



Prof. Dr. Pócsi István

„Omikák” a modern biológiában

Kőrösi Csoma Sándor Gimnázium,
Szakközép-, Szakképző Iskola és
Kollégium

Hajdúnánás, 2014. január 29.

www.meetthescientist.hu



„Fordított nap” 1979.



- „Fordított napi” órákon 1979-ben.
- Ezúton is nagyon köszönöm minden kedves volt gimnáziumi tanáromnak azt a maradandó tudást és soha nem csillapuló tanulni vágyást, amit tőlük kaptam 1975 és 1979 között!
- E nélkül az értékes útravaló nélkül ma nem lehetnék itt, és nem számolhatnék be az elmúlt évek érdekes történéseiről az „omikák” csodálatos világában!

A genetikai információ tárolása és kifejeződése – áttekintés.

- A genetikai információ tárolása DNS-ben illetve, kivételesen, az RNS vírusok esetében, RNS-ben történik.
- Az információ áramlásának a tipikus iránya a centrális dogma alapján:
- DNS → RNS → Fehérje → Tulajdonság
- A DNS-ben tárolt információ előbb egy másik nukleinsavba, RNS-be íródik át a transzkripció folyamatában, majd a hírvívő mRNS-ekben tárolt információ fordítódik (transzláció) a riboszómákon a fehérjék aminosav-szekvenciájává (elsődleges szerkezet).
- A fehérjék kölcsönhatásba lépnek más biológiai molekulákkal, miközben lényegében minden sejtfolyamatban (pl. sejtosztódás, metabolizmus, transzportfolyamatok, a sejt citoskeletonjának a kialakulása, a sejtmozgások, érzékelés) szerepet játszanak.

DNS és RNS – áttekintés.

- A DNS, a dezoxiribonukleinsav, kettős hélix térszerkezetű örökítőanyag.
- A gén olyan DNS-szakasz, aminek kifejeződése (expressziója) nyomán funkcióval rendelkező termék, pl. tRNS, rRNS, fehérje, jön létre.
- Az eukarióta DNS igen nagy része kis ismétlődő szekvenciákból és más, nem-kódoló régiókból áll! A „hulladék” („junk”) DNS-nek egy része is átíródik és belőlük fontos transzlációt gátló molekulák, miRNS-ek, képződhetnek.
- Az RNS, ribonukleinsav, nemcsak az információ áramlásában játszik szerepet (hírvivő mRNS), hanem pl. a riboszómák felépítésében (riboszomális rRNS), az aminosavaknak a riboszómákhoz való szállításában (transzfer tRNS), a mRNS-ek érési folyamatában, így az intronok kivágódásában, a „splicing”-ban (kis magi snRNS), más RNS-ek kémiai módosításának az irányításában (kis sejtmagvacskai snoRNS) továbbá transzlációs szabályozási folyamatokban (miRNS).

Fehérjék, metabolizmus – áttekintés.

- A fehérjék aminosavakból felépülő lineáris polimerek, melyek másodlagos (a peptidlánc helyi rendezettsége), harmadlagos (a peptidlánc térbeli konformációja) és, esetlegesen, negyedleges (alegységekből álló fehérjék) szerkezettel is jellemezhetők.
- A fehérjék gyakran módosulnak a szintézisüket követően, pl. proteolitikus hasítások és kovalens módosítások révén.
- A fehérjék az aminosavakon kívül más összetevőket, így pl. cukrokat, lipideket, továbbá kofaktorokat (prosztetikus csoportok, koenzimek, fémionok) is tartalmazhatnak.
- A funkciójuk szerint sokfélék lehetnek, pl. szerkezeti fehérjék, transzportfehérjék, védőfehérjék, összehúzó (kontraktilis, motor) fehérjék, toxinok, hormonok, tartalékfehérjék és enzimek.
- Az enzimek valójában biokatalizátorok, melyek a szervezetben lezajló kémiai reakciók sebességét növelik az aktiválási energia csökkentésével.
- Metabolizmus (anyagcsere): „az élő rendszer és a környezete között lezajló anyagfelvétel, az anyagok átalakítása és az anyagleadás hármas egysége, mely az élő számára megfelelő anyagot, energiát és információcserét biztosít.” (Gál B. Biológia 11., Mozaik Kiadó, Szeged, 2005). A metabolitok az anyagcsere-folyamatok kis molekulatömegű közti- és végtermékei.

Mit jelentenek az „omikák”?

- „...we are entering an era of 'big science'”
- „...a move towards non-hypothesis-driven or data-driven science”
Lucchini és munkatársai (2001) *Microbiology* **147**, 1403-1414.
- Az „omikák” első megjelenése az 1990-es évek végére tehető, és mára az „omikák” robbanásszerű gyarapodása figyelhető meg.
- Az „omikák” a biológiai molekulák együttes jellemzését (szerkezet, funkció) célozzák, és az egyes elnevezések definiálják a jellemzésbe bevont molekulák körét.
- Például a
„Genomika” az élőlények genomjának (az örökítőanyag összessége, beleértve a géneket és a nem-kódoló szakaszokat is), a
„Transzkriptomika” a transzkriptomjának (az DNS-ről átíródó RNS molekulák összessége), a
„Proteomika” a proteomjának (a transzláció során képződött összes fehérje és ezek módosított származékai), a
„Metabolomika” a metabolomjának (a sejtekben zajló kémiai folyamatok kis molekulatömegű termékeinek, a metabolitoknak) az együttes jellemzésére irányulnak.

Az „omikák” gyarapodásának az okai.

Az egyik ok a kutatott területek, az „omok”, számának a gyarapodása. Ennek magyarázata többrétű.

Egyrészt növekszik azon biológiai molekula csoportok száma, melyek együttes, sejt- vagy organizmus szintű jellemzésére lehetőségünk nyílik, ilyenek például a lipidek („lipidom”, „lipidomika”), a szénhidrátok („glikom”, „glikomika”) illetve a biológiailag aktív peptidek („peptidom”, „peptidomika”).

Másrészt mára a kutatások kiterjednek a biológiai molekulák közötti sejtszintű, pl. gén-gén, gén-fehérje, fehérje-fehérje, fehérje-ligandum, kölcsönhatások tanulmányozására is („interaktom”, „interaktomika”).

A másik ok az, hogy az egyes szakterületek létrehozzák a saját „omjaikat” és „omikáikat”, amelyekben az kutatási objektumok kijelölése és jellemzése speciális szempontok alapján történik meg, pl. „immunoproteomika”, „farmakogenomika”.

- További „omok” és „omikák” leírása található nagy számban az alábbi web oldalon: <http://www.genomicglossaries.com/content/omes.asp>

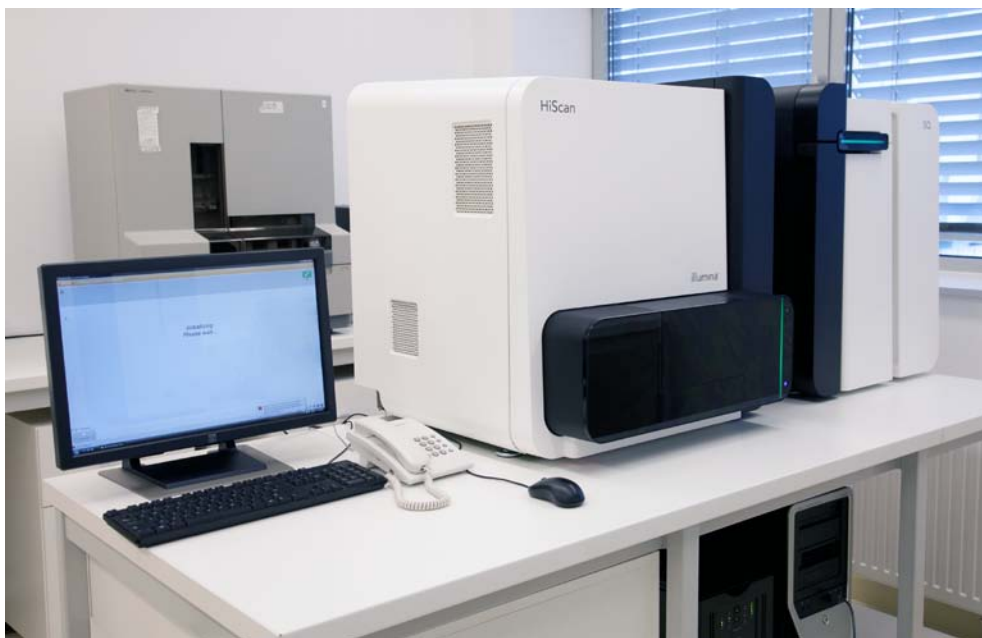
Egyed feletti „omikák”.

- Különösen a környezeti minták jellemzésében fontosak a „meta” „omok” és „omikák”, melyek a biológiai molekulákat már nem sejtszinten, hanem a közösség szintjén jellemzi. Ilyenek pl. a „metagenomika”, „metatranszkriptomika”, „metaproteomika”.
- Napjainkban egyre gyakrabban olvashatunk az emberi testtájak, továbbá biotechnológiai folyamatok (pl. biogáz termelés, szennyvíztisztítás) vagy éppen talaj- és vízminták mikróbaközösségeinek a metagenom szintű jellemzéséről. Ezen kutatások klinikai, biotechnológiai, mezőgazdasági vagy éppen ökológiai szempontból nagy jelentőséggel bírnak.
- Néhány példa: Global Ocean Sampling (GOS), 2007, ~6,3 Gbp; emberi tápcsatorna, 2010, 576,7 Gbp; szarvasmarha bendő, 2011, 268 Gbp; a talajminták esetén a várható információ > 1 Tbp mintánként!

Új generációs DNS szekvenálás.

Az „omikák” kialakulását és fejlődését számos műszaki és informatikai fejlesztés tette/teszi lehetővé.

Ilyenek pl. a „nagy áteresztőképességű”, vagy „új-generációs” nukleinsav (DNS, RNS) szekvenálási módszerek és eszközök („genomika” és „transzkriptomika”). Az RNS szekvenálását, a nukleinsav érzékenysége miatt, általában megelőzi a komplementer DNS-sé (cDNS) történő átírás reverz transzkriptáz segítségével.



Illumina HiScanSQ új-generációs szekvenáló rendszer a Debreceni Klinikai Genomikai és Személyre Szabott Orvoslási Központban

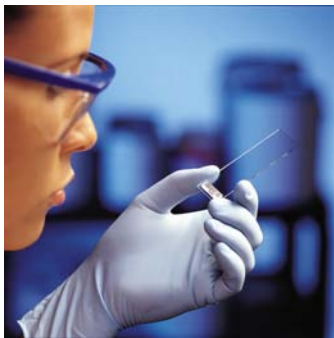
Teljesítmény: akár 17,5 Gb per nap!

Ezek a berendezések párhuzamosan igen sok DNS szakaszt képesek szekvenálni, ez adja a nagy áteresztőképesség magyarázatát.

DNS chipek.

DNS chipek létrehozása és alkalmazása (pl. „transzkriptomika”).

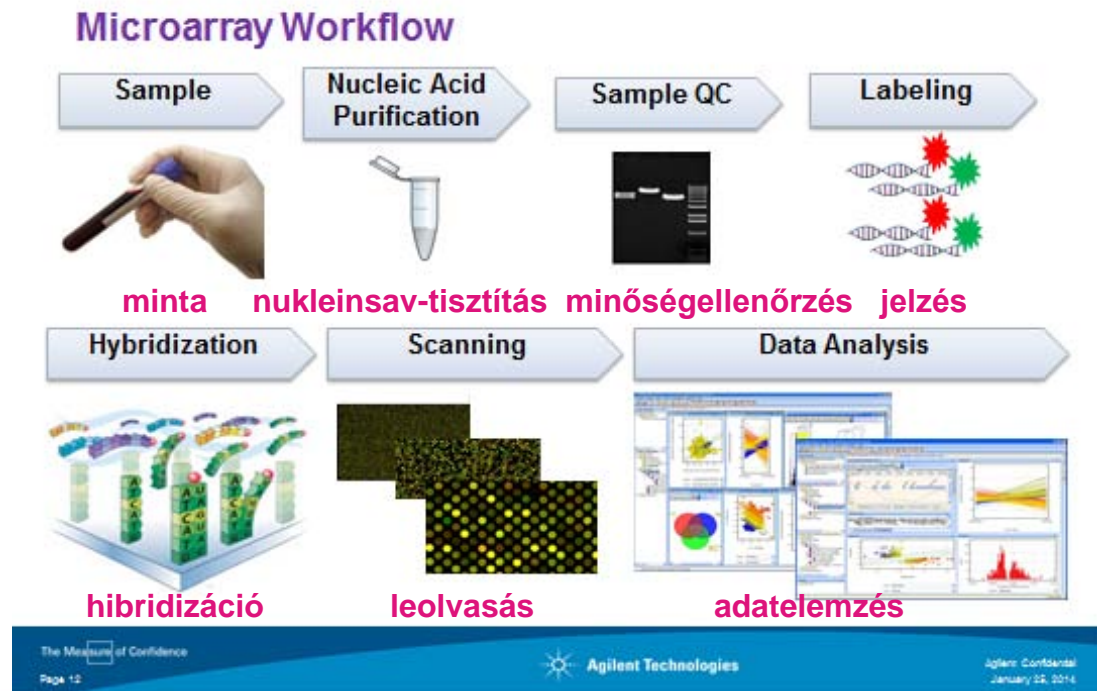
Az általunk jelenleg felhasznált *Aspergillus nidulans* DNS chipek leírása: Az egyes chipeken 11000-féle génspecifikus (egyenként 60-60 nukleotidból álló) próba van, melyeket 4 blokkban összesen vagy 16-szor (blokkonként 4-szer), vagy 32-szer (blokkonként 8-szor) szintetizáltak meg.



DNS chip és DNS chip leolvasó

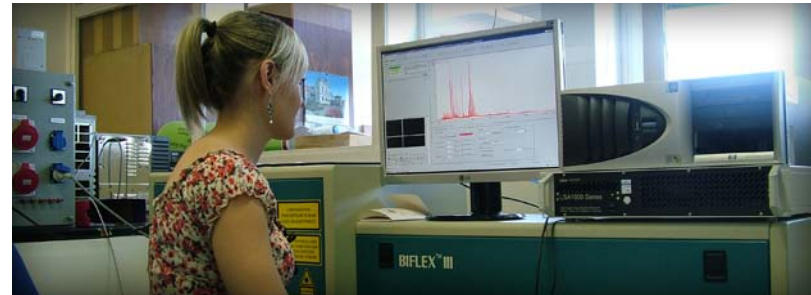
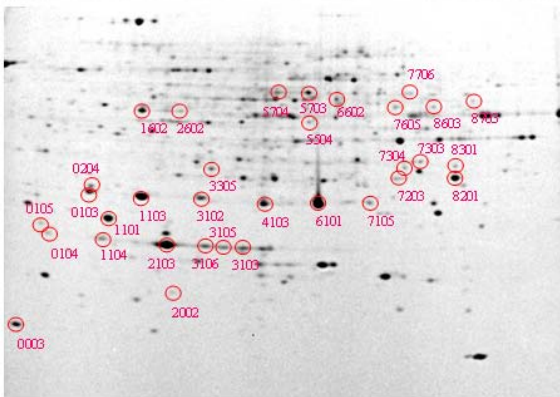
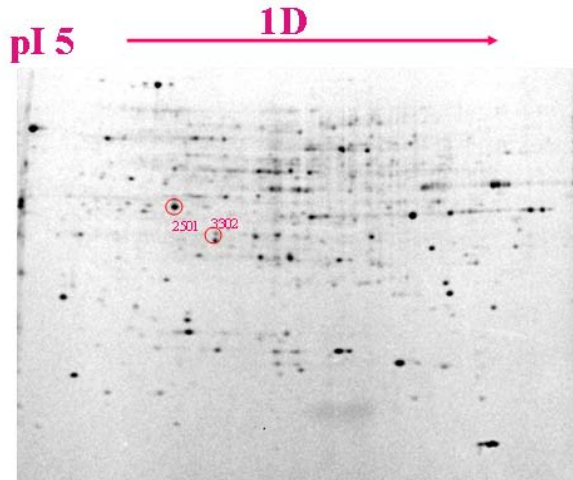
Egy DNS chip kísérelt munkamenete.

Az ábrákat a Kromat Kft., Budapest, biztosította.



A proteomika eszközei.

A fehérje elválasztási (2D protein elektroforézis) és analitikai eszközök (fehérje-tömegspektrometria) fejlesztése („proteomika”).



2D

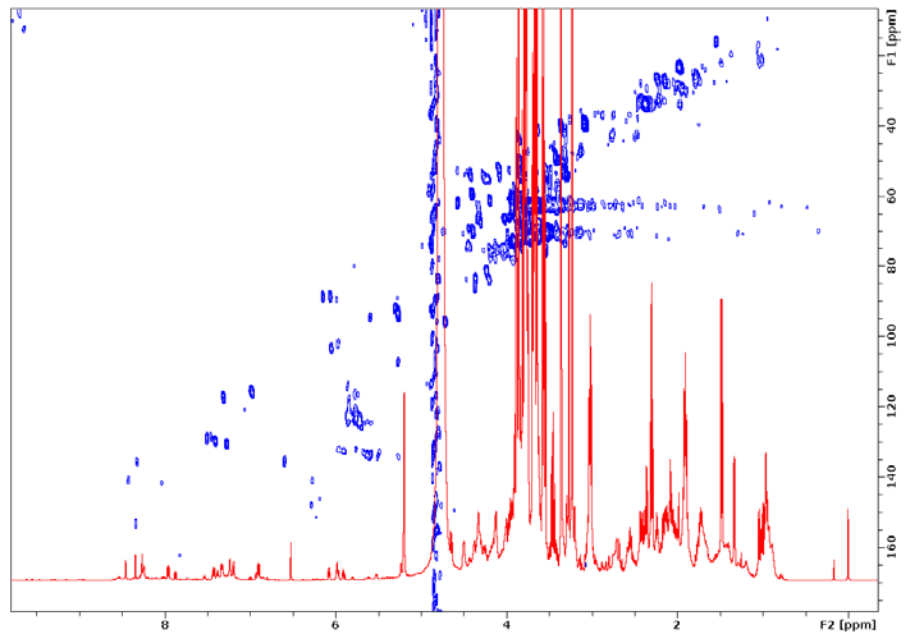
MALDI-TOF tömegspektrométer a DE TTK Alkalmazott Kémiai Tanszékén

2D SDS PAGE után denzitometráással hasonlítjuk össze a pöttyök intenzitását, majd a szignifikánsan megváltozott fehérje mennyiséget tartalmazó pöttyöt kivágjuk, proteázzal, pl. tripszinnel emésztjük, majd MALDI-TOF analízisnek vetjük alá. A peptidek pontos molekulatömegének a meghatározása (peptidtömeg-ujjlenyomat) után kerülhet sor a fehérjék azonosítására.

A metabolitok elemzése.



Kémiai analitikai (pl. GC-MS, LC-MS) és szerkezetvizsgálati (pl. NMR) eszközök fejlesztése („metabolomika”).



Aspergillus niger gomba metanolos extrakcióval kinyert metabolomjának ^1H és ^{13}C - ^1H korrelációs NMR spektrumai.
500 MHz NMR spektrométer a DE TTK NMR Laboratóriumában

Bioinformatika.

Bioinformatikai módszerek és eszközök fejlesztése *in silico* analízisekhez és adatbázisok kialakításához (minden „omika”).



Adatfeldolgozás a Debreceni Klinikai Genomikai és Személyre Szabott Orvoslási Központban.



Szuperszámítógép a Debreceni Egyetemen (HPC azaz „High Performance Computing”).

Adatbázisok.

- A könnyen áttekinthető és kezelhető adatbázisok kialakítása alapvetően fontos a napjainkban nyert nagyszámú „omikai” adat értelmezése és hatékony felhasználása szempontjából.

FUNGAL STRESS
<http://internal.med.unideb.hu/fsrd>

Search Protein ID or Gene ID or Stress

HOME SPECIES PROTEINS STRESS BROWSE ABOUT US

FUNGAL STRESS RESPONSE DATABASE

TITLE	FSRD: Fungal Stress Response Database																															
Objective	In silico annotation of stress response proteins in fungal species																															
Species involved in Database	Number of species with functionally characterized stress response proteins: 15 Number of species considered in annotation: 28																															
Number of fungal stress proteins found in the literature	1985 proteins in 1848 articles																															
Summary of stress response proteins found in literature	<table border="1"><thead><tr><th>SPECIES</th><th>NUMBER OF STRESS PROTEINS</th></tr></thead><tbody><tr><td><i>Aspergