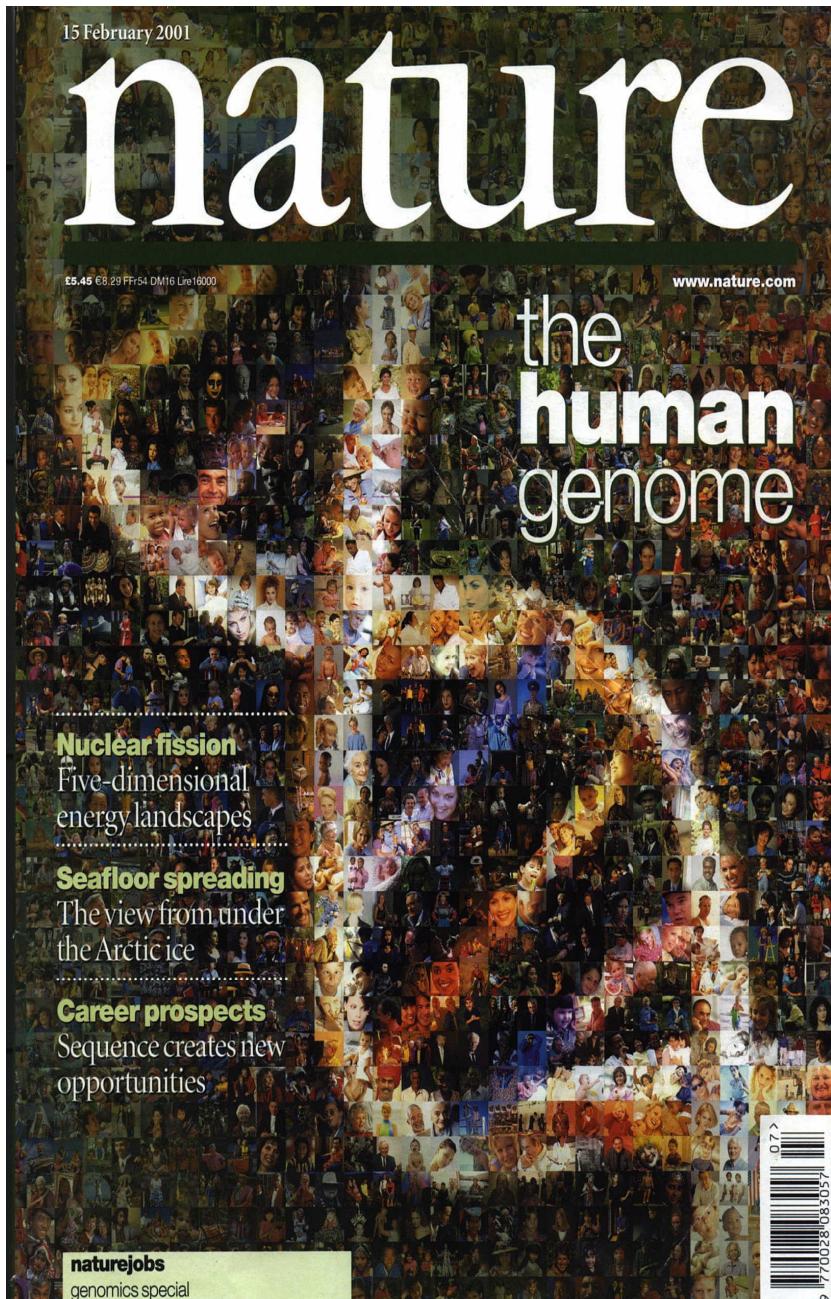


1990

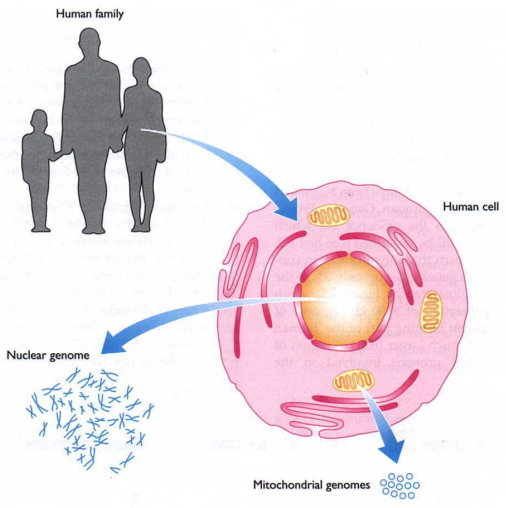
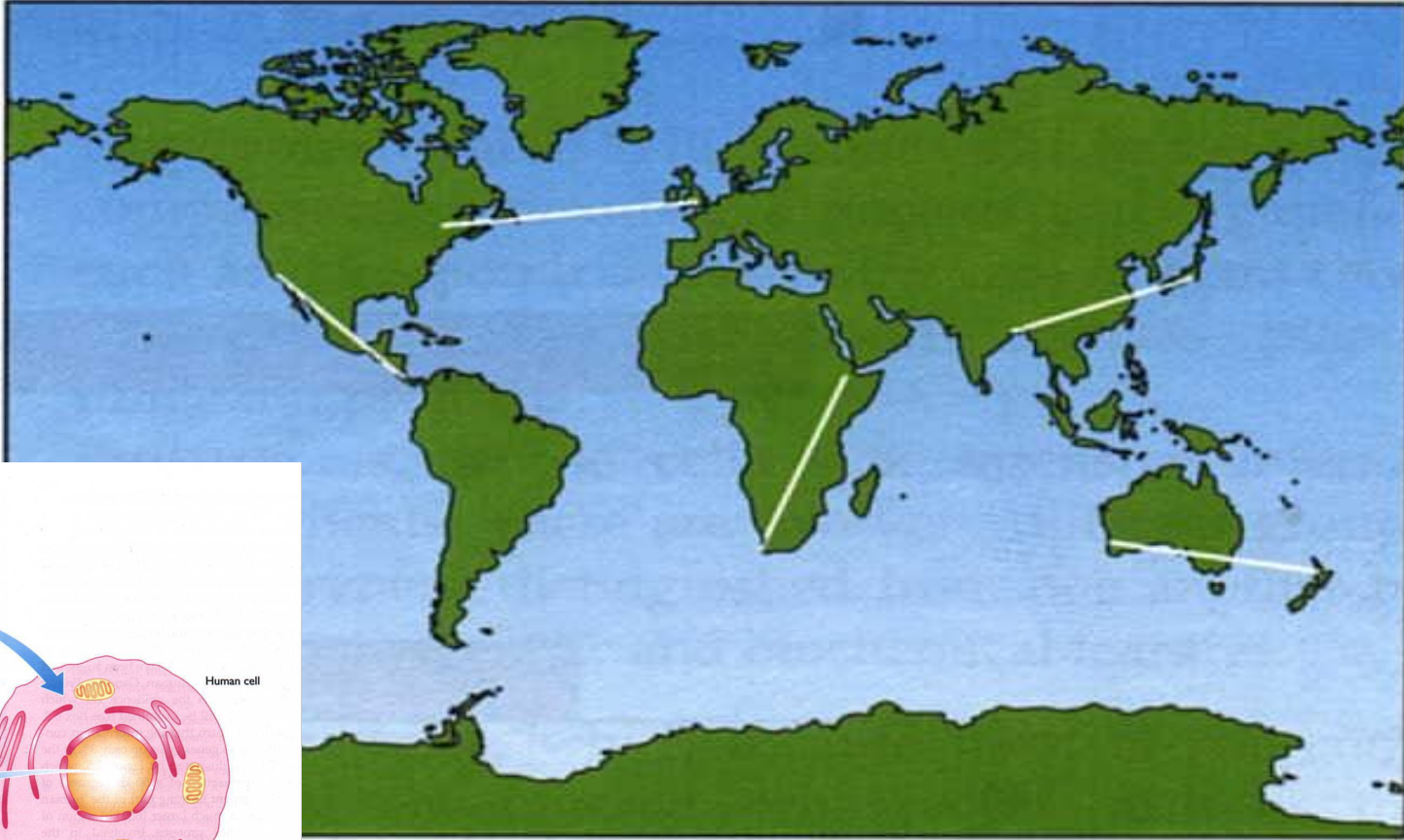


2001

Zgodovina projekta Človeški genom.



Osnutka zgradbe človeškega genoma sta bila objavljena leta 2001.



The immense length of the human genome.

The map illustrates the distance that would be covered by the human genome sequence if it was printed in the typeface used in this book.

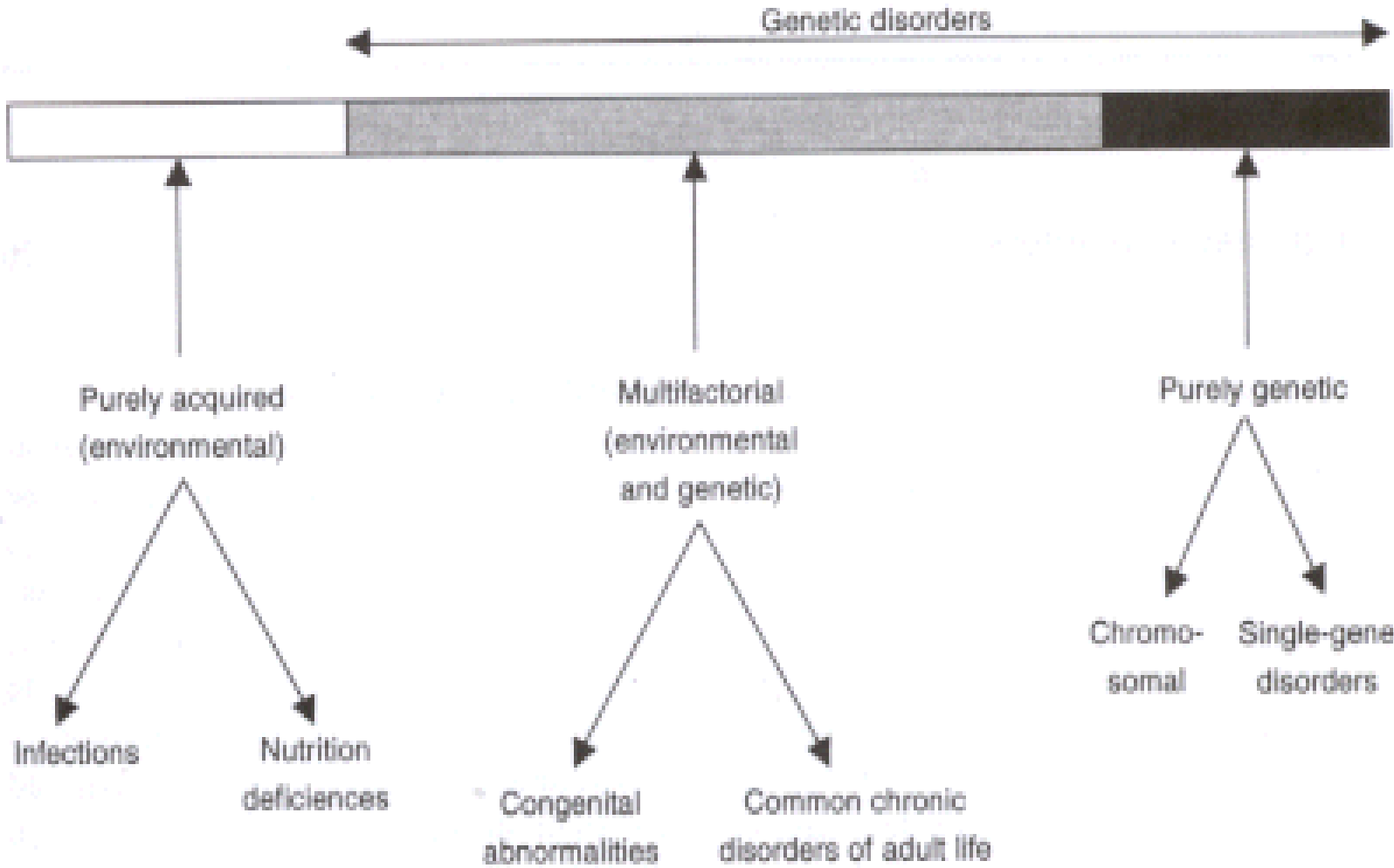


### **Molekularna medicina:**

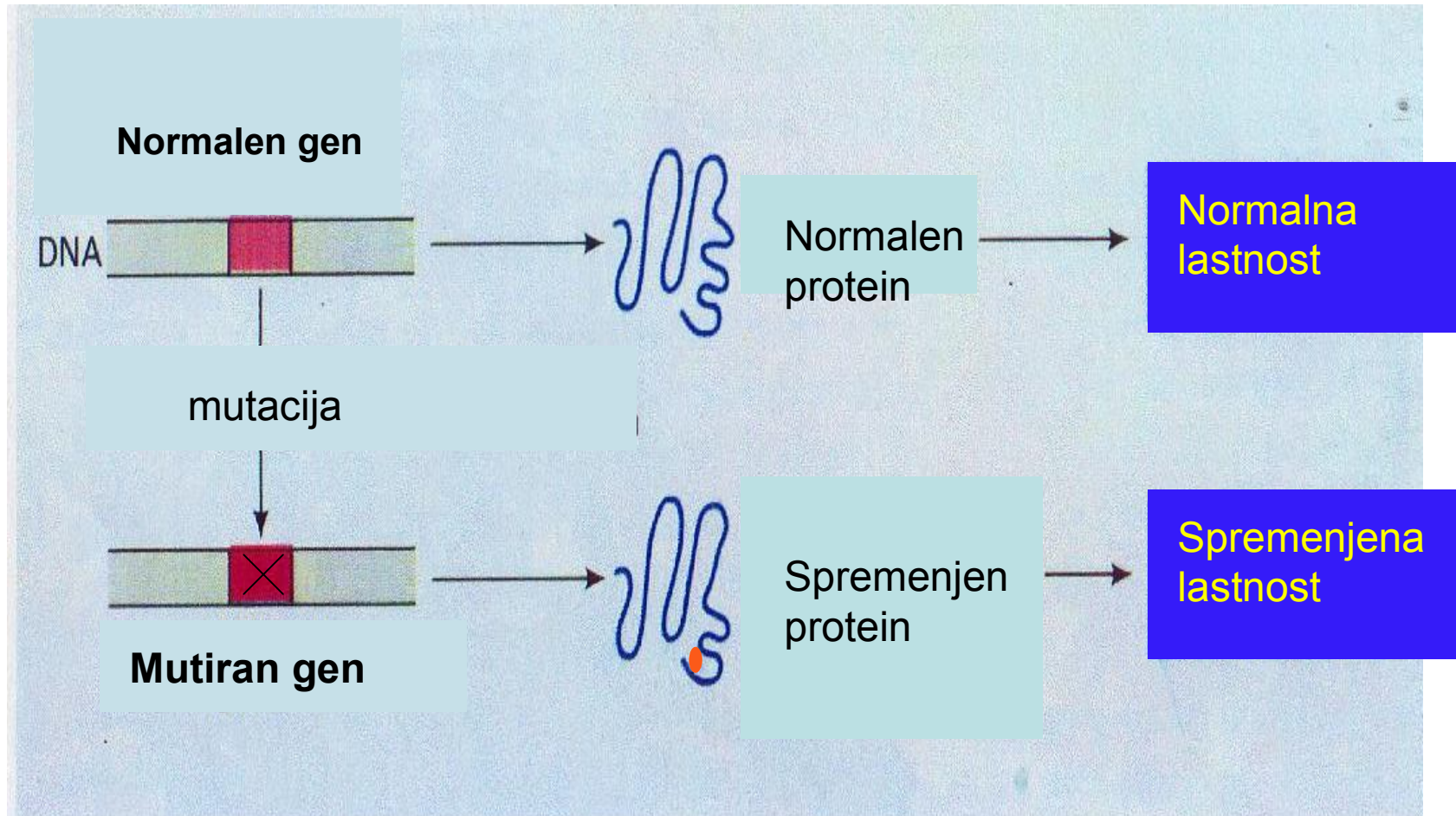
- odkrivanje molekularnih osnov bolezni
- molekulska diagnostika
- gensko zdravljenje
- druge terapevtske rešitve

manbiol

# Spekter bolesti človeka



## Koncept "bolezenskega gena"



## **Genetske bolezni**

**Genetske bolezni so velika skupina bolezni, ki so posledica večjih ali manjših sprememb (mutacij) v genetskem materialu celic (DNA v jedru ali mitohondrijih).**

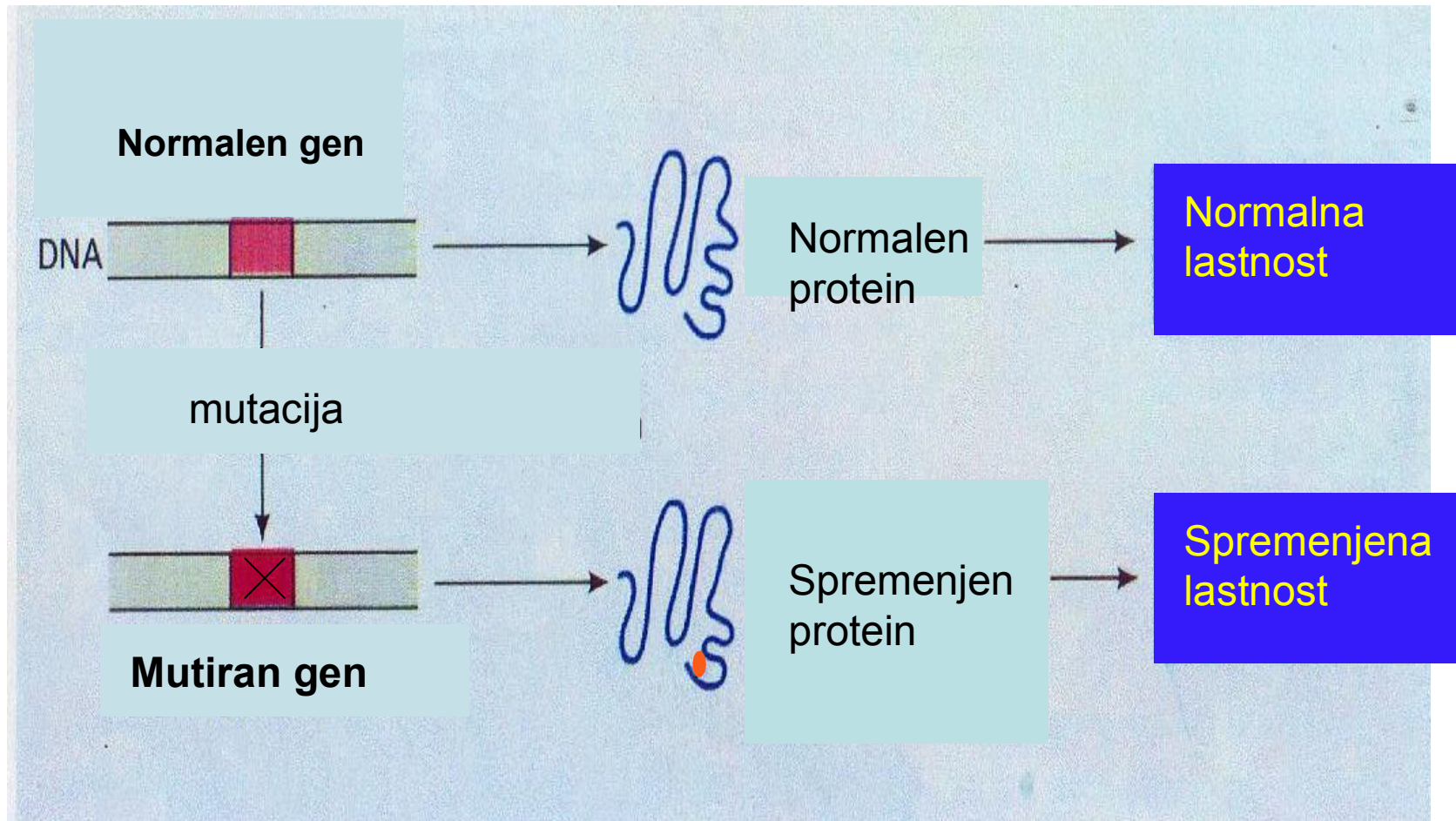
**Razvrščamo jih v:**

**kromosomske nepravilnosti**

**enogenske nepravilnosti**

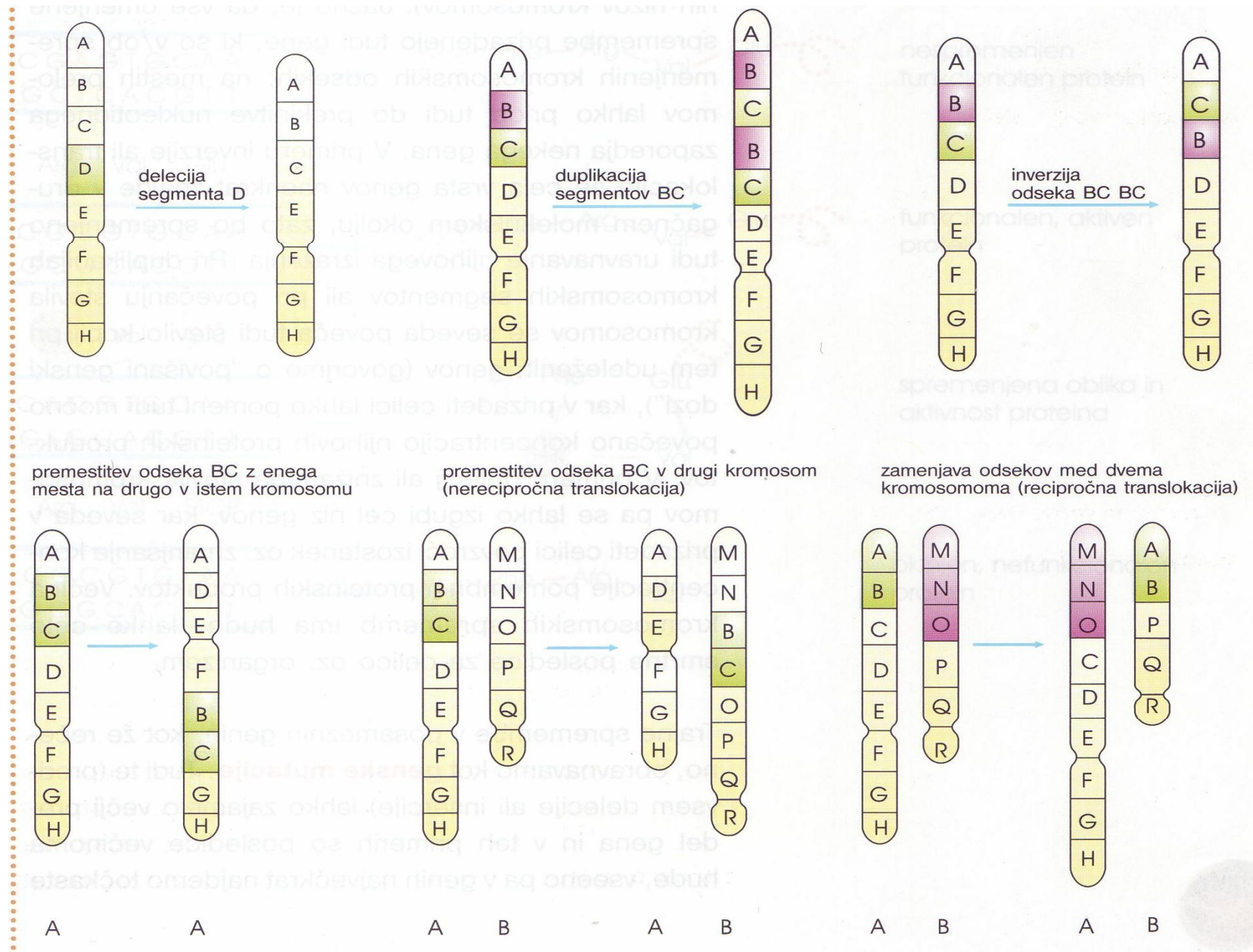
**večfaktorske (multifaktorialne) nepravilnosti**

**mitohondrijske nepravilnosti**



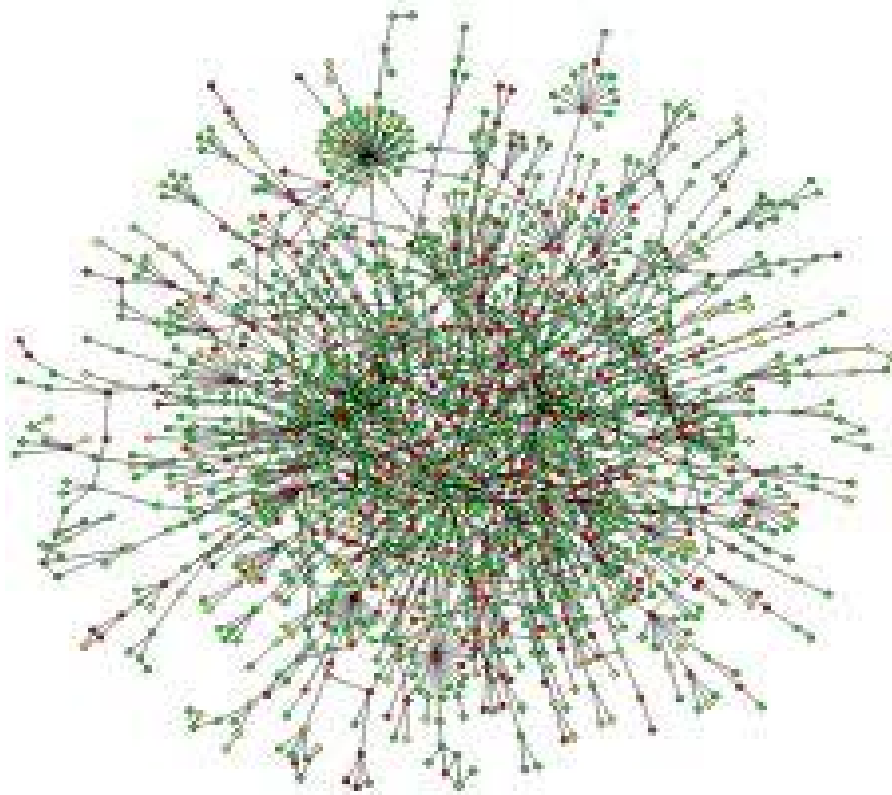
Pri "enostavnih boleznih" preiskujemo enega ali nekaj genov / proteinov.



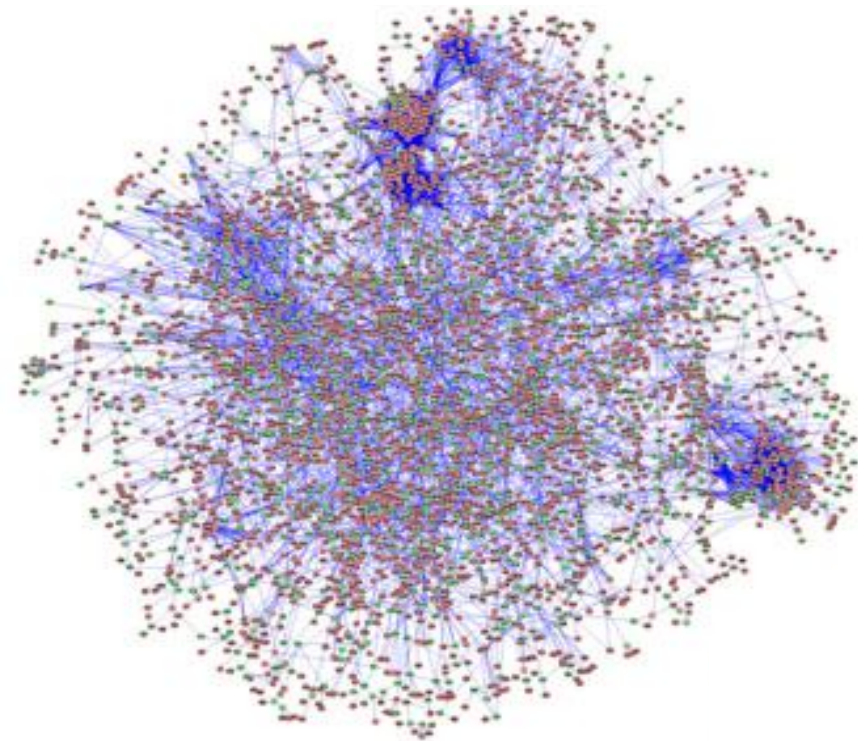


**Kromosomske nepravilnosti so obsežni premiki segmentov kromosomov - in s tem celih nizov genov, ki se znajdejo v spremenjenem okolju svojega delovanja.**

**Pri zapletenih (kompleksnih) boleznih nas zanima sistemsko (globalno) stanje in prepletanje sistemskih (globalnih) dogodkov.**



**“Normalno”**



**“Spremenjeno”**

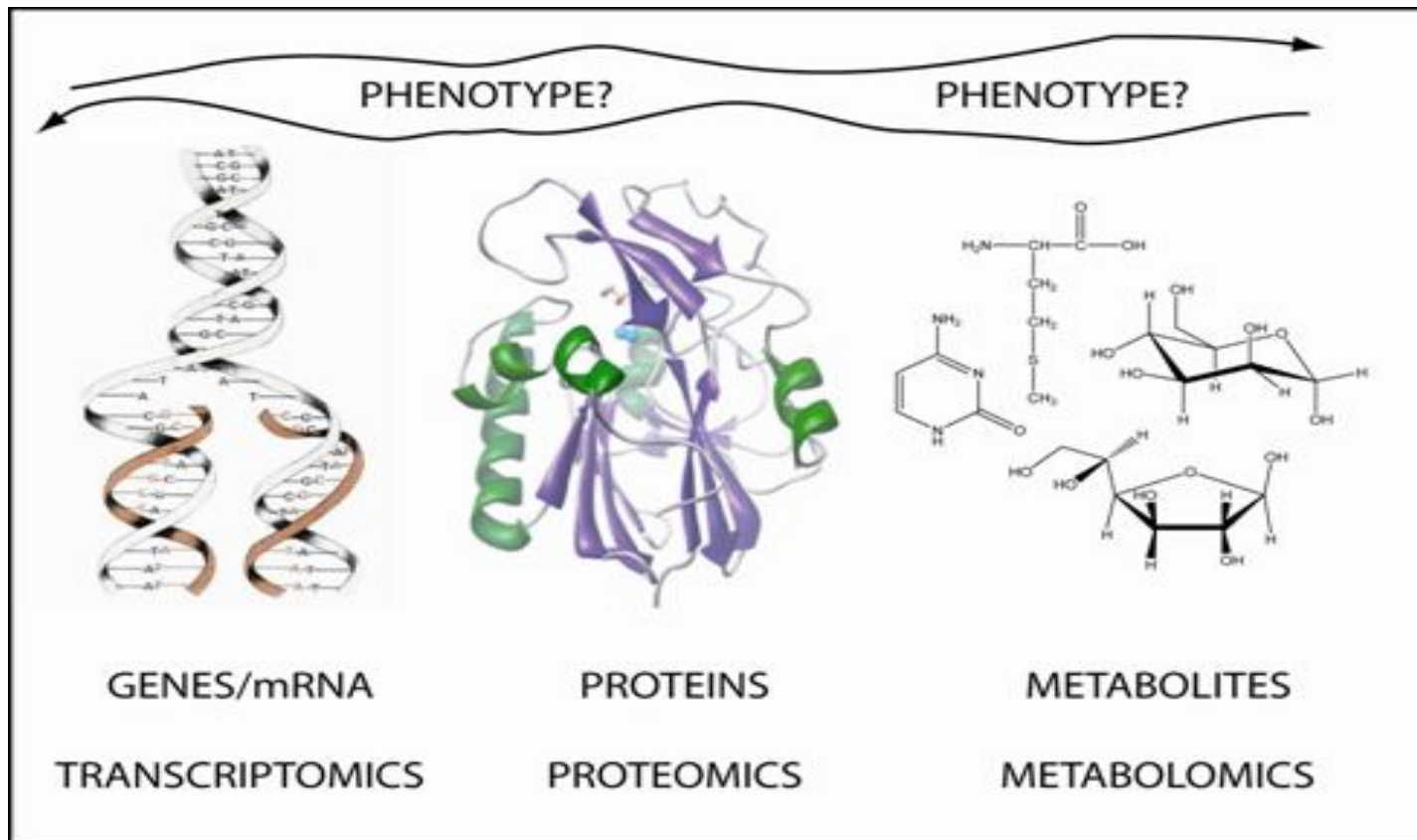
## FUNKCIJSKA GENOMIKA



Obravnava celico kot sistem sočasne (kvantitativne in kvalitativne) navzočnosti bioloških molekul in njihovih interakcij – v opazovanih fizioloških razmerah.

### Področja “omik” so:

- transkriptomika
- proteomika
- metabolomika
- interaktomika / sistemska biologija



25.000-30.000

nekaj 100.000

do 7.000

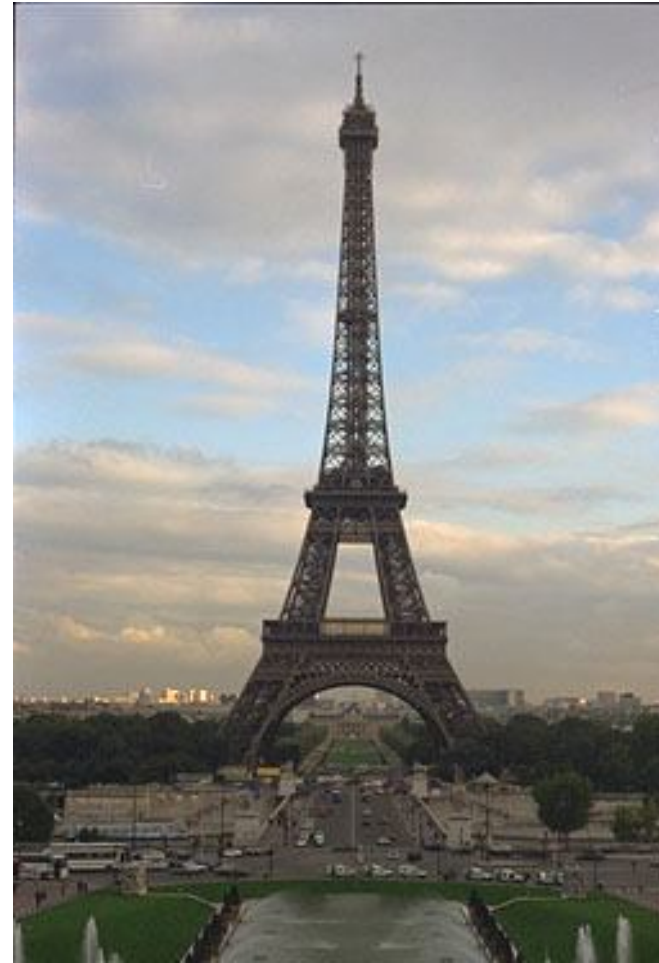
Zanima nas razlika in ključni “igralci” teh razlik.

“Zdravo fiziološko stanje”



N

“Bolezen”

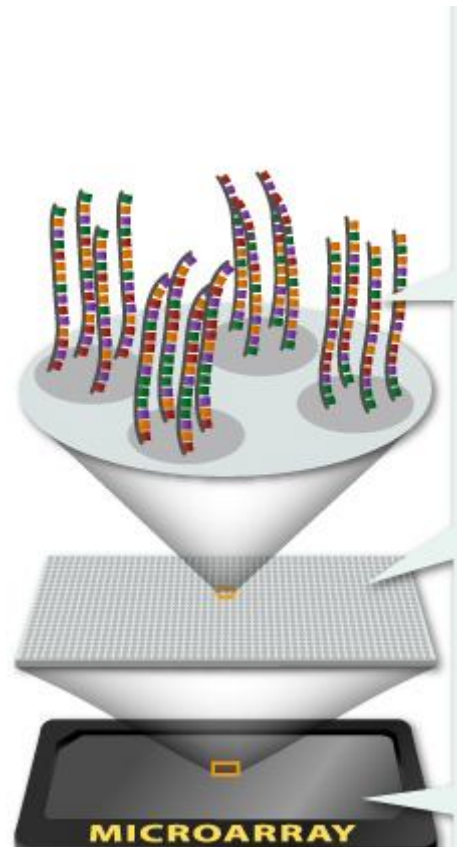


B

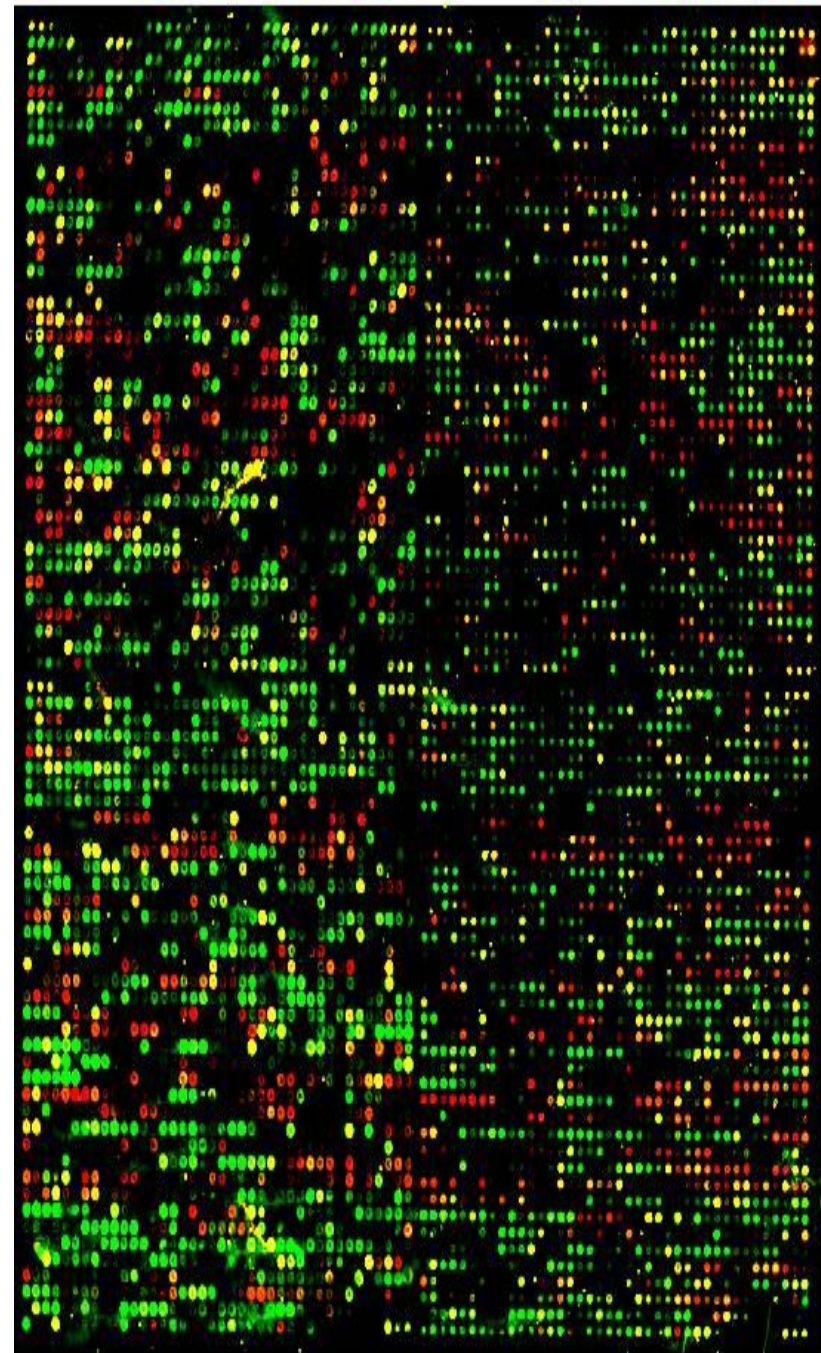




Iz ugotovljenih razlik med dvema fiziološkima stanjima lahko ugotovimo kretnice/križišča, ki odločajo o prehodu iz enega v drugo stanje.

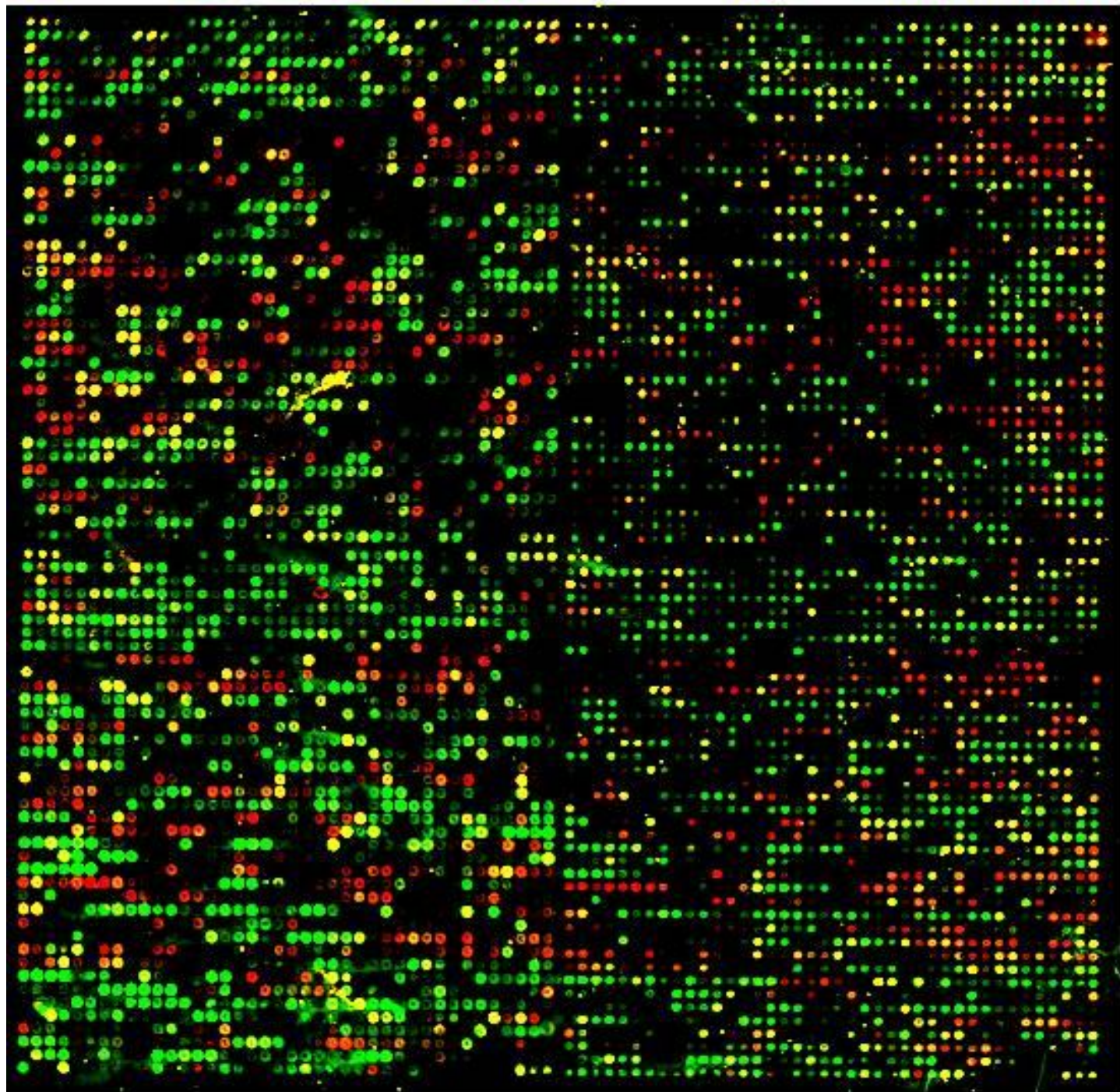


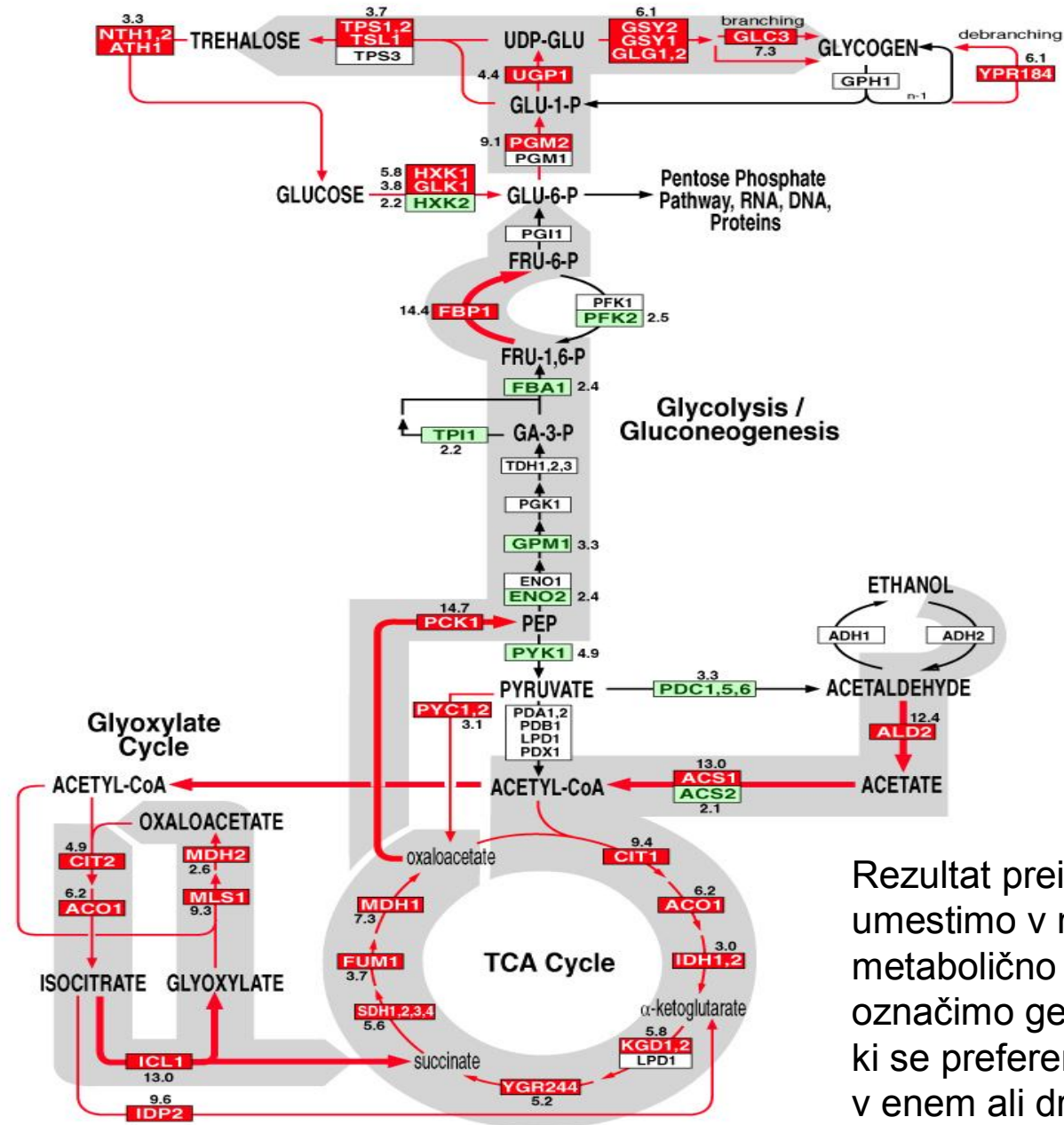
V točkah biočipa so nanešene za posamezne gene specifične sonde – kratke (nekaj deset nukleotidov) enojne verige DNA.



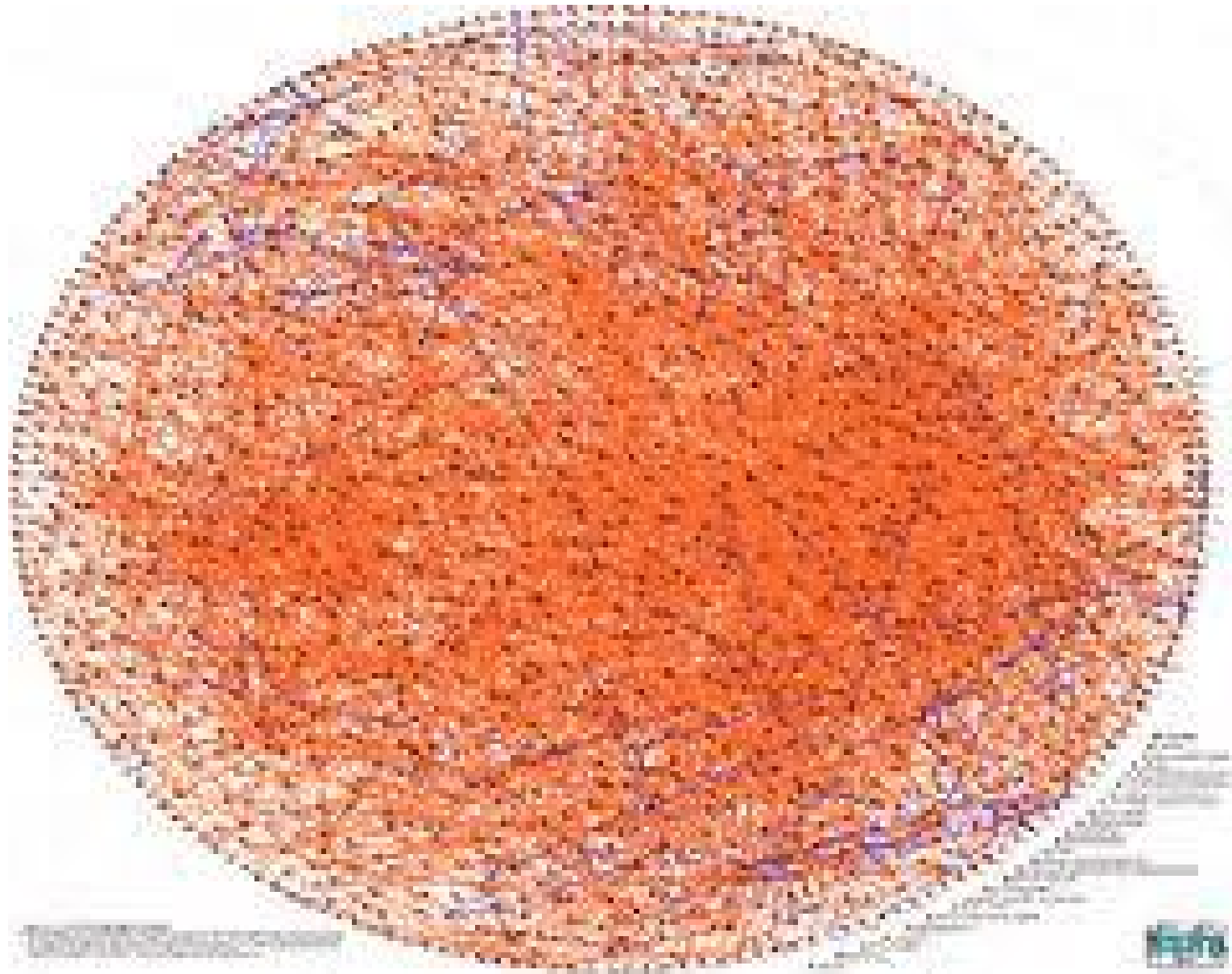
**DNA Microarray Methodology - Flash Animation**  
**DNA Microarray Methodology Animation.htm**

<http://www.bio.davidson.edu/courses/genomics/chip/chipQ.html>

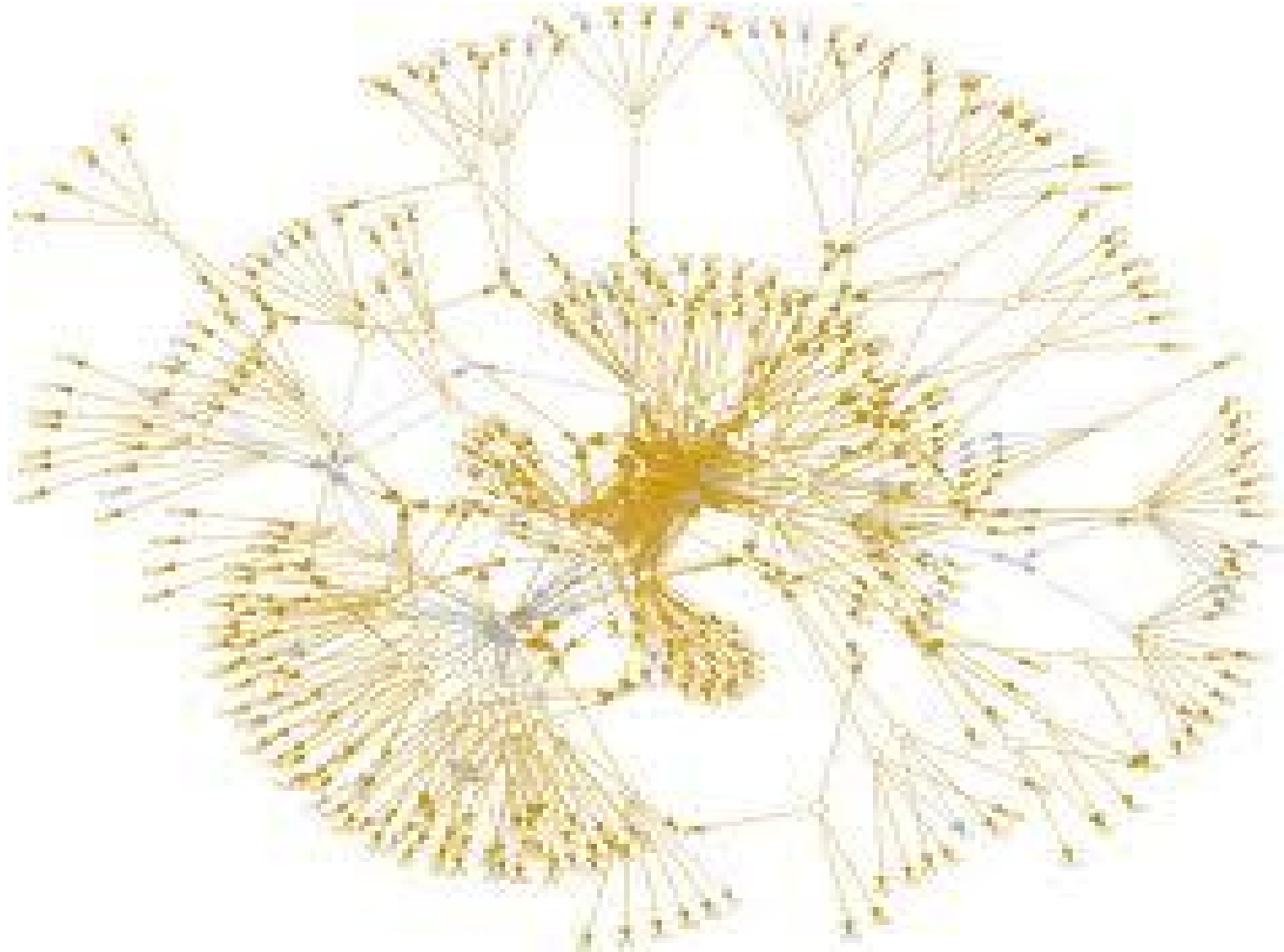




Rezultat preiskave lahko umestimo v neko metabolično pot in barvno označimo gene/proteine, ki se preferenčno izražajo v enem ali drugem fiziološkem stanju.

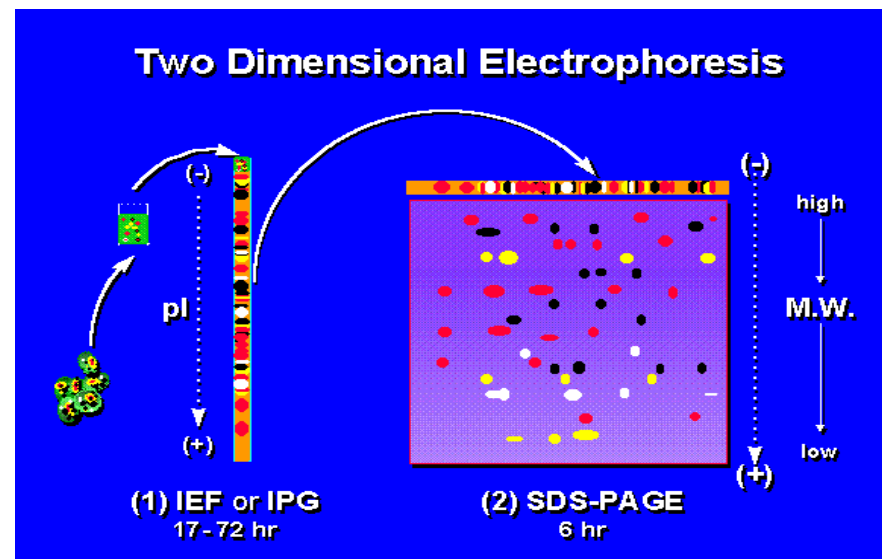
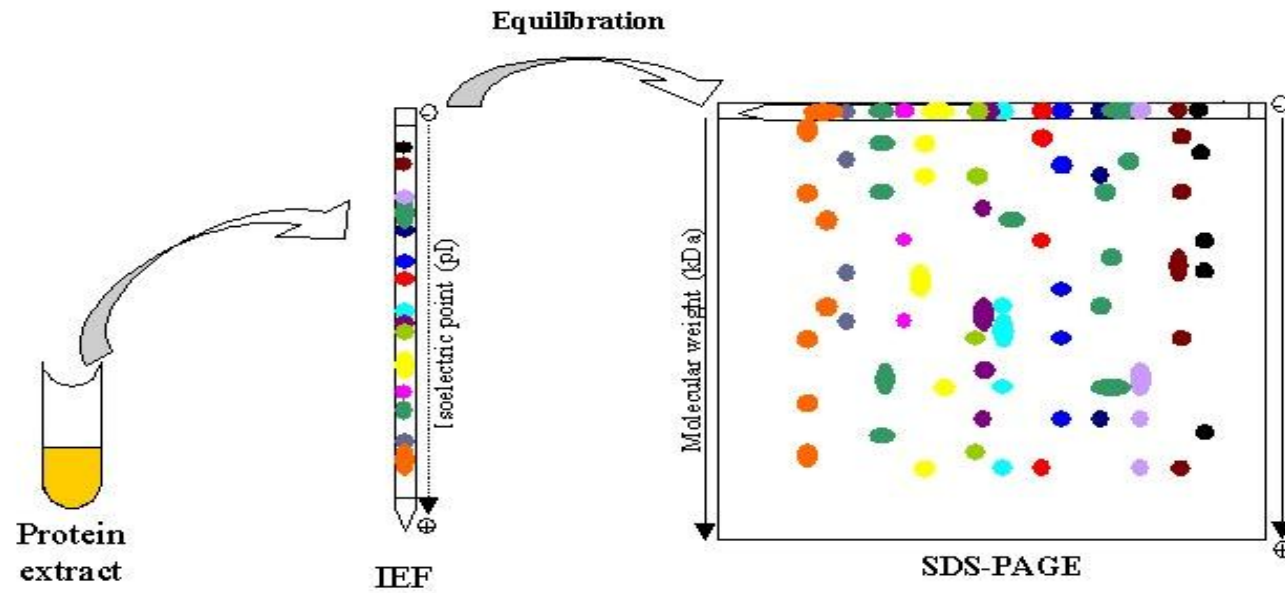


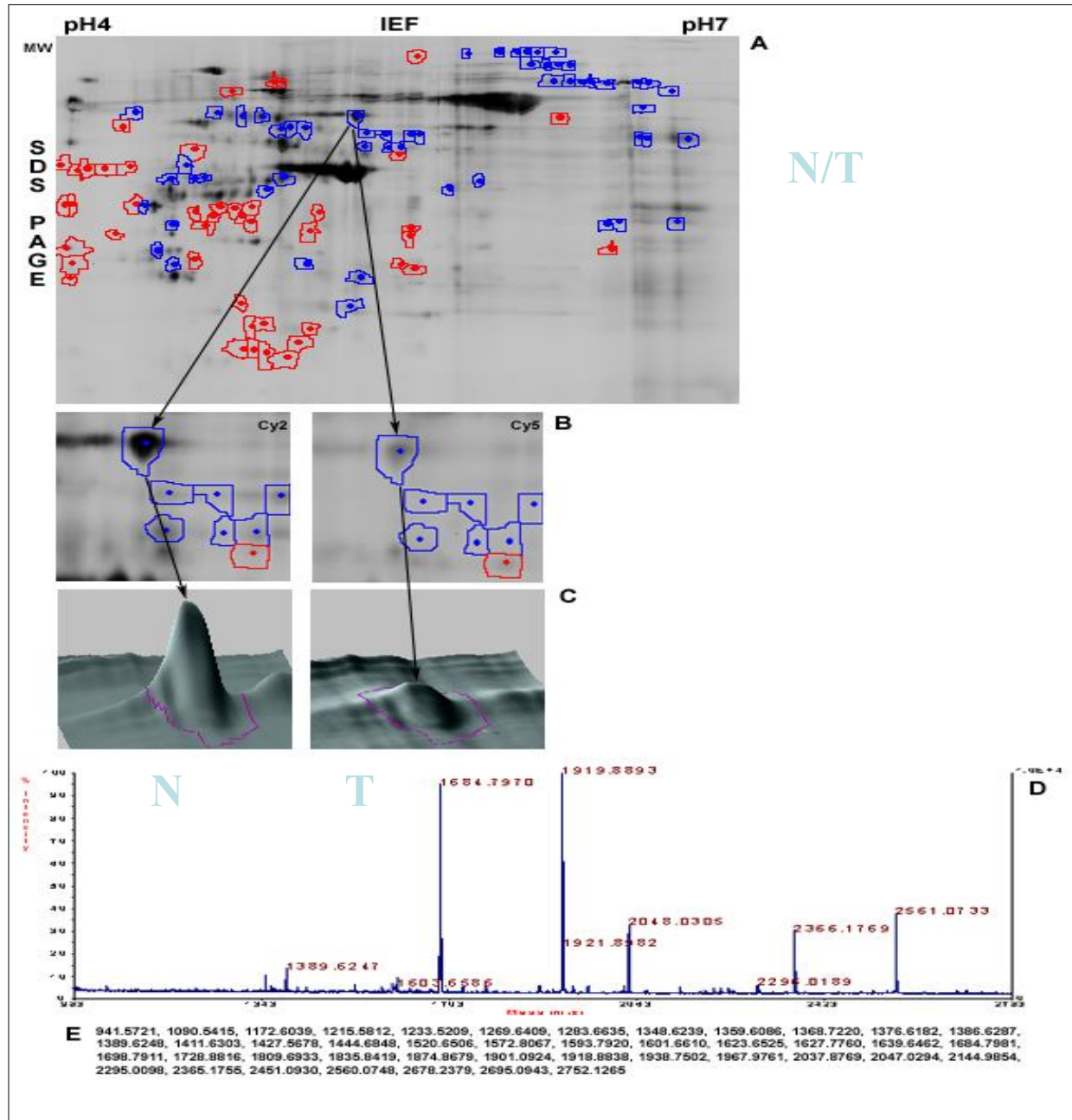
**“Celični proteom”**



**“Celični proteom”: komunikacijska mreža**

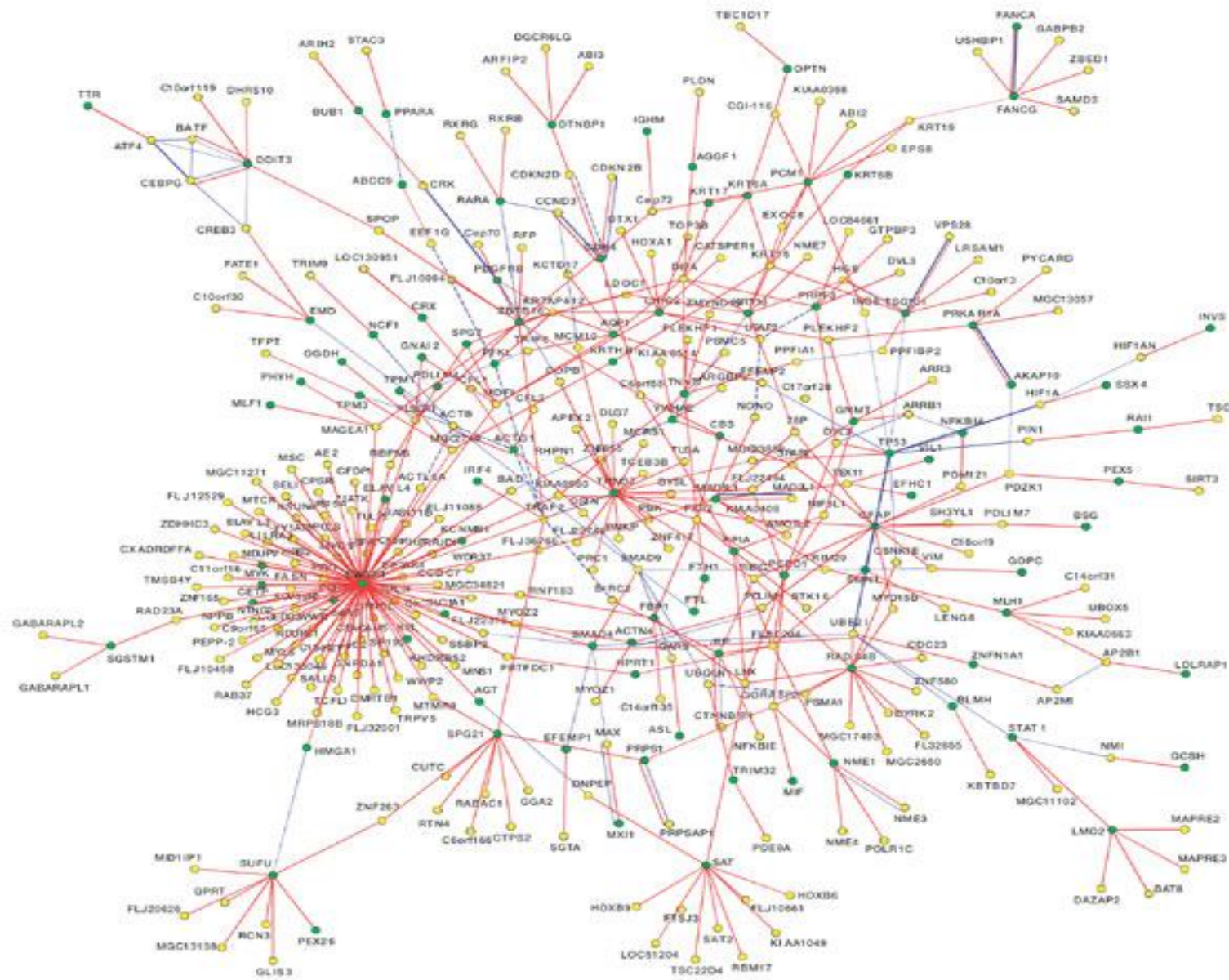
2D electrophoreza je izhodiščna tehnika preiskave proteoma.



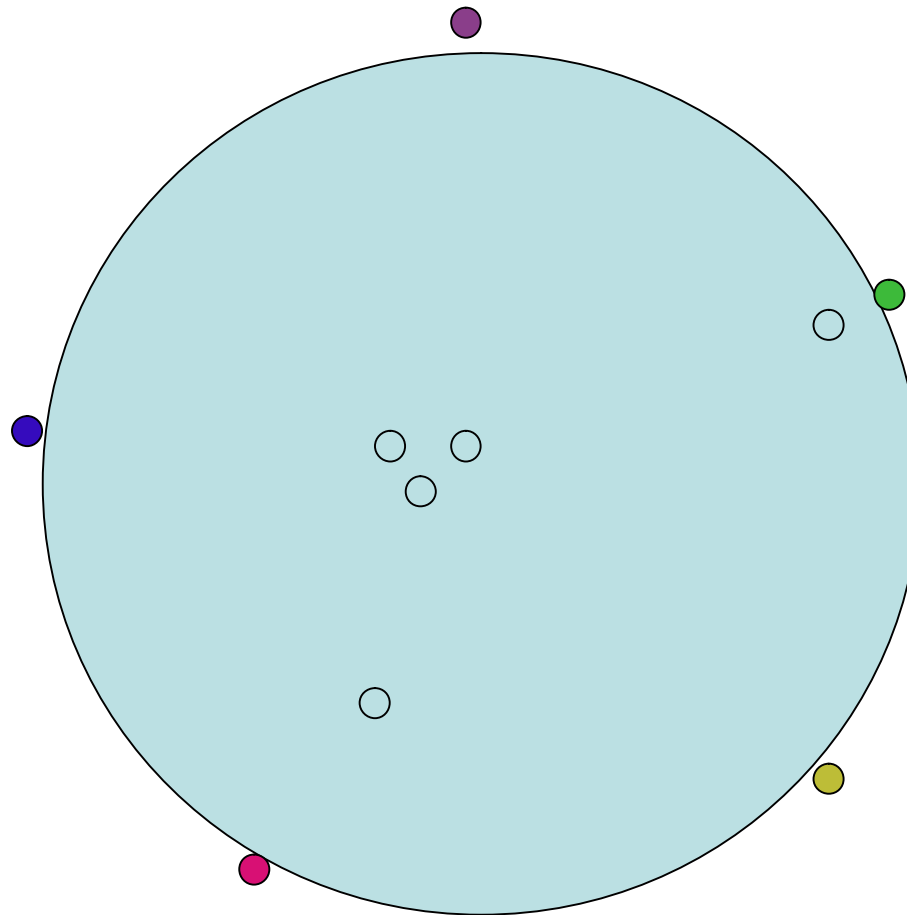


## PRIMER IDENTIFIKACIJE

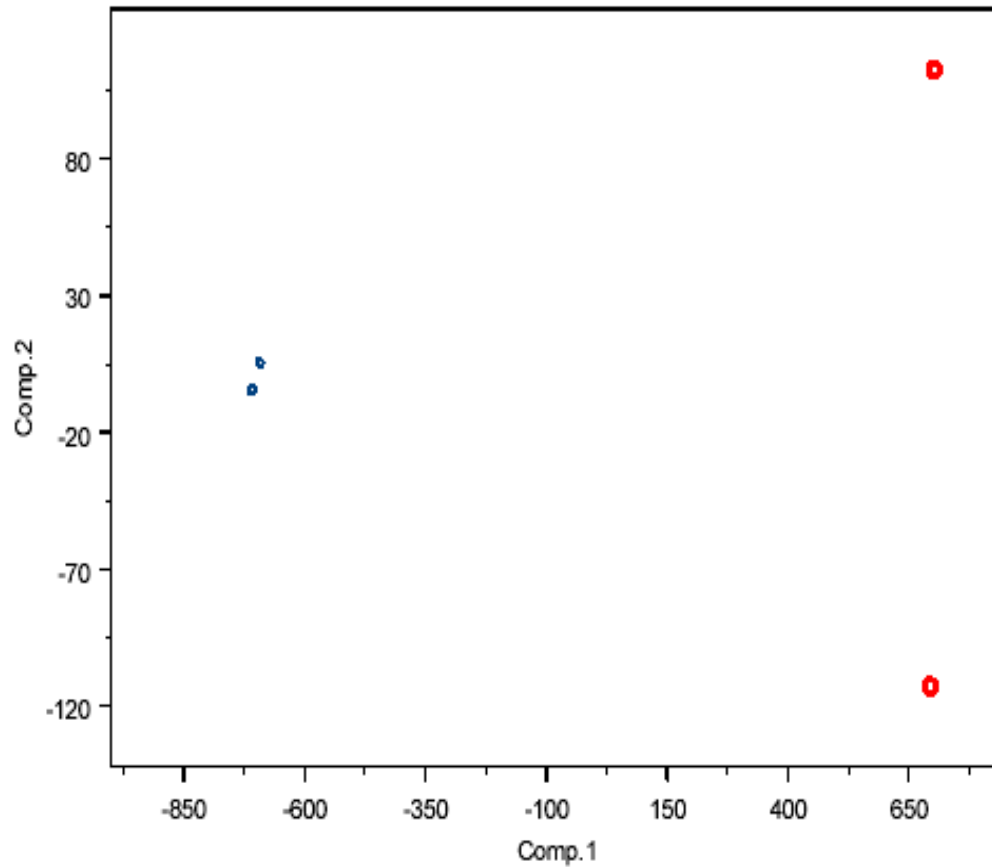
- 2D-DIGE
- DeCyder analiza 'Gene Scan'-a
- MALDI TOF/MS
- Podatkovne baze



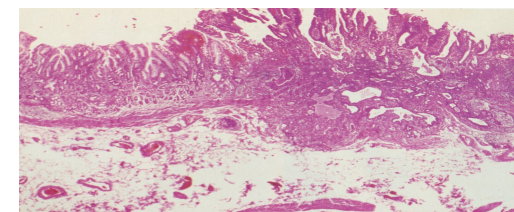
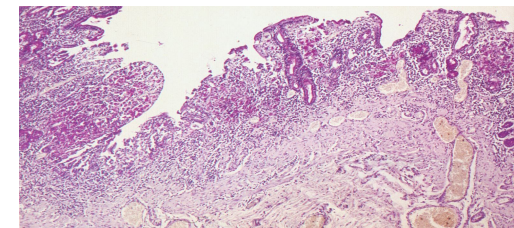
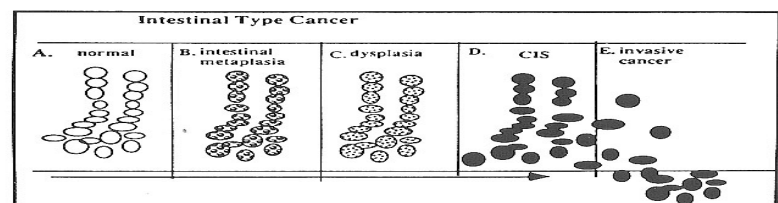
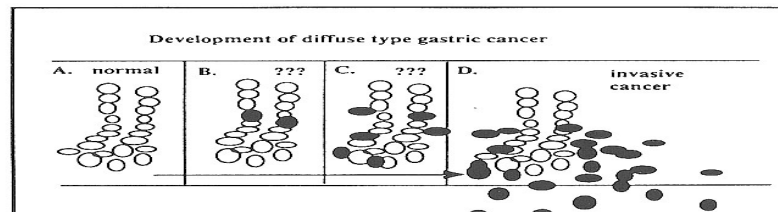
Seveda pa nas zanima, kateri proteini interagirajo oz. imajo komunikacijske povezave.

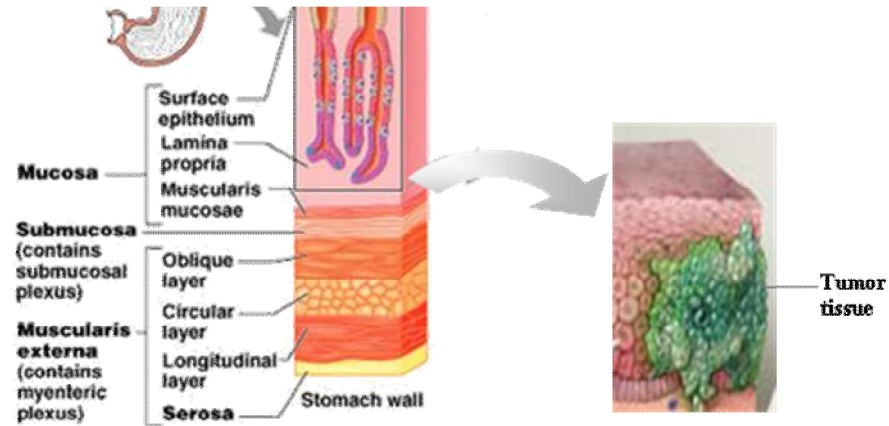


Enostavno gručenje: na sliki je pet naključno izbranih genov / proteinov (iz zbirke ugotovljenih, ki so pokazali razlike v izražanju) in proti sredini kroga je prikazana intenziteta njihovega izražanja. Seveda v naključnem izboru ne dobimo takoj tako lepega rezultata (gručenja), temveč je potrebno preiskati vse možne kombinacije ugotovljenih genov / proteinov.

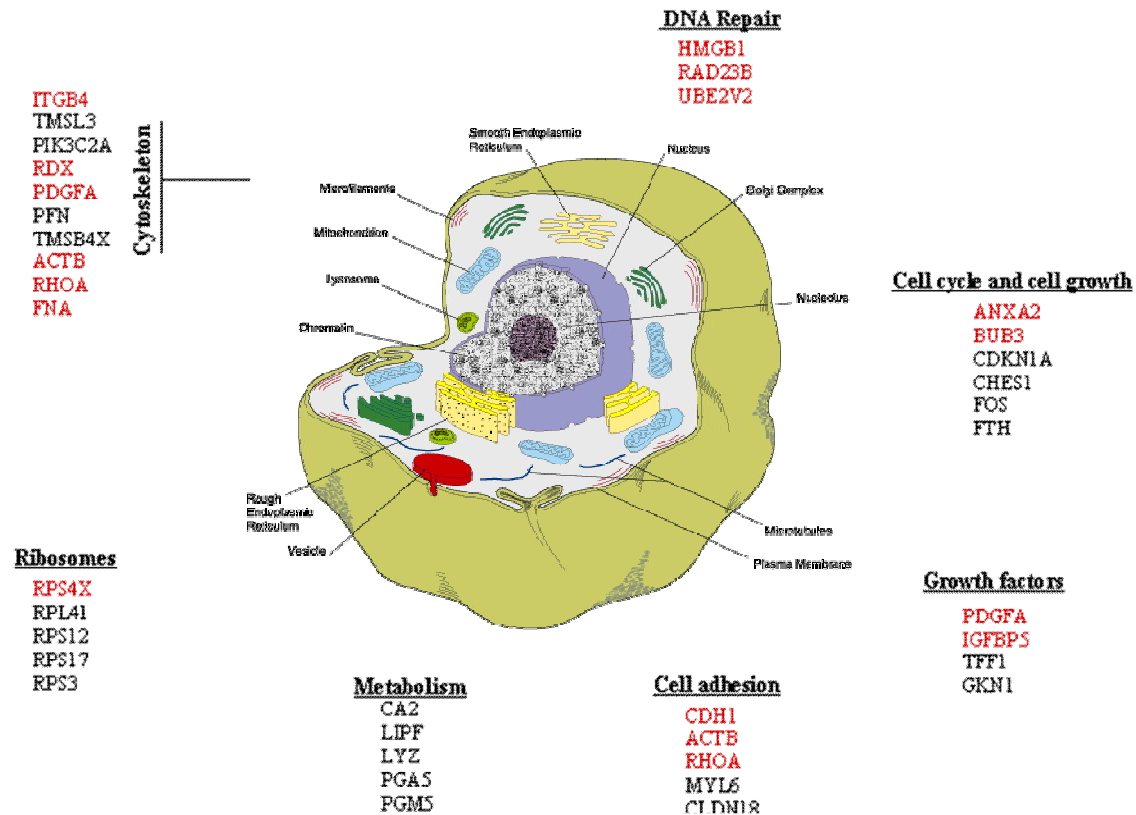


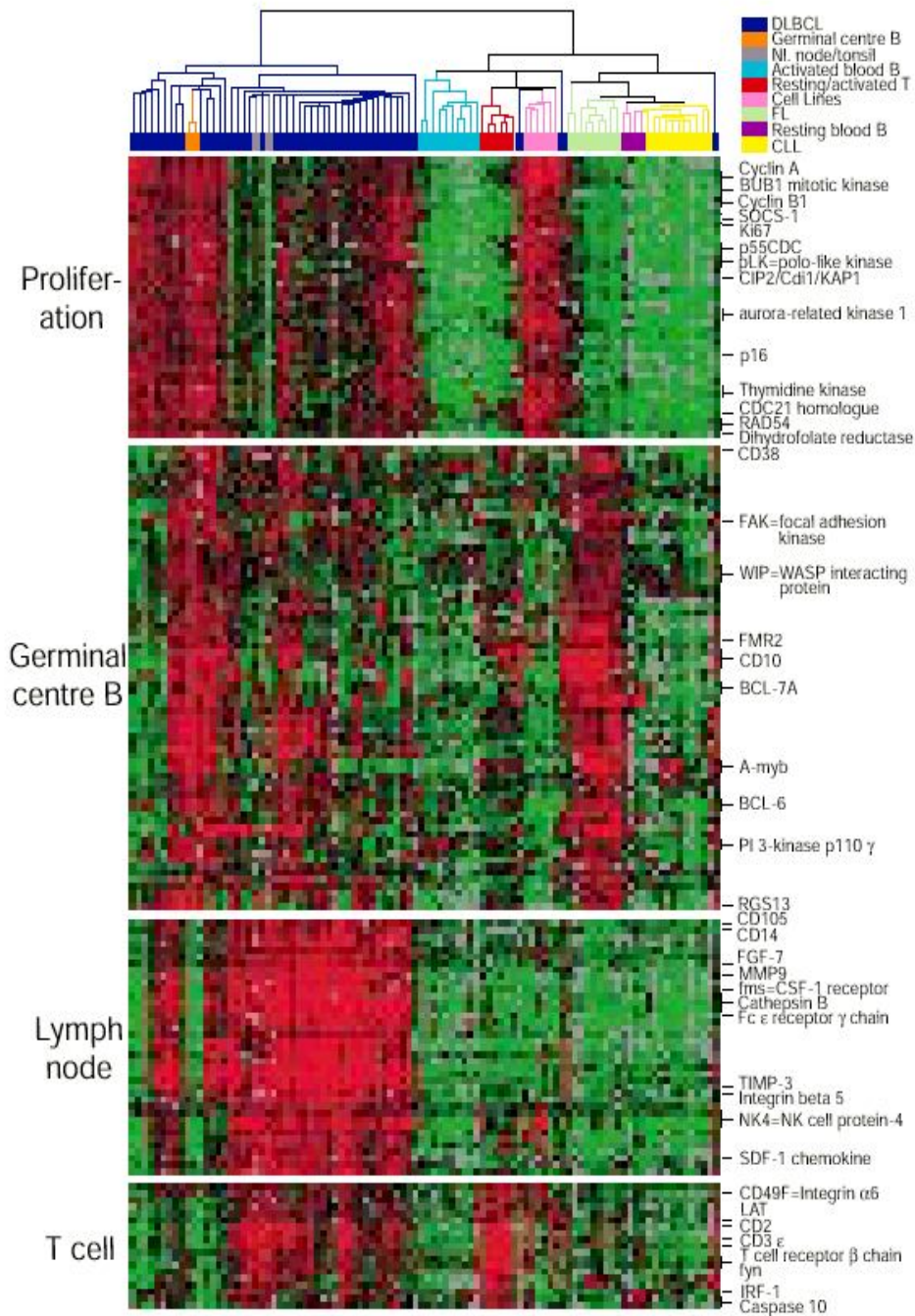
**Diagnostika:**  
**Primer dveh bolnikov z adenokarcinomom želodca; na levi sta genski/proteomski gruči njune normalne želodčne sluznice, na desni pa njunih tumorjev. Razlika na desni nakazuje zelo različni gruči nad/pod-izraženih genov/proteinov in s tem različni molekularni poti razvoja bolezni.**





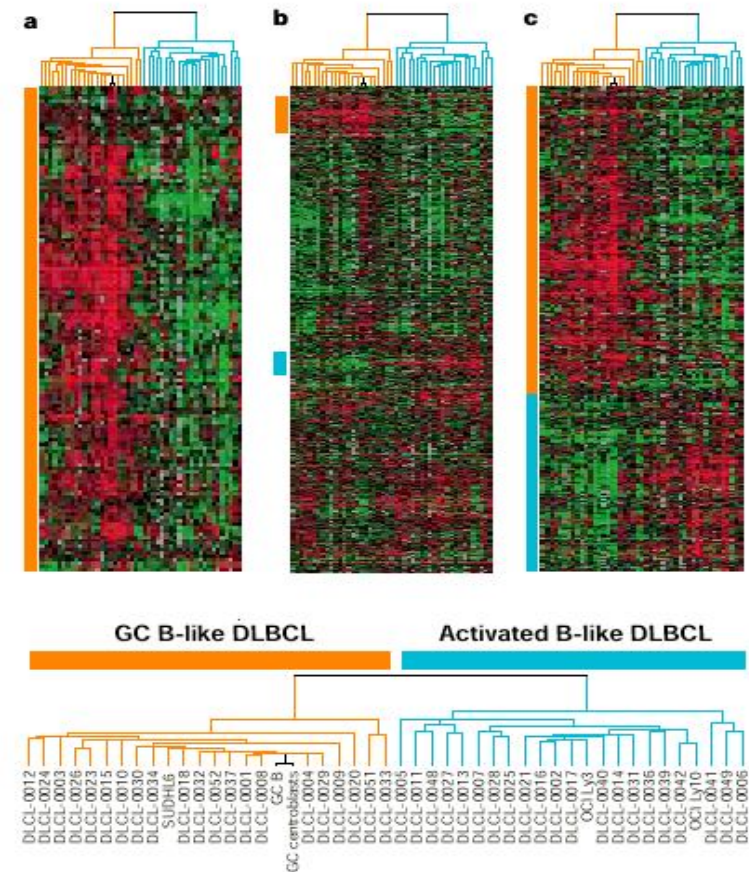
Gručenje genov / proteinov glede na njihovo lokacijo oz. biološko vlogo.





## Sistemska analiza (transkriptoma) pri difuznem B-celičnem limfomu

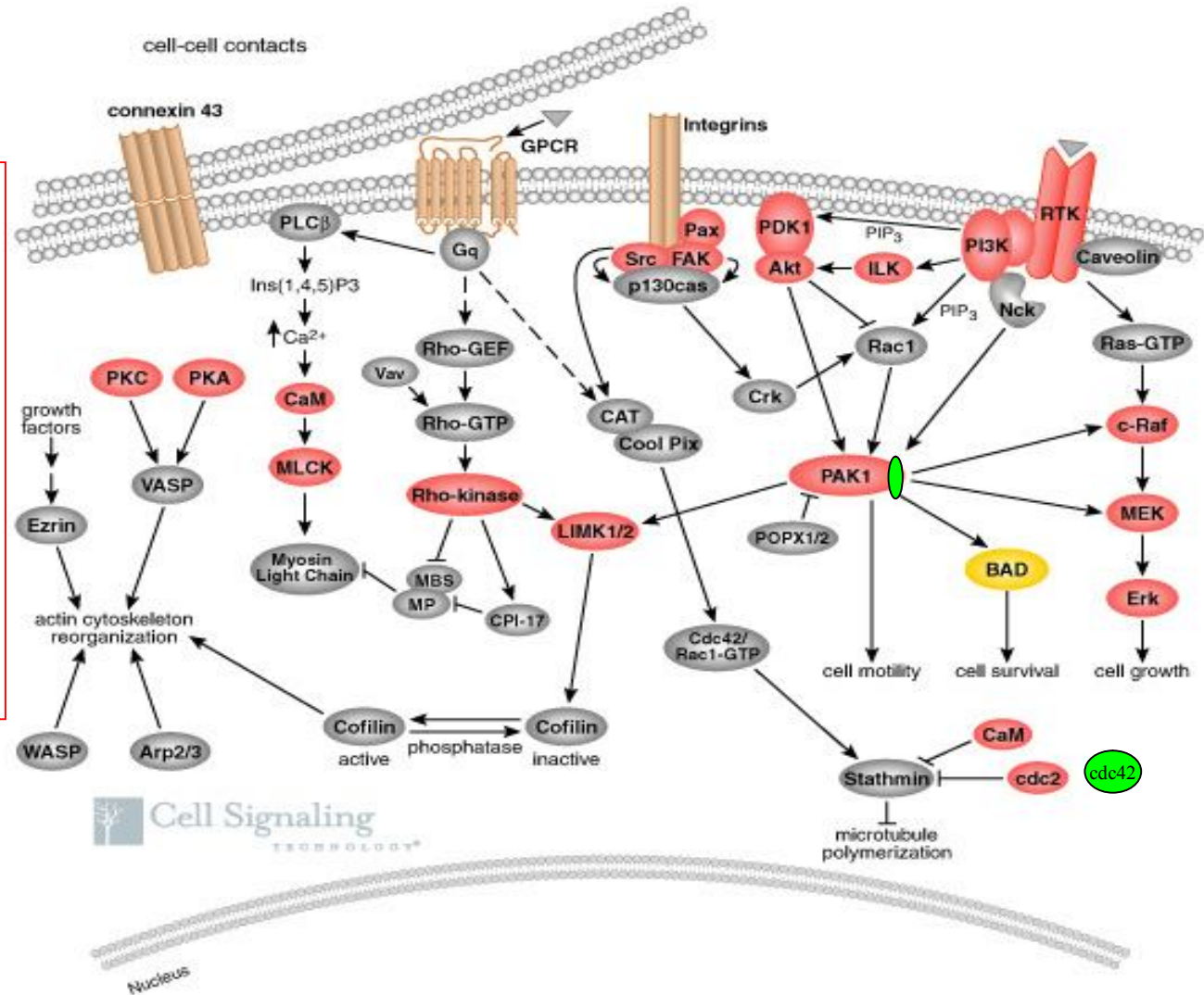
Histološko enake oblike bolezni je preiskava opredelila kot tri različne poteke molekularnih dogodkov, kar je pomembno za določitev načina zdravljenja.



# e.g. Cytoskeletal signaling

Cdh1  
 MYL6, ↓CLDN18 - t.j.  
 YES1, ACTB, RHOA

TMSL3, PIK3C2A  
 RDX, PDGFA, PFN1,  
 TMSB4X, ITGB4,  
 a.c.



Primer ugotovitve interakcije dveh preiskovanih proteinov (obarvano zeleno), ki ju nato umestimo v poznano komunikacijsko mrežo.

V naslednjem koraku poskušamo najti majhne molekule – pospeševalce ali zaviralce (odvisno od namena) takega proteina oz. njihovih partnerjev: **načrtovanje in razvoj ciljnih (bioloških) zdravil.**

**METABOLOME:** *popolen nabor malih molekul, ki so metaboliti*

- intermediati metabolizma
- hormoni
- ostale signalne molekule
- sekundarni metaboliti

**Primarni metaboliti** so organske molekule, ki so neposredno udeležene v procesih normalne rasti, razvoja in reprodukcije.

**Sekundarni metaboliti** so organske molekule, ki niso neposredno udeležene v zgoraj omenjene procese. Navadno imajo pomembno okoljsko vlogo (antibiotiki, pigmenti pri mikroorganizmih, obrambne spojine pri rastlinah in živalih, feromoni ipd.)



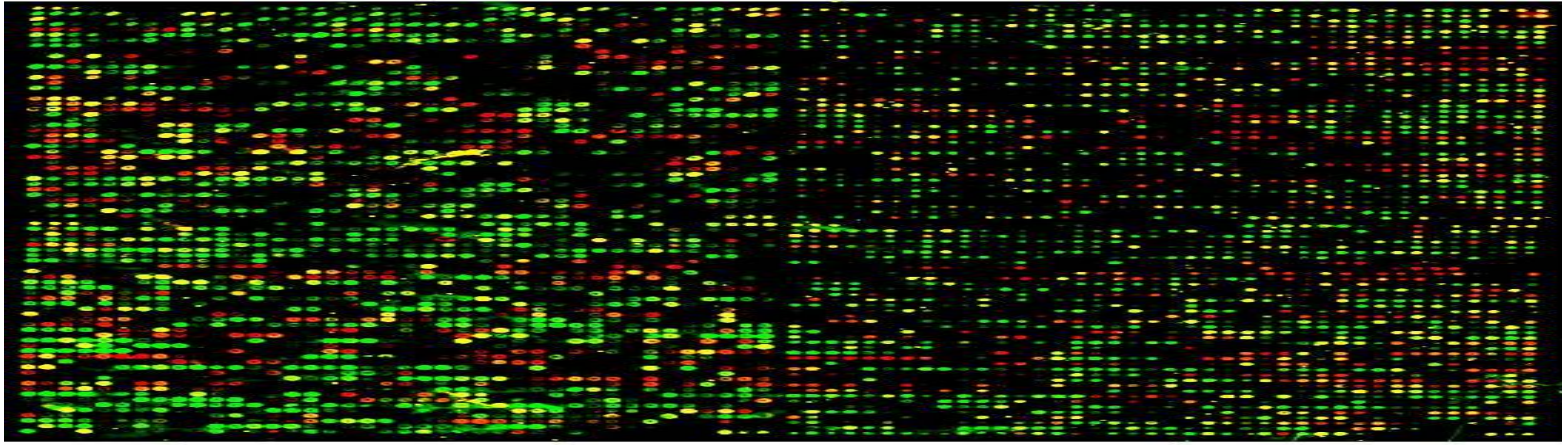
Tukaj je  
prikaz  
projekta  
Človeški  
metabolom.

**Human Metabolome Project** is a \$7.5 million Genome Canada funded project launched in January 2005.

They estimated approximately 2900 endogenous or common metabolites that are detectable in the human body. Not all of these metabolites can be found in any given tissue or biofluid. This is because different tissues/biofluids serve different functions or have different metabolic roles. Until 2006, the HMP has identified and quantified (i.e. determined the normal concentration ranges for) 309 metabolites in CSF, 1122 metabolites in serum, 458 metabolites in urine and approximately 300 metabolites in other tissues and biofluids.

In January 2007 scientists at the University of Alberta and the University of Calgary finished a draft of the human metabolome. They have catalogued and characterized 2,500 metabolites, 1,200 drugs and 3,500 food components that can be found in the human body.

The data are freely accessible in an electronic format to all researchers through the Metabolome Database ([www.hmdb.ca](http://www.hmdb.ca)). In addition, all compounds will be publicly available through our Human Metabolome Library ([www.metabolibrary.ca](http://www.metabolibrary.ca)).



**Veliko količino podatkov iz “omski” raziskav obdeluje in povezuje tako imenovana “sistemska biologija”, katere temeljno orodje je bioinformatika.**

**No osnovah raziskav funkcijske genomike in sistemske biologije temelji medicina prihodnosti, ki bo usmerjena v tako imenovano “osebno medicino”. Ta bo pri obravnavanju bolnikov in njihovem zdravljenju upoštevala ugotovljene individualne razlike.**