

Eksperimentalne metode za delo z nukleinskimi kislinami in proteini

Nukleinske kisline

Ločevanje DNA in RNA - gelska elektroforeza, kapilarna elektroforeza

Pomnoževanje nukleinskih kislin - Verižna reakcija s polimerazo: PCR, RT-PCR, qPCR

Določanje nukleotidnega zaporedja, merjenje izražanja genov- mikromreže (DNA čipi), sekvenciranje

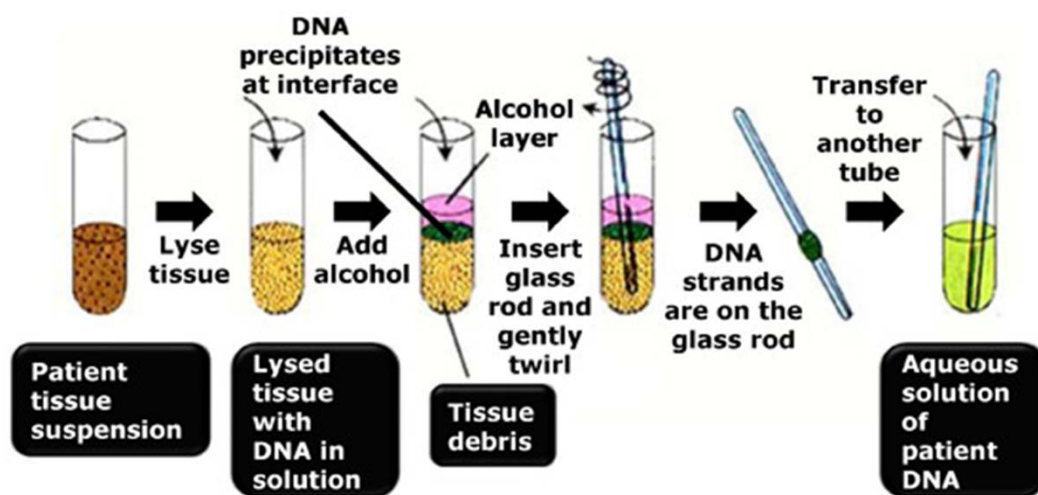
Ločevanje proteinov (in metabolitov)
Kromatografske metode, gelska elektroforeza, 1D, 2D)

Detekcija: spektrofotometrične metode, masna spektrometrija, NMR

Proteini

Priprava biomolekul iz bioloških vzorcev

- Biomolekule (DNA, RNA, proteine, itd.) najprej izločimo (izoliramo) iz celic razbijemo z mehanskimi ali kemijskimi postopki (vaje Biokemija 2).
- Nukleinske kisline oborimo z npr. etanolom.
- Proteine obarjamo s solmi, kot je npr. amonijev sulfat.



Primer: izolacija DNA iz krvi

Izbira nadaljnji postopkov (metod) je odvisna od raziskovalnega ali kliničnega vprašanja.

Prisotnost nekaterih biomolekul in njihovo koncentracijo lahko določamo tudi direktno v kliničnih vzorcih – npr. biomarkerji (biološki označevalci) v krvnem serumu/plazmi.

Ločevanje nukleinskih kislin - gelska elektroforeza

Elektroforeza - potovanje nabitih molekul DNA (negativni naboj zaradi fosfatov) v električnem polju (potujejo proti anodi)

Elektroforeza poteka v želatinasti podlagi (zamreženem mediju), ki je lahko agarozna (ločevane DNA) ali poliakrilamid (ločevanje proteinov)

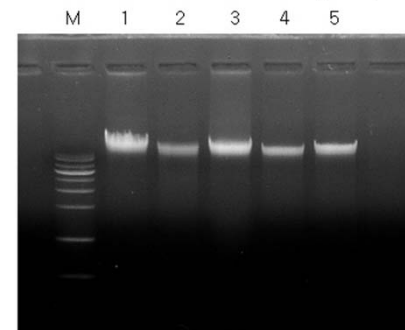
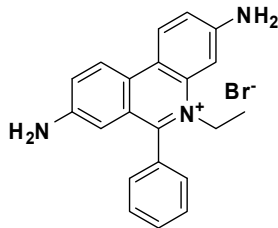
$$V = e \cdot E / f$$

Hitrost potovanja je premo sorazmerna z nabojem molekule (e) in jakostjo električnega polja (E) ter obratno sorazmerna s torzijskim koeficientom (f), ki je odvisen od velikosti in oblike iona, ki se giblje.

Agarozna gelska elektroforeza nukleinskih kislin: Naboj na enoto dolžine DNA ali RNA stalen, zato je mobilnost v električnem polju odvisna od **velikosti** in **oblike**: večje molekule potujejo počasneje. Krožna DNA se premika hitreje od linearne DNA enake velikosti.

Mobilnost obratno sorazmerna z $(\log_{10}) M_w$ - z elektroforezo na agaroznem gelu lahko določimo molsko maso (dolžino) neznanim molekulam DNA, ob primerjavi s standardno DNA lestvico, ki vsebuje DNA znanih dolžin.

Vizualizacija DNA v gelu - obarvanje s fluorescentnimi barvili, ki se vrinejo (interkalirajo) med bazne pare (npr. etidijev bromid).



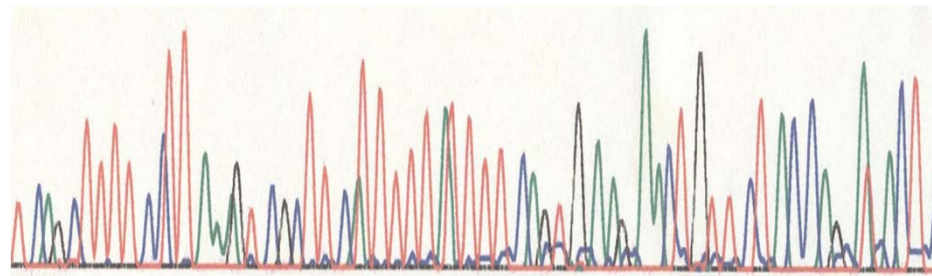
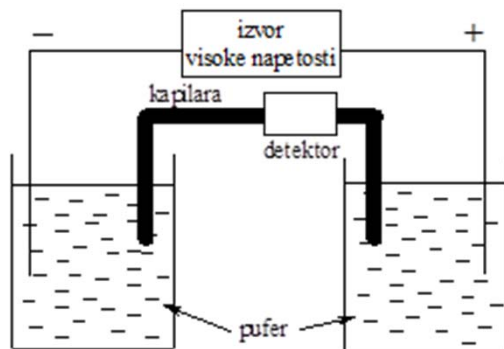
Nukleinske kisline lahko ločujemo tudi s kapilarno elektroforezo

Za ločevanje ne uporabljamo gela, temveč kapilare, napolnjene s polimerom. Zaradi daljše poti ima ločevanje veliko zmogljivost.

Ločujemo nabite delce na podlagi njihovega naboja in mase.

Ne glede na naboj (pozitivni ali negativni), vse molekule po kapilari potujejo v isti smeri (proti katodi; zaradi elektroosmotskega toka) vzorci pa se med potovanjem ločujejo zaradi elektroforetske mobilnosti.

Elektroosmotski tok – gibanje topila - je posledica površinskega naboja na steni kapilare iz silikonskega stekla. Med ločevanjem se nenabite molekule pomikajo z enako hitrostjo kot elektroosmotski tok, pozitivno nabite molekule potujejo hitreje, negativno nabite pa počasneje.



Slika 12.10. Shema kapilarne elektroforeze. Primer izpisa kapilarne elektroforeze. **C**, **A**, **G**, **T**

PCR - Reakcija verižne polimerizacije (Verižna reakcija s polimerazo)

angl. *Polymerase Chain Reaction*

Omogoča encimsko pomnoževanje (kopiranje) odsekov DNA.

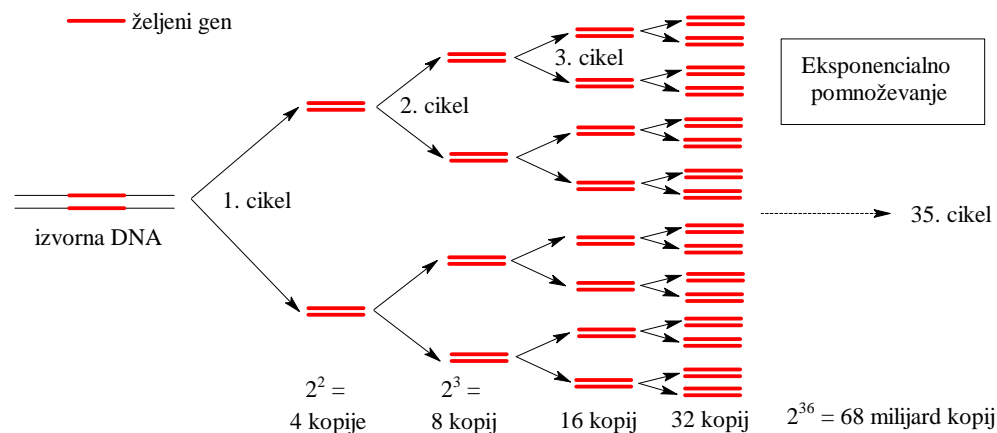
RT-PCR – obratno prepisovanje (mRNA v cDNA) v kombinaciji s PCR.

Q-PCR – kvantitativni PCR

Pri vsaki ponovitvi reakcijskega cikla se število kopij izbranega odseka podvoji, število kopij narašča po formuli 2^n (n = število ciklov reakcije PCR).

Po 20 ciklih reakcije iz 1 kopije DNA pridobimo teoretično 2^{20} (1.048.576) identičnih kopij DNA.

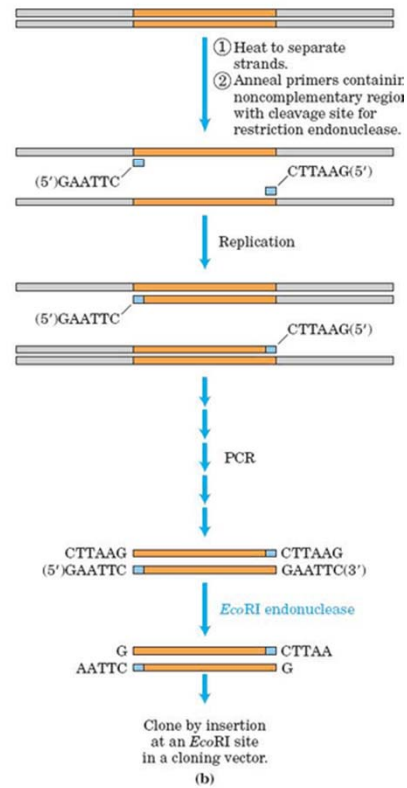
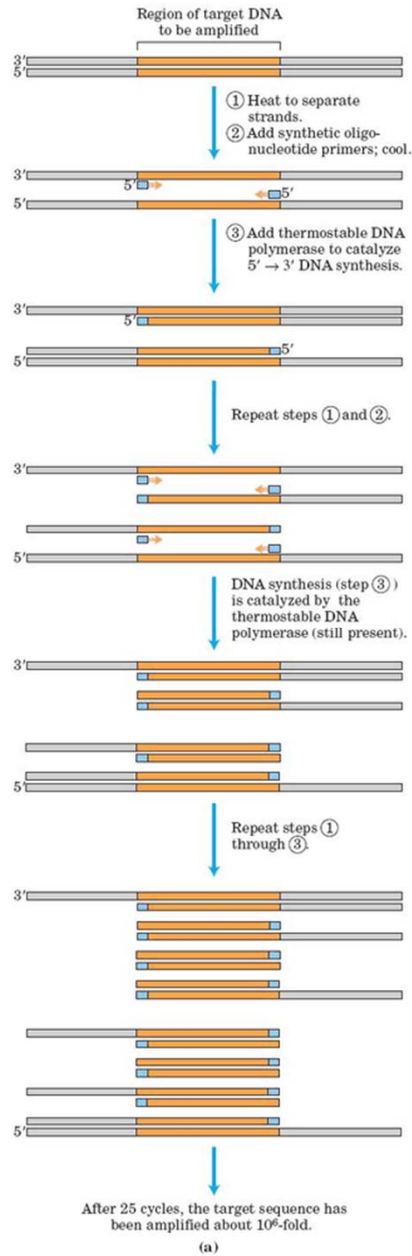
PCR izvajamo v preciznih termostatih- s programom določimo temperaturo, trajanje inkubacije pri posamezni temperaturi, število ciklov in podobno. Produkte analiziramo z elektroforezo.



Slika 12.11. Osnove eksponentnega pomnoževanja v reakciji PCR.

Metodo boste podrobneje spoznali pri pouku biokemije v 2. letniku študija.

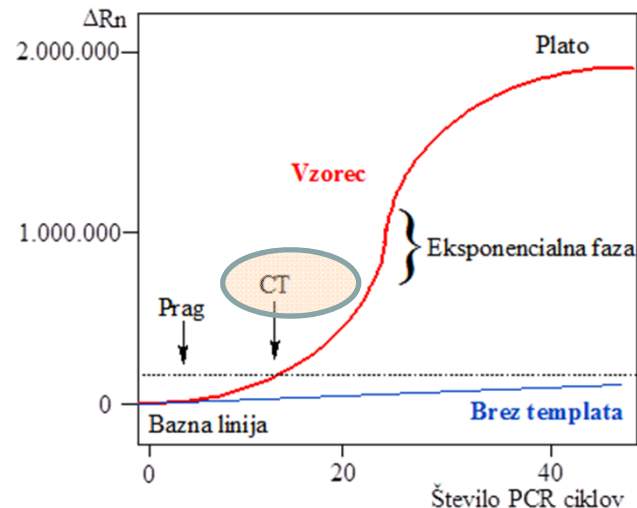
PCR – revolucija v raziskavah genoma



Kvantitativni PCR (qPCR, qRT-PCR)

Kvantitativni PCR - merjenje količine produkta med samim pomnoževanjem. Uporablja se najpogosteje za merjenje izražanja posameznega gena (merjenje količine prepisa oz. transkripta).

Vrednost Ct (*threshold cycle*) - tisti cikel PCR, kjer z aparaturo prvič zaznamo izražanje gena nad ozadjem. Sledi eksponentna faza, kjer število kopij narašča po enačbi 2^n , nato pa plato, kjer se reakcija prične ustavljati.



Gen, ki je manj izražen, bo imel višjo vrednost Ct v primerjavi z bolj izraženim genom.

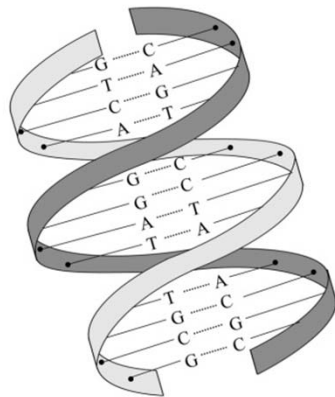
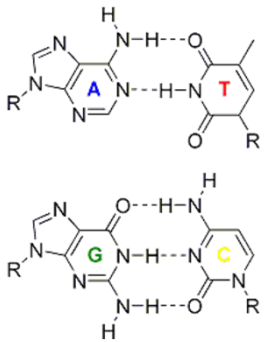
Vrednost Ct merjenega gena primerjamo z vrednostjo Ct za enega od primerjalnih ali vzdrževalnih (angleško *housekeeping*) genov. Za vzdrževalne gene je značilno, da imajo skorajda nespremenjeno raven izražanja v različnih fizioloških ali patofizioloških stanjih. Razliko med izražanjem merjenega in primerjalnega gena označimo kot ΔCt .

$\Delta\Delta Ct$ - pove, ali je merjeni gen bolj (ali manj) izražen v npr. tumorskem tkivu v primerjavi z normalnim tkivom.

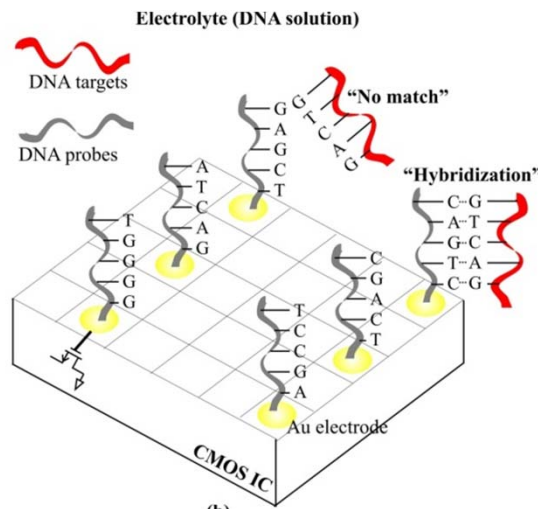
DNA mikromreže oz. DNA čipi



DNA mikromreža je zbirka mikroskopskih DNA točk, ki so nanešene na trdo podlago. Tvorijo mrežo molekul DNA, s katero preverjamo izražajne (ekspresijo). Postopek imenujemo ekspresijsko profiliranje



(a)



(b)

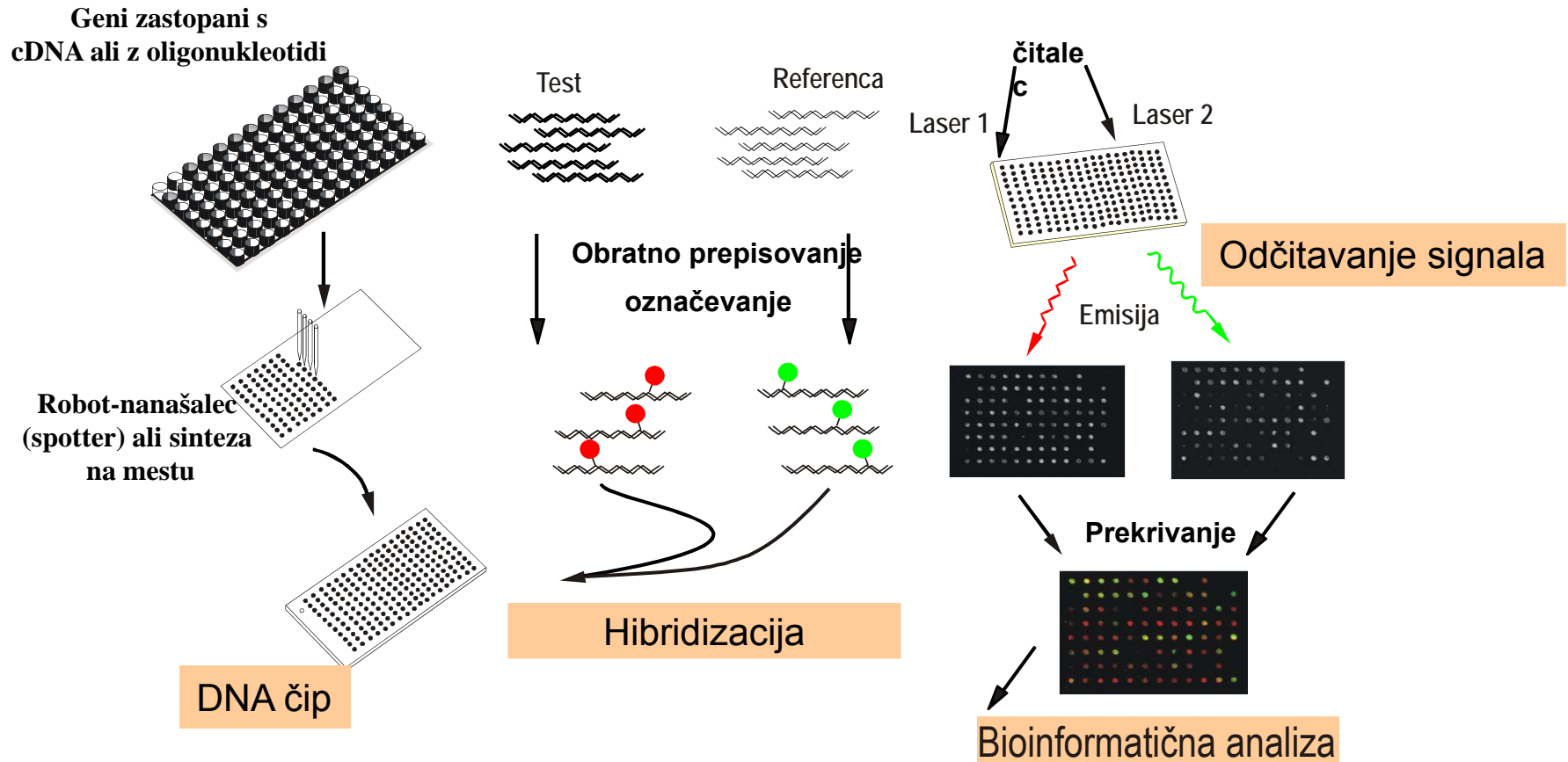
DNA probe – molekule DNA na čipu.

DNA tarče – molekule DNA iz bioloških vzorcev.

Po principu parjenja komplementarnih baz (**hibridizacija**) bodo fluorescentno označene molekule cDNA našle komplementarne zapise na čipu.

Z DNA mikromrežami merimo izražanje tisočih genov hkrati, pod enakimi pogoji in v enem samem poskusu. Naenkrat preverimo izražanje vseh genov človeškega genoma – določimo transkriptom.

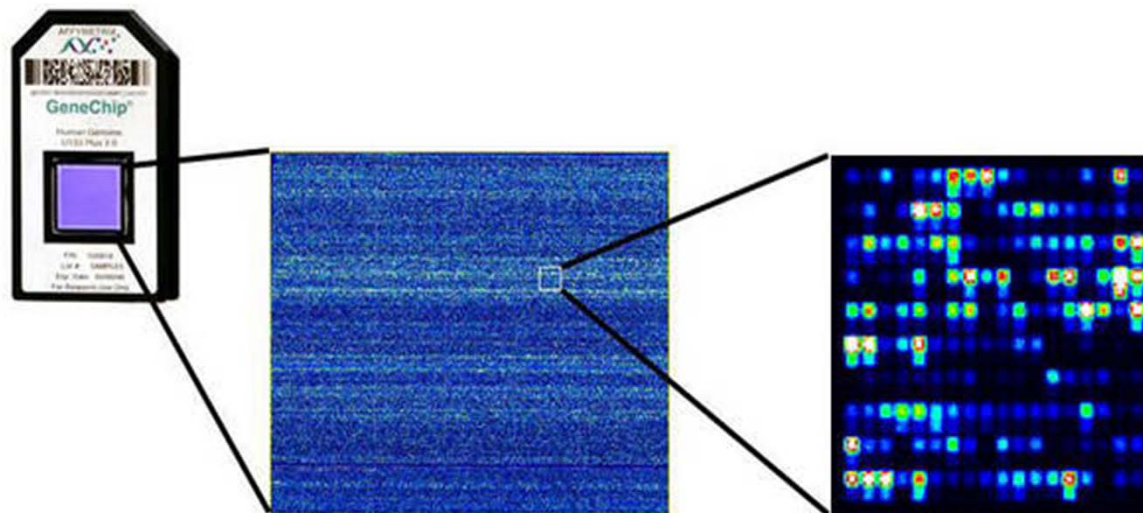
Ekspresijsko profiliranje z DNA mikromrežami



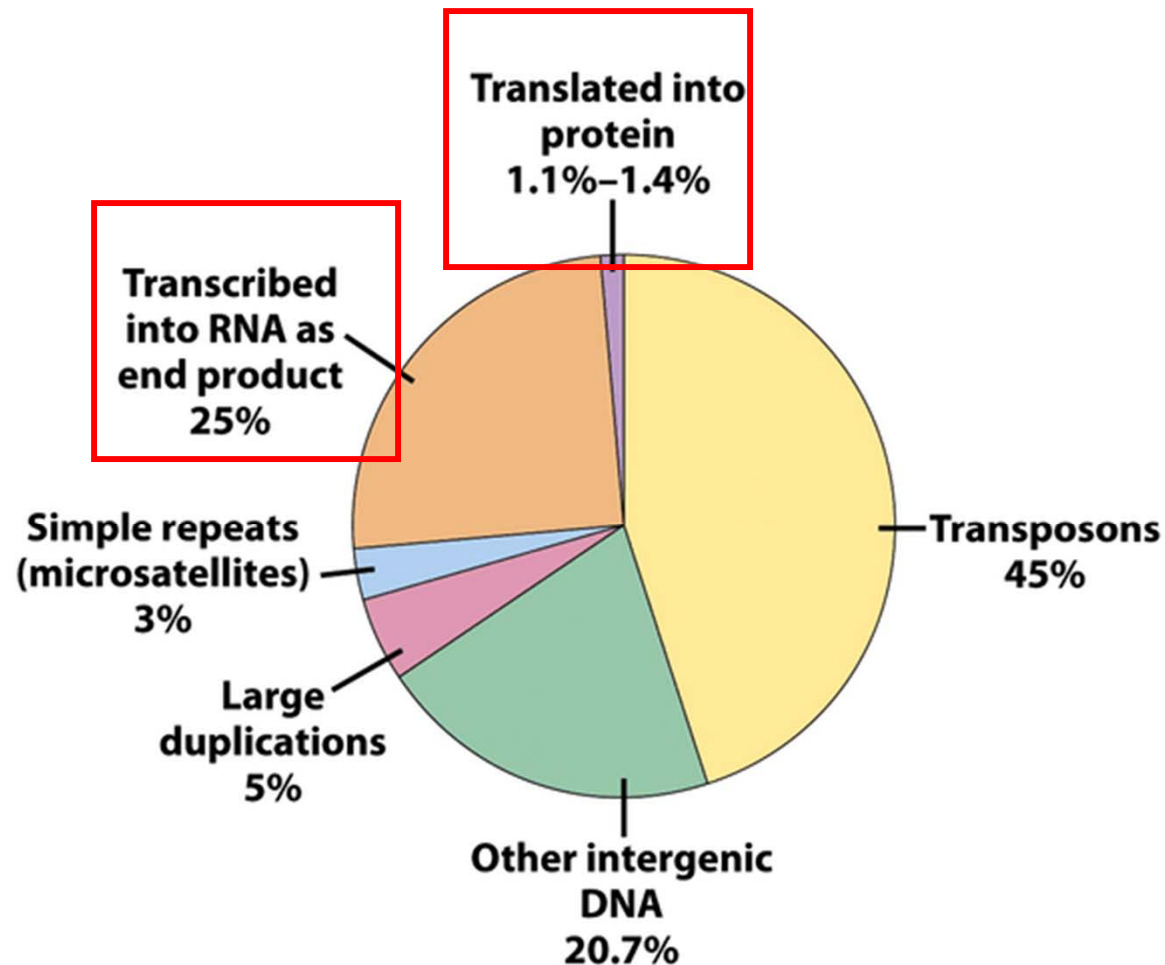
Celotno mRNA prepíšemo v cDNA, jo označimo s fluorescentnim barvilom, denaturiramo in nanesemo na DNA čip in hibridiziramo. **Bolj kot je nek gen izražen, večja bo količina fluorescentnega signala na točki, ki predstavlja zapis za ta gen.**

S preciznimi optičnimi čitalci (skenerji) odčitamo fluorescentne signale in jih po bioinformatični obdelavi izrazimo s številkami.

Ekspresijsko profiliranje z mikromrežami – oprema in odčitavanje signala



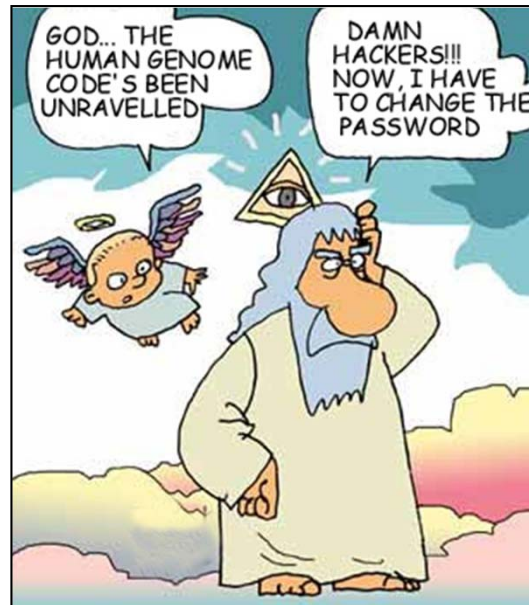
Le dober odstotek človeškega genoma se prevede do proteinov, vendar so tudi nekodirajoči deli genoma pomembni za normalno delovanje organizma



Za določevanje zaporedja celotne DNA organizmov uporabljamo metode sekvenciranja.

Zaporedje človeškega genoma je bilo določeno s Sangerjevo metodo sekvenciranja in kapilarno elektroforezo

Sekvenciranje (prvega) človeškega genoma je trajalo več let, z uporabo knjižnic klonov, ki so vsebovali cca 100 kb dolge tarčne fragmente. Analiza s kapilarno elektroforezo. Prvi je bil genom moškega, belca.

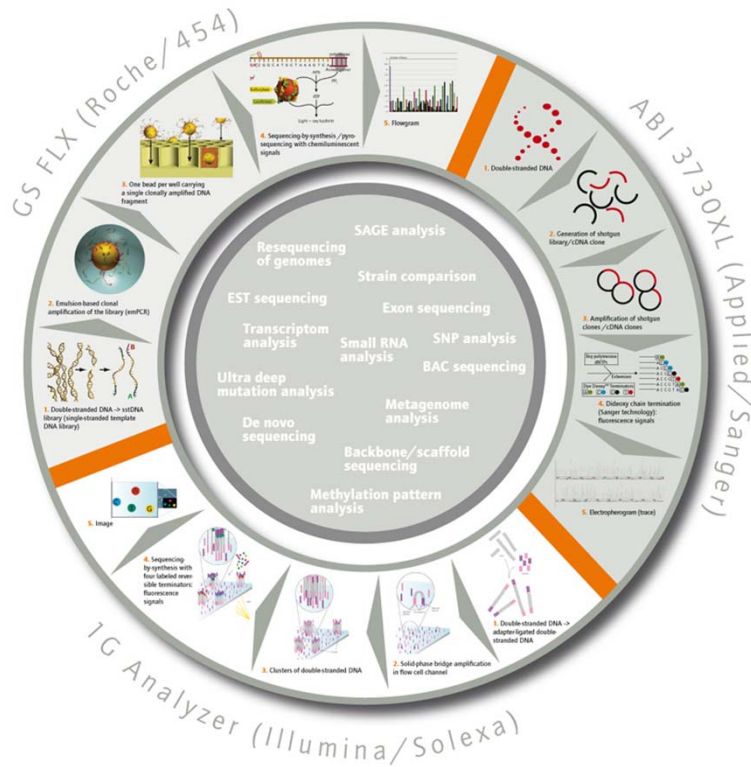


Hitro se razvijajo nove metode – druga in tretja generacija sekvenciranja – vstopamo v dobo individualne genomike (osebna medicina)

Naslednja (druga) generacija (2004): visokozmogljivostno paralelno čitanje odsekov DNA na ravni celega genoma, sočasno, preko PCR pomnoževanja knjižnice genoma.

Tretja generacija – direktno sekvenciranje brez predhodnega pomnoževanja DNA.

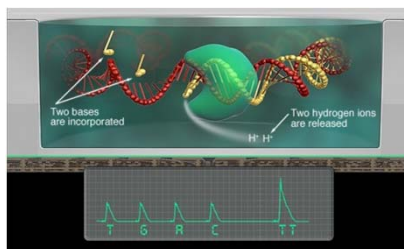
Naslednje generacije sekvenciranja – vse potrebujejo predhodno pomnoževanje s PCR



Od leta 2005 dalje revolucija v raziskavah genomov (tudi rastlinskih, živalskih, človeškega)

V letu 2003 je bilo napovedano 100-kratno znižanje cene na bp v 5 letih in v 10 letih 10.000-kratno znižanje cene na bp, kar bi privedlo do “1000 \$ genoma”.

Na tržišču je več tehnologij naslednje generacije sekvenciranja. Med seboj se razlikujejo po dolžini branj (od 100-800 baz), kemiji sekvenciranja in načinu detekcije. Krajša branja potrebujejo kompleksnejšo informatično obdelavo (povezovanje posameznih sekvenc v daljša smiselna nukleotidna zaporedja).

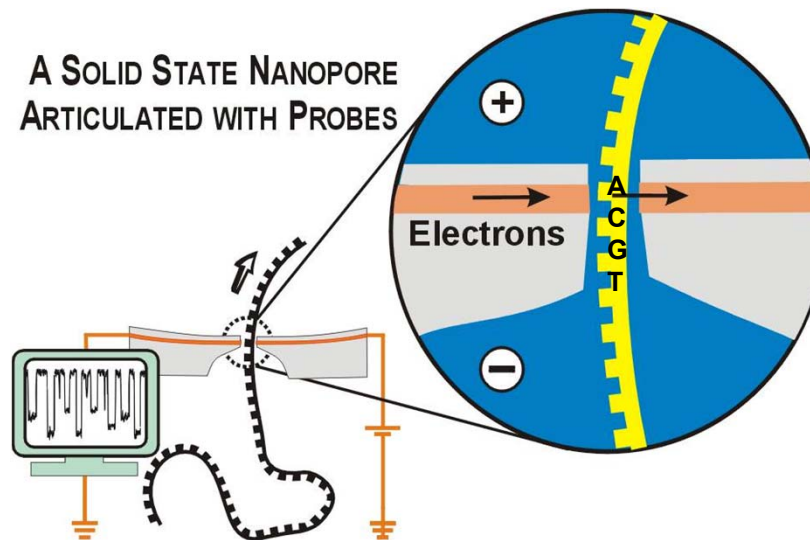


Od 2010 dalje so dostopni tudi namizni sekvenatorji nove generacije (manjša kapaciteta branj), od konca 2011 tudi v Sloveniji.

Primer tretje generacije sekvenciranja – sekvenciranje posameznih molekul nukelinskih kislin na nanoporah

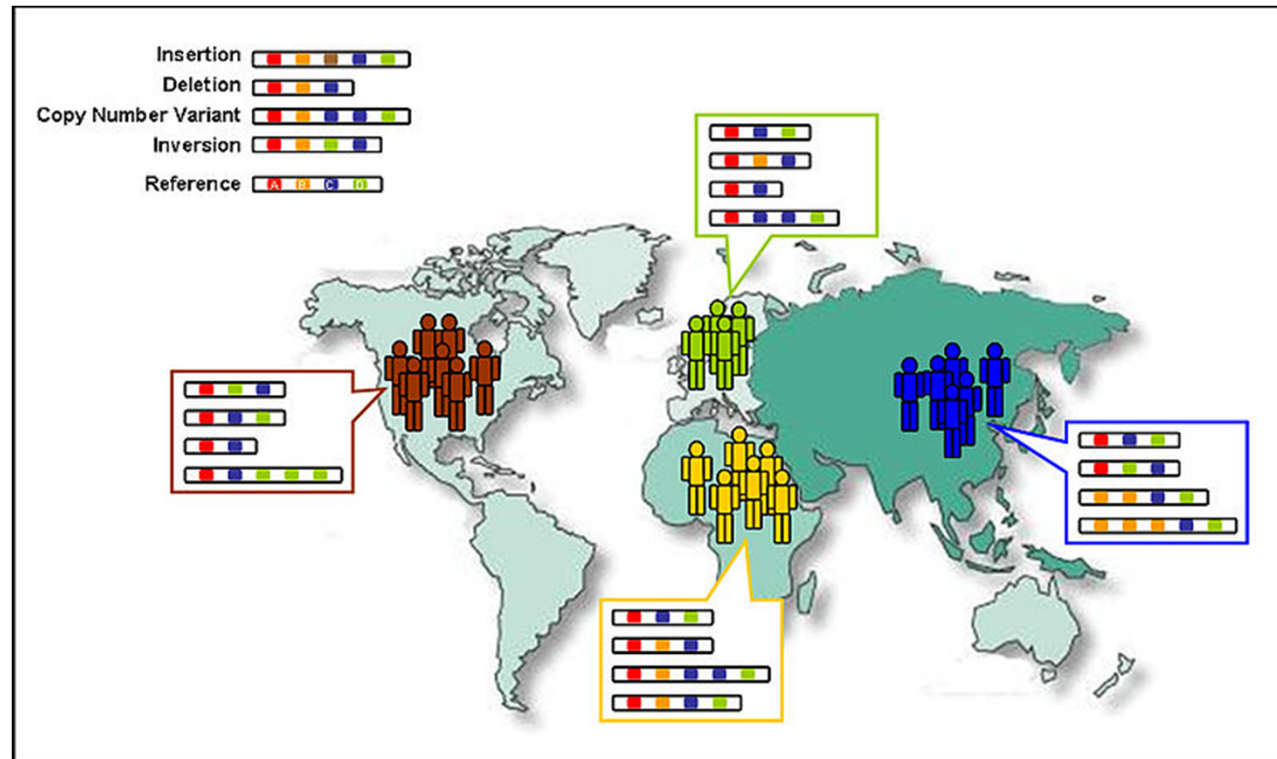
Metoda: Translokacija DNA čez nanopore in odčitavanje električnega signala.

Nukleotid blokira ionski tok čez nanoporo – vsak nukleotid ima drugačno časovno periodo blokiranja, zato odčitek električnega signala ob prehodu nukleotida razkrije, katera baza je vgrajena v nukleotidu (A,C,G,T oz. U v primeru RNA)



Naslednje generacije sekvenciranja omogočajo sekvenciranje individualnih genomov – projekt 1000 genomov in osebna medicina

Prišel se je januarja 2008, s ciljem narediti čimbolj natančen katalog genetskih različic pri človeku. Znanstveniki bodo določili zaporedja genomov ljudi različnih etničnih skupin in obeh spolov. Podatkovna zbirka je prosto dostopna <http://www.1000genomes.org/>



Eksperimentalne metode za delo z nukleinskimi kislinami in proteini

Nukleinske kisline

Ločevanje DNA in RNA - gelska elektroforeza, kapilarna elektroforeza

Pomnoževanje nukleinskih kislin - Verižna reakcija s polimerazo: PCR, RT-PCR, qPCR

Določanje nukleotidnega zaporedja, merjenje izražanja genov- mikromreže (DNA čipi), sekvenciranje

Ločevanje proteinov (in metabolitov)
Kromatografske metode, gelska elektroforeza, 1D, 2D)

Detekcija: spektrofotometrične metode, masna spektrometrija, NMR

Proteini

Proteini imajo zelo različne lastnosti

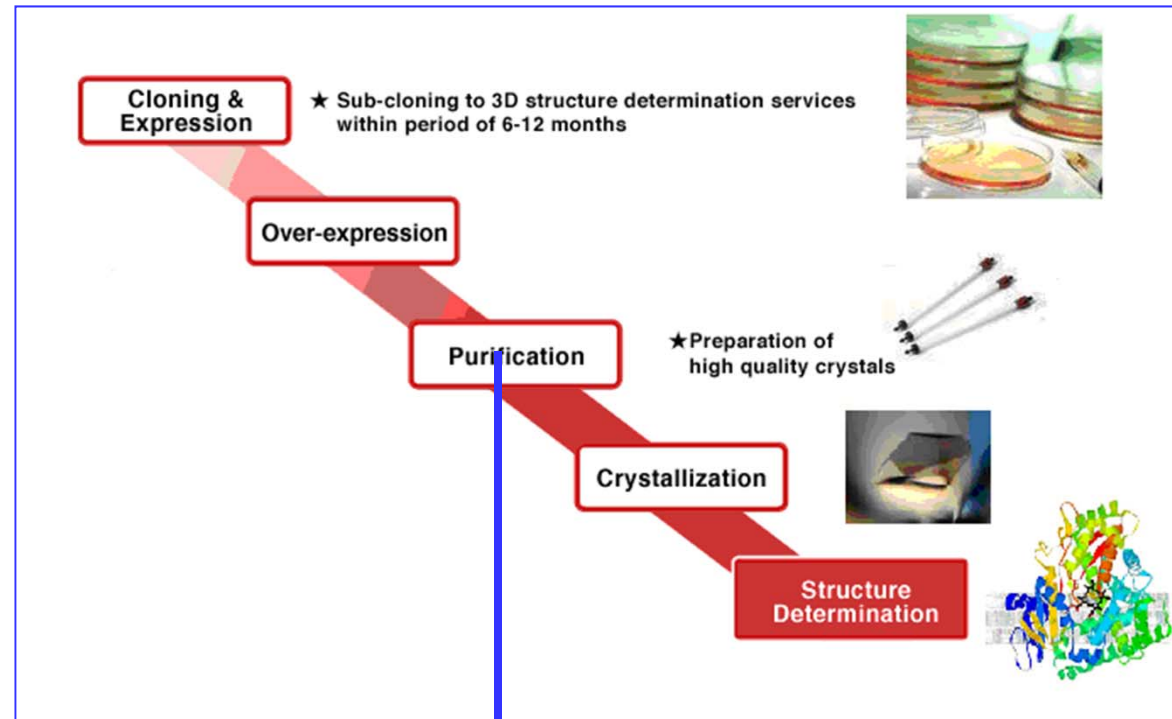
Protein	M_r (Da)	št. ak. ostankov	št. polipept. verig
citokrom c	13 000	104	1
lizocim	13 930	129	1
mioglobin	16 890	153	1
hemoglobin	64 500	574	4
RNA-polimeraza <i>E.coli</i>	450 000	4158	5
Titin**	2 993 000	26 926	1

Različne M_w , različne kislinsko-bazične lastnosti, različni substrati oz. ligandi, itd.

Za ločevanje in določevanje proteinov uporabljamo različne kromatografske in elektroforetske metode.

Proteine ločujemo in opredeljujemo s številnimi metodami

Rekombinantni proteini



faculty.ksu.edu.sa/.../Forms/AllItems.aspx

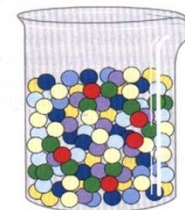
- Ionska izmenjevalna kromatografija
- Gelska filtracija
- Afinitetna kromatografija
- Izoelektrično fokusiranje

- Dvodimenzionalna gelska elektroforeza
- HPLC
- Masna spektroskopija
- NMR
- Itd

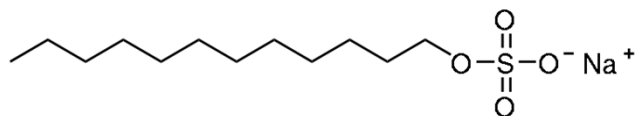
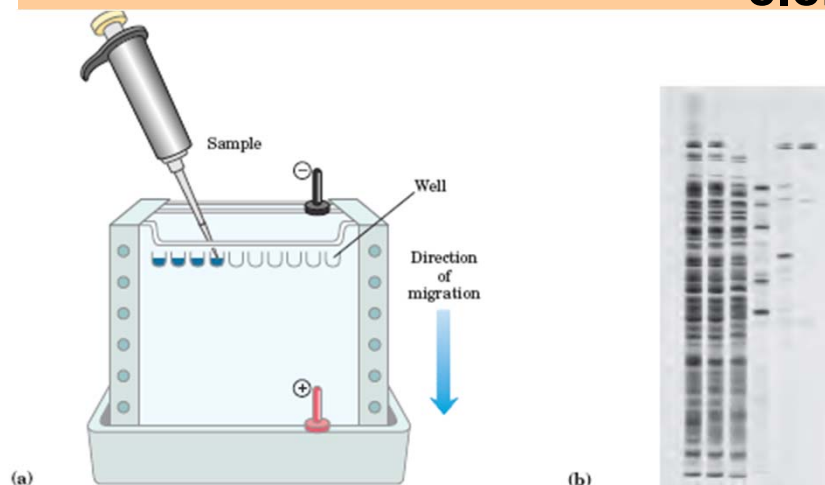
**Z vsako stopnjo čiščenja proteinske mešanice se zveča
specifična aktivnost**

Stopnja čiščenja	Vol (ml)	Količina proteinov (mg)	Aktivnost (U)	Specifična aktivnost (U/mg prot.)
Celični ekstrakt	1 400	10 000	100 000	10
Precipitacija z razt. visoke ionske moči	280	3 000	96 000	32
Ionska izmenjevalna kromatografija	90	400	80 000	200
Gelska filtracija	80	100	60 000	600
Afinitetna kromatografija	6	3	45 000	15 000

Primer hipotetičnega proteina.



Ločevanje proteinov z 1D poliakrilamidno (PAGE) gelsko elektroforezo



Slika 12.8: Natrijev dodecil sulfat - NaDS

Elektroforezo izvajamo v gelu, ki nastane s polimerizacijo akrilamida in bisakrilamida.

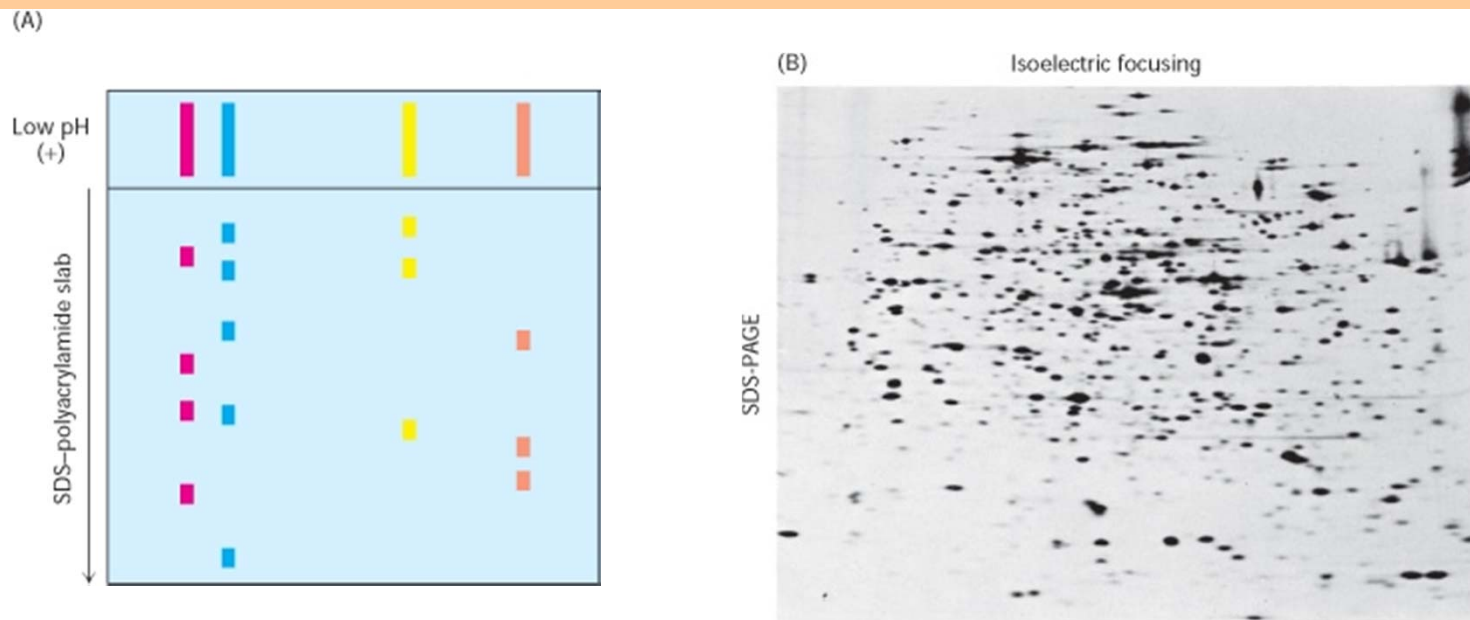
Pred zamreženjem gelu dodamo ionski detergent natrijev dodecilsulfat (NaDS; angl. SDS), ki se veže na proteine in jih denaturira (denaturirajoča elektroforeza).

Ena molekula NaDS se veže v povprečju na 2 AK ostanka - **vsi proteini pridobijo enak naboj na enoto mase**, zato se v električnem polju ločujejo le po velikosti.

Med elektroforezo potujejo proteini proti anodi s hitrostjo, ki je obratnosorazmerna z molekulsko maso. Vizualiziramo jih z barvili (npr. Comassie modro).

V primeru, da proteinov ne obdelamo z detergentom, le-ti ostanejo v nativni obliki in potujejo po gelu glede na svoj naboj, velikost in obliko. Takrat govorimo o nativni elektroforezi.

Ločevanje kompleksnih mešanic proteinov z 2D poliakrilamidno (2D-PAGE) gelsko elektroforezo

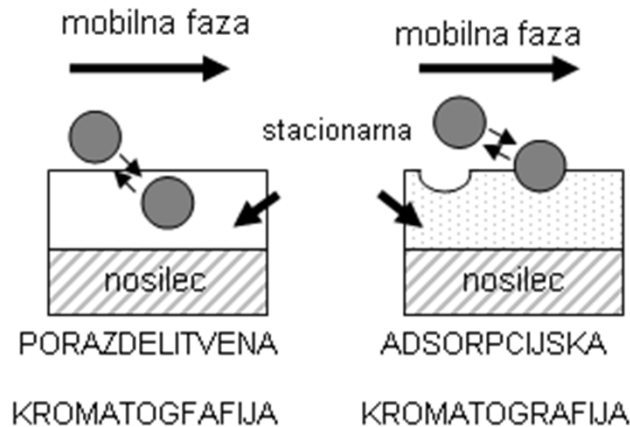


V prvi dimenziji proteine ločimo z izoelektričnim fokusiranjem na podlagi njihovega neto naboja. Protein na nosilcu z gradientom pH neha potovati takrat, ko je $pH = pI$.

Nato gel obrnemo za 90° in izvedemo drugo dimenzijo ločevanja glede na molekulsko maso, kot pri 1D PAGE.

Za vizualizacijo proteinov na gelu uporabljamo različna barvila. Z metodo 2D-PAGE lahko proteine le ločimo, ne moremo pa ugotoviti njihove identitete. Zanimive proteinske vzorce (lise) iz gela zato izrežemo in jih po raztapljanju analiziramo z masno spektrometrijo.

Proteine iz kompleksnih mešanic lahko ločujemo s kromatografskimi metodami



Splošne značilnosti kromatografije

Slika 12.5: Princip ločevanja pri adsorpcijski in porazdelitveni kromatografiji.



Različne vrste kolonskih kromatografij – način ločevanja določa stacionarna faza, ki je v koloni.

Kromatografske metode

Kromatografija je **separacijska metoda**, ki za ločevanje uporablja fizikalno–kemijski proces, s katerim ločimo tekoče in plinske zmesi v sestavne komponente. **Pri vsaki kromatografski metodi uporabimo stacionarno in mobilno fazo.**

Komponente zmesi, ki jih naneseemo na začetek stacionarne faze, potujejo z mobilno fazo z različno hitrostjo. Hitrost je odvisna od afinitete komponente v zmesi do stacionarne in do mobilne faze. **Hitreje bo potovala tista komponenta, ki je šibkeje vezana ali slabo topna v stacionarni fazi in bolje topna v mobilni fazi.**

Na osnovi principa ločevanja kromatografske metode razdelimo na adsorpcijske in porazdelitvene.

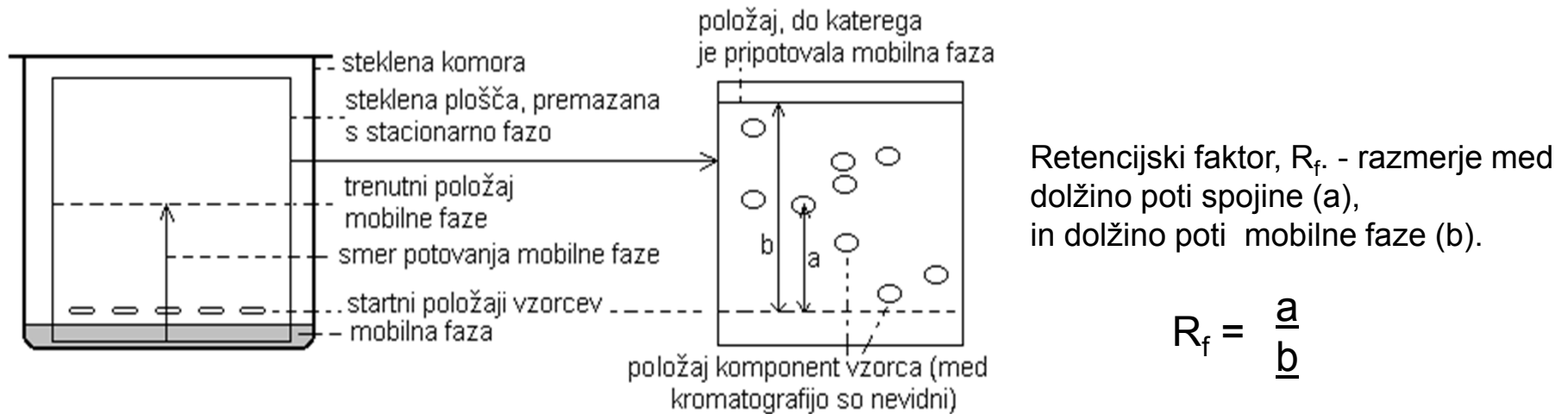
Pri **adsorpcijski kromatografiji** se komponente v vzorcu ločijo zaradi razlik v adsorpciji na stacionarno fazo, mobilna faza je tekočina ali plin. Molekule se v dinamičnem procesu stalno adsorbirajo in desorbirajo s površine stacionarne faze, z mobilno fazo potujejo le, kadar so desorbirane.

Pri **porazdelitveni kromatografiji** se posamezne komponente v vzorcu ločijo zaradi različne topnosti v stacionarni in mobilni fazi – bolj kot je komponenta topna, hitreje potuje z mobilno fazo.

Največjo uporabnost v biokemiji imata tekočinska (mobilna faza je tekočina) in plinska (mobilna faza je plin) kromatografija. Običajno se izvajata v kolonah pod normalnim pritiskom, lahko tudi pri višjih pritiskih (HPLC)

Princip kromatografskih metod lahko razložimo na primeru tankoplastne kromatografije (TLC)

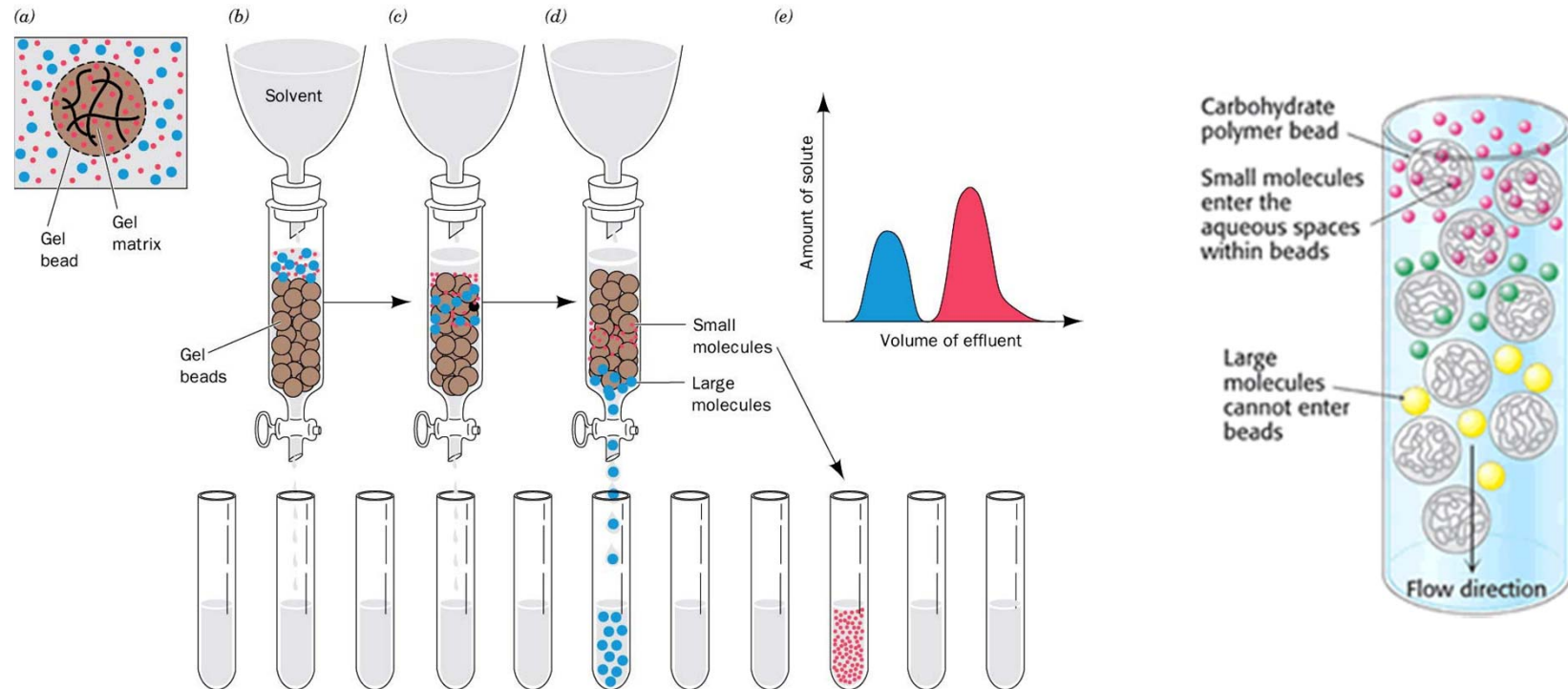
Mobilna faza zaradi kapilarnih sil potuje navzgor. Snovi, ki so bolj topne v mobilni fazi (in se slabše adsorbirajo na stacionarno fazo), potujejo hitreje. .



Slika 12.6: Princip tankoplastne kromatografije.

Tankoplastna kromatografija je primerna za ločevanje majhnih molekul (metabolitov).

Gelska filtracija – kolonska kromatografija, kjer ločujemo proteine po velikosti

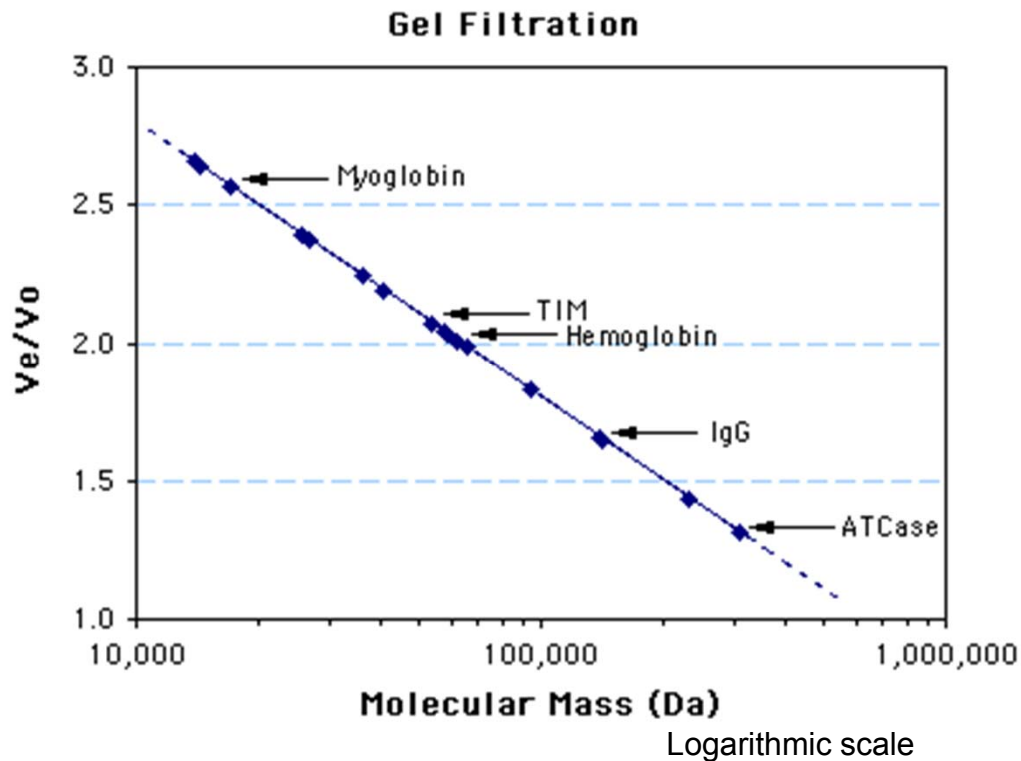


Stacionarna faza je molekularno sito (npr. dekstran). Mobilna faza – vodna raztopina.

Velike molekule potujejo hitreje od manjših.

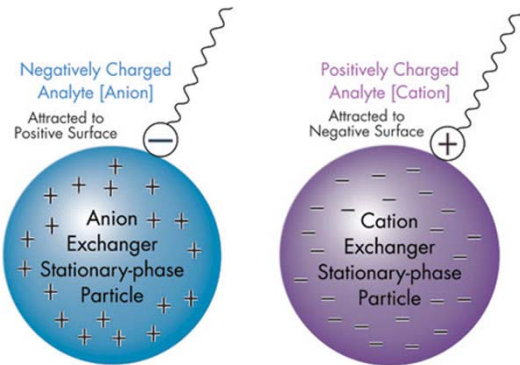
Z gelsko filtracijo lahko določamo molekulsko maso proteinov

PROTEIN	Native M_r (Da)	Sub units
Myoglobin	17,200	1
TIM (triosephosphate isomerase)	53,300	2
Hemoglobin	62,000	4
IgG (immunoglobulin G)	140,000	4
ATCase (aspartate transcarbamoylase)	307,900	12



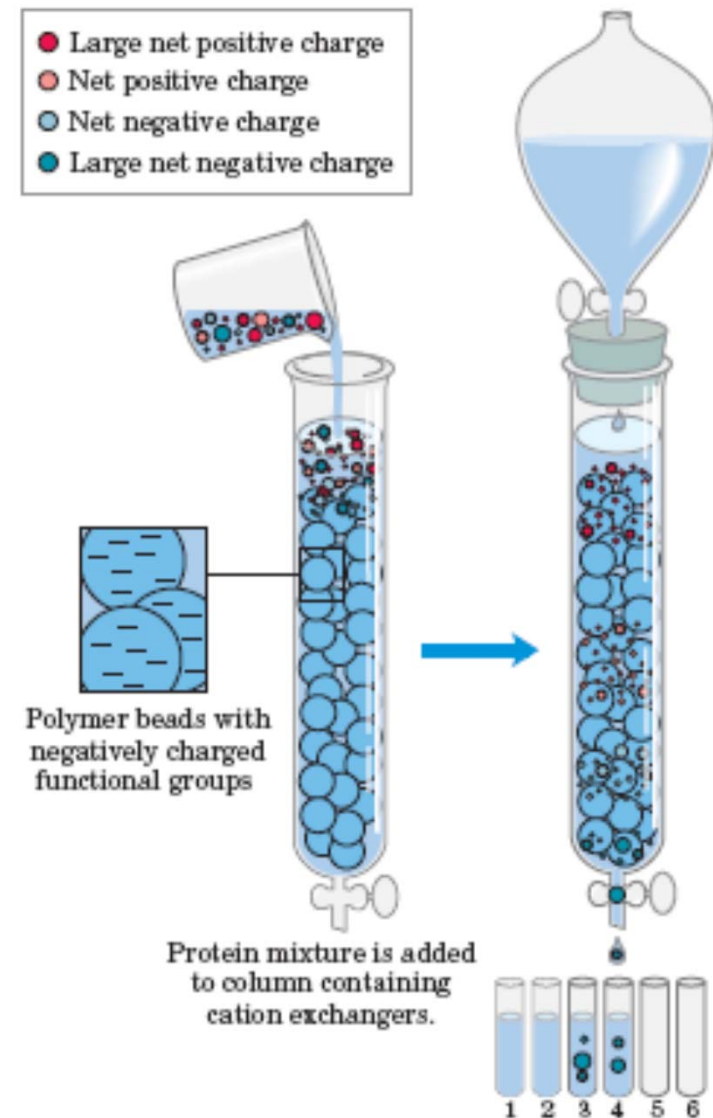
Hitrost potovanja je sorazmerna $-\log M_w$

Ionsko-izmenjevalna kromatografija – ločevanje glede na naboj

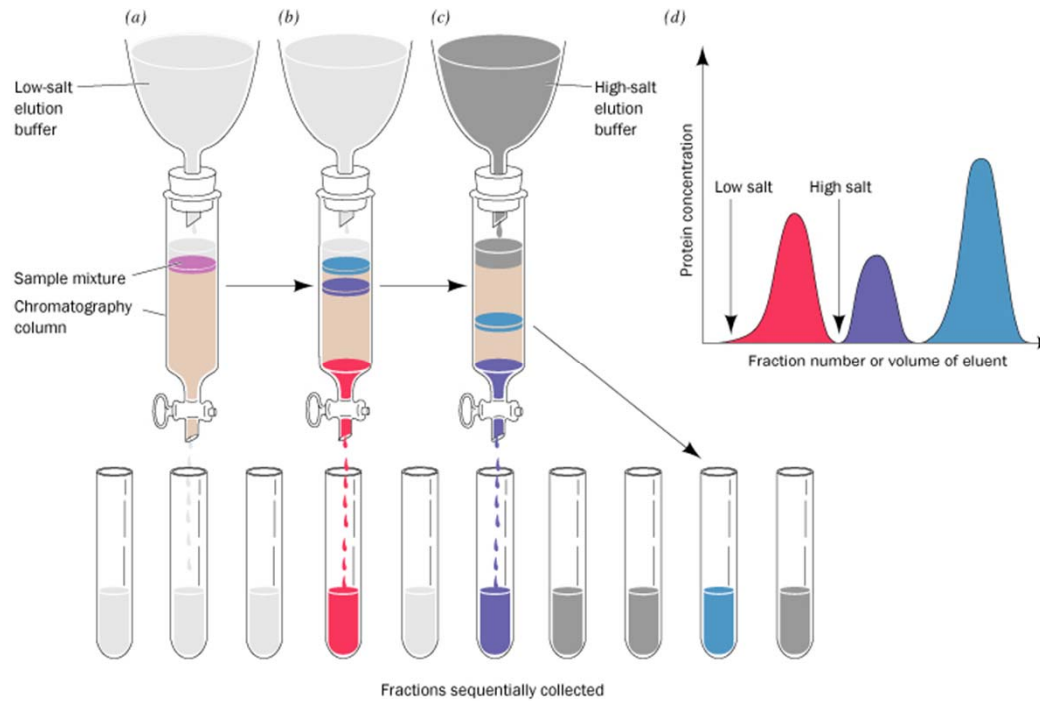


Anionski izmenjevalci imajo na površini pozitiven naboj – ločujejo negativno nabite molekule.

Kationski izmenjevalci imajo na površini negativen naboj - ločujejo pozitivno nabite molekule.



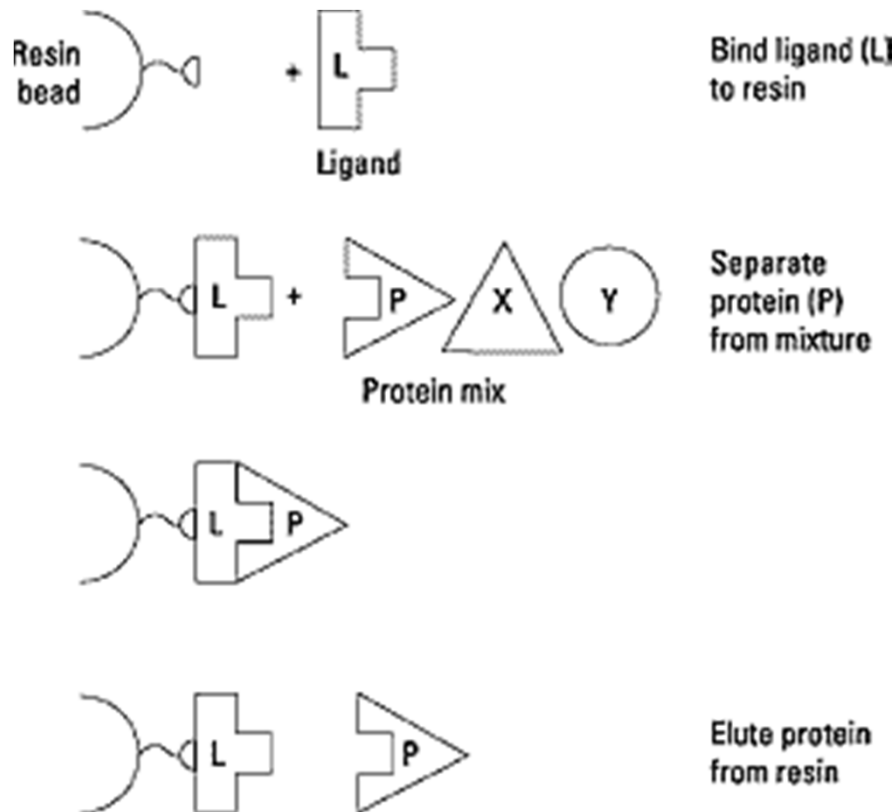
Z mobilno fazo in gradientom ionske moči in/ali pH lahko različno nabite proteine speremo s stacionarne faze



Za eluiranje (spiranje) vsakega proteina, ki je vezan na nabito stacionarno fazo, moramo uporabiti ustrezno ionsko moč in ustrezen pH.

- Protein je nabit pozitivno pri pH, ki je manjši od pI (izoionska točka).
- Protein je nabit negativno pri pH, ki je večji od pI .
- Večji kot je naboj proteina, večjo ionsko moč potrebujemo, da ga speremo s kolone.

Afinitetna kromatografija



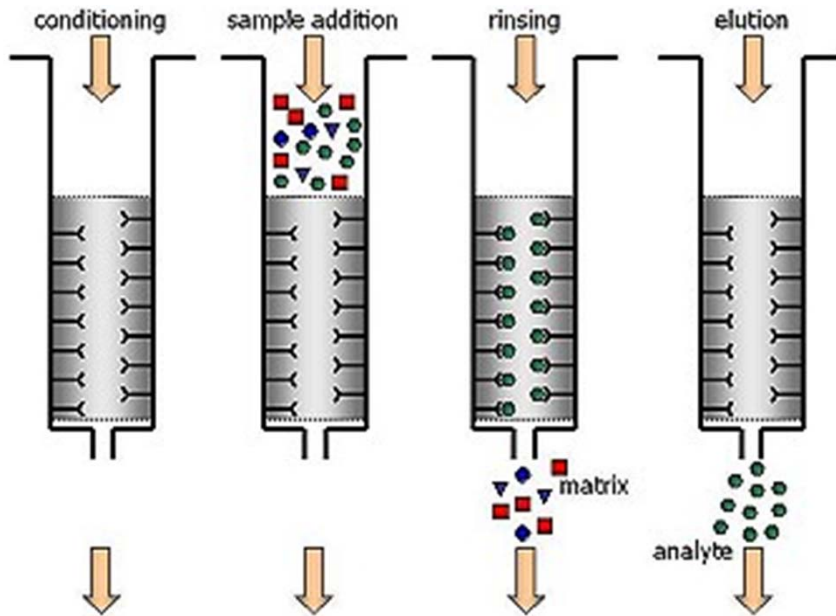
Ultrafree-MC Centrifugal Filter Unit



Temelji na specifičnih interakcijah med stacionarno fazo in molekulami, ki jih želimo izločiti iz kompleksne mešanice proteinov.

Specifične interakcije so lahko npr. antigen-protitelo, receptor-ligand, itd.

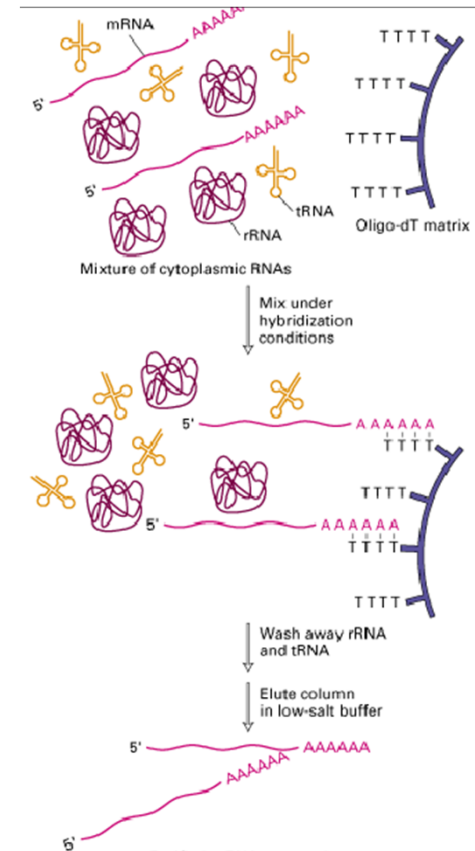
Primeri uporabe afinitetne kromatografije



Čiščenje proteinov z Imunoafinitetno kromatografijo

Stacionarna faza je na nosilec vezano protitelo.

<http://www.bio.davidson.edu/>



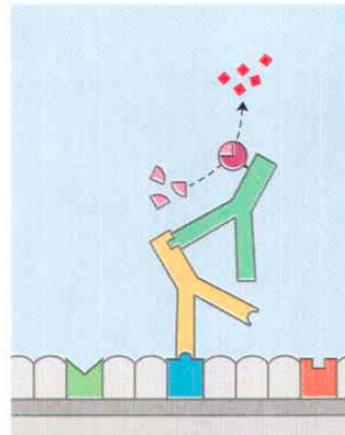
Tudi za čiščenje nukelinskih kislin!! Čiščenje evkariontske mRNA.

Stacionarna faza je oligo-dT celuloza.

Specifično povezovanje med timini stacionarne faze in poliadenilirano mRNA.

Reakcije med protitelesi in antigeni so osnova za številne za medicino pomembne analitske metode

- ① Coat surface with sample (antigens).
- ② Block unoccupied sites with nonspecific protein.
- ③ Incubate with primary antibody against specific antigen.
- ④ Incubate with secondary antibody-enzyme complex that binds primary antibody.
- ⑤ Add substrate.
- ⑥ Formation of colored product indicates presence of specific antigen.



ELISA (E_nzyme-L_inked I_mmunosorbent A_ssay)

Specifična reakcija med antigenom v biološkem vzorcu in primarnim protitelesom. Na sekundarno protitelo je vezan encim, ki ob dodatku substrata proizvode obarvan produkt. Spektrofotometrično merjenje koncentracije obarvanega produkt je mera za količino prisotnega antigena.



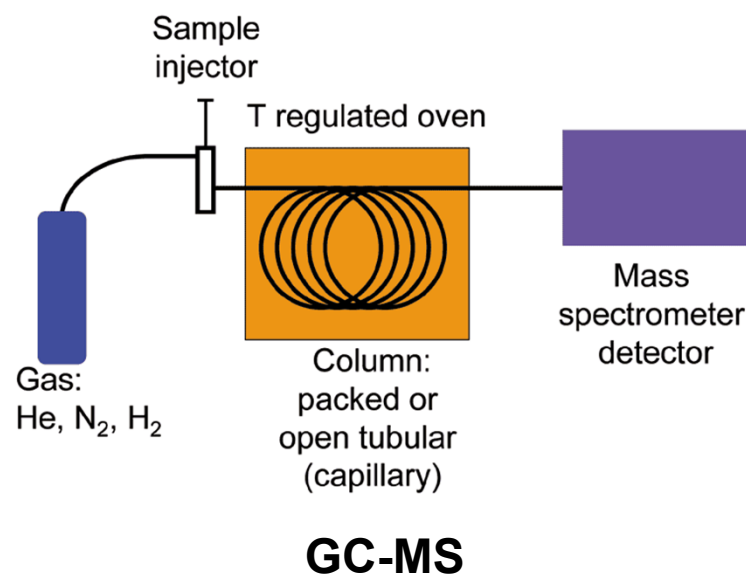
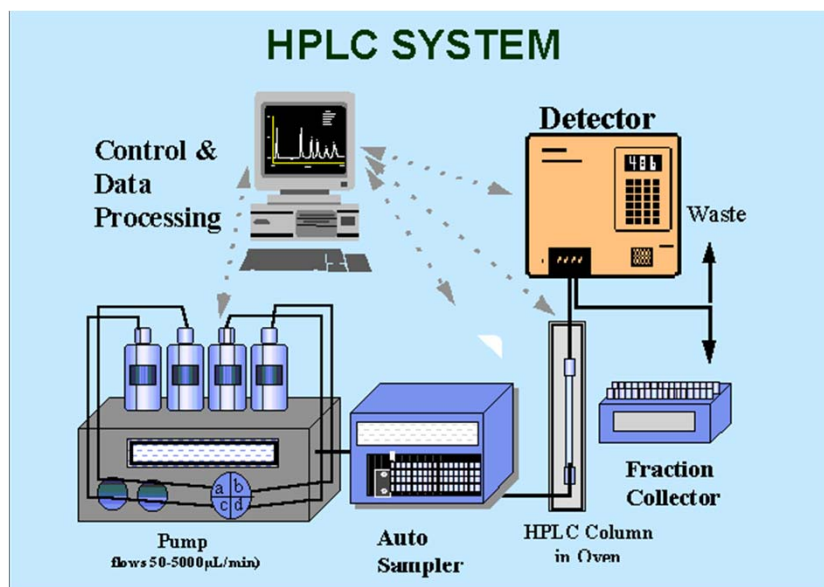
Razviti so številni ELISA kompleti za določanje proteinov (človeških ali mikrobnih), ki lahko služijo kot diagnostični označevalci.

Visokoločljivostne kromatografije pod visokimi pritiski

HPLC iz *high pressure* (ali *high performance*) *liquid chromatography*) je oblika kolonske kromatografije, kjer za ločevanje topljencev na koloni uporabljamo nad-pritisk. Stacionarna faza je lahko katerakoli od prej opisanih – molekularno sito, ionski izmenjevalec, itd.

Pogosto je HPLC povezana z masnim spektrometrom- **LC-MS** (*liquid chromatography with mass spectrometry*) ali z NMR – **LC-NMR**. LC je primerna za ločevanje spojin, ki imajo večjo molekularno maso.

Kadar je mobilna faza plin in je plinska kromatografija povezana z detektorjem mas, metodo imenujemo **GC-MS** (*gass chromatography with mass spectrometry*). Je primerna za ločevanje majhnih, lipidotopnih moleku, ki so lahko hlapne in stabilne (zdravila, toksini, steroidi, etc.)



Masna spektrometrija (MS)

1: Ionizacija

Atomi se ionizirajo z izbitjem elektronov in se pozitivno nabijejo. Masni spektrometri vedno delujejo s pozitivno nabitimi ioni.

2: Pospeševanje

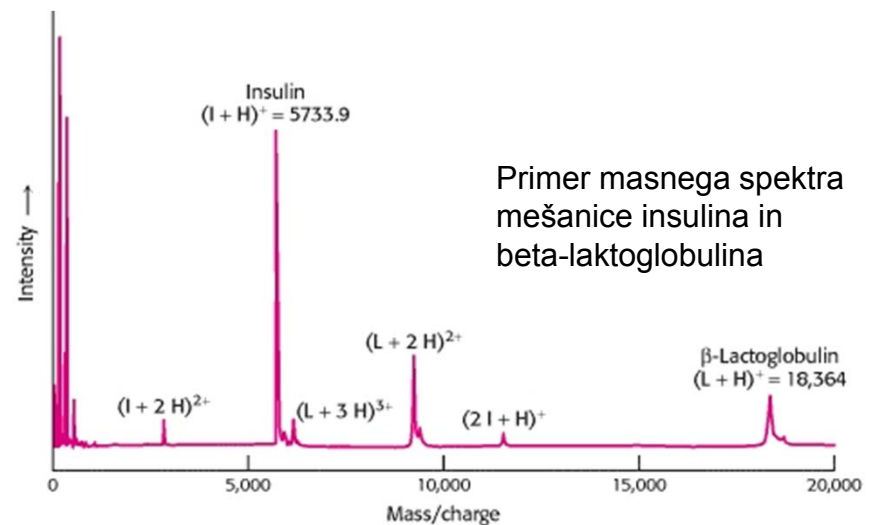
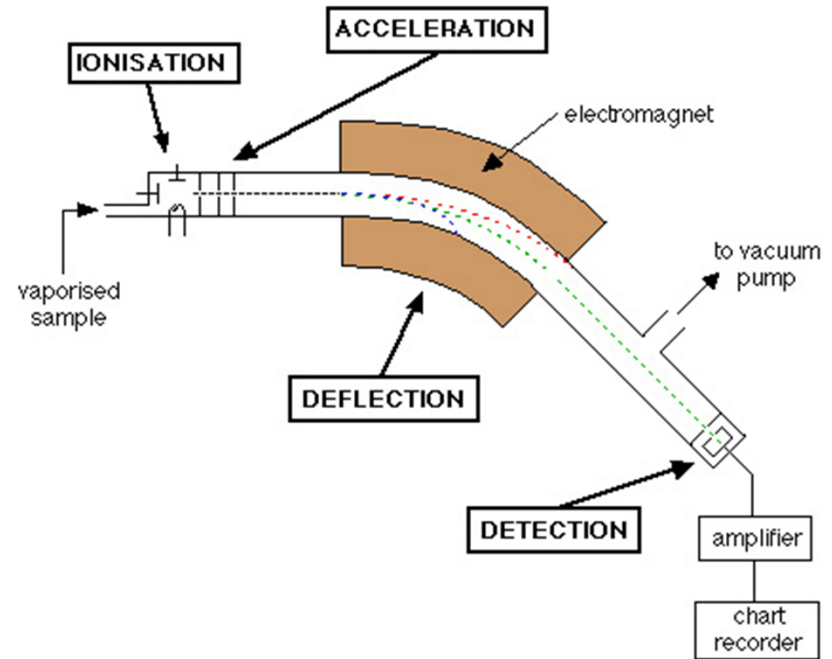
Ioni se pospešijo tako, da imajo vsi enako kinetično energijo.

3: Odklon (Deflection)

Lažji kot so ioni, bolj se odklonijo. Bolj kot je ion nabit, bolj se odkloni. Odklon ionov v magnetnem polju je odvisen od razmerja njihove mase in naboja (m/z).

4: Detekcija

Snop ionov zaznamo kot električni signal.



Metoda detekcije po kromatografiji (npr. LC) je lahko tudi jedrska magnetna resonanca (NMR)

NMR je spektroskopska metoda v radiofrekvenčnem območju (10 MHz - 300 MHz).

Jedra atomov imajo magnetni moment, zaradi česar se v magnetnem polju obnašajo podobno kot magnetna igla.

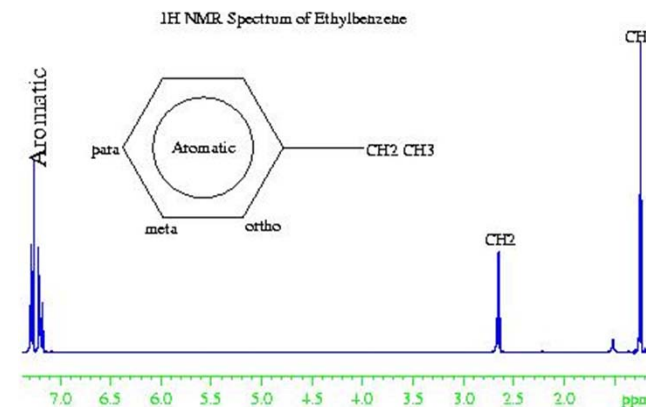
Z radiofrekvenčnim magnetnim poljem povzročimo prehajanje jeder (npr. ^1H) iz stanja s spinom (+1/2 – v smeri magnetnega polja) v stanje (-1/2 – v obratni smeri).

Kadar so kvanti dovedene energije točno enaki energijski razliki med jedrskima stanjema +1/2 in -1/2, **jedra absorbirajo energijo, kar zaznamo kot signal (resonančna energija).**

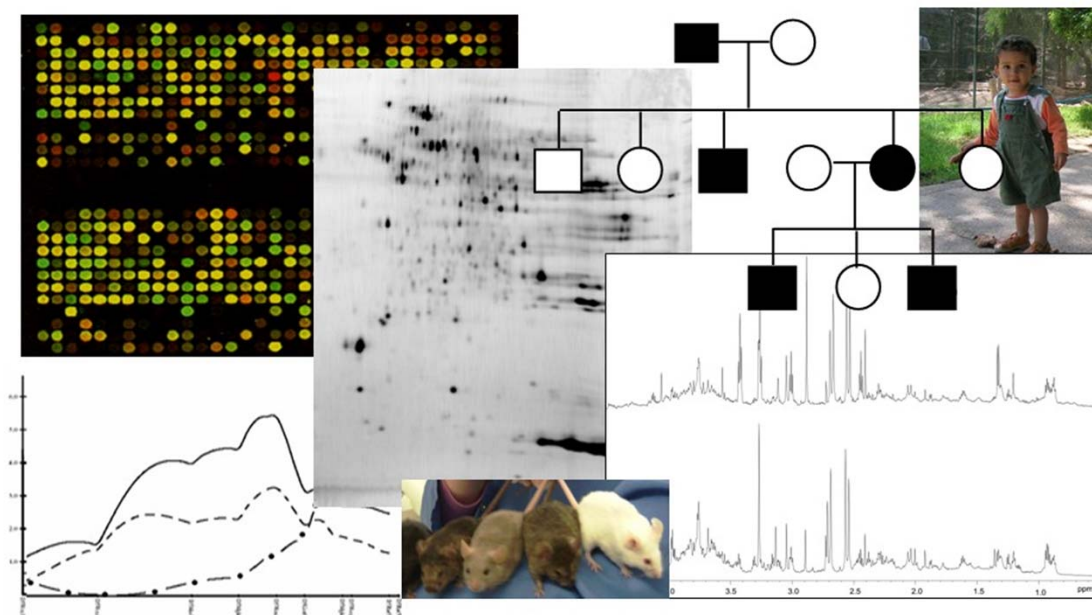
Na obliko spektra vplivajo notranja gibanja v molekuli in okolica.



Primer ^1H NMR spektra

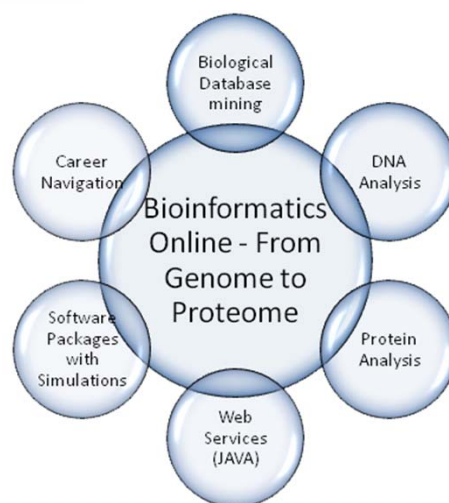


Izziv današnjega časa: povezovanje kompleksnih podatkov o biomolekulah



Uporaba v medicini, farmaciji, drugih sorodnih vedah.

V medicini:
odkrivanji novih bolezenskih označevalcev in novih tarč za zdravila, izboljšanje diagnostičnih in prognostičnih metod po meri vsakega posameznika



Medicina 21. stoletja.....

Visokozmogljive eksperimentalne metode za proučevanje biomolekul že imajo velik vpliv na celostno razumevanje večfaktorskih procesov v zdravem stanju in pri boleznih. Razvijajo se nove veje medicine (npr. sistemska medicina), katerih cilj je uporabiti matematično-informatična znanja (bioinformatika, statistika, matematično modeliranje) za razumevanje bioloških procesov pri vsakem posamezniku (npr. napovedni modeli za bolezni, virtualni organi, ki na podlagi obstoječega znanja in podatkov lahko predvidijo različna patofiziološka stanja, itd.)

Preiskave z metodami, ki proizvedejo ogromno število raznovrstnih podatkov o koncentraciji in sestavi biomolekul posameznega človeka (DNA, RNA, proteini, metaboliti), predstavljajo velik izziv za novodobno medicino.

Nikdar do sedaj še ni bilo tako velikega razkoraka med količino podatkov, ki jih o biomolekulah lahko pridobimo, in našo zmožnostjo, da podatke povežemo, jih razumemo in koristno uporabimo.

Izobraziti moramo nove generacije zdravnikov in raziskovalcev, ki bodo imele vsa potrebna interdisciplinarna znanja, ki jih zahteva po-genomsko obdobje.

Prihodnost je na vas!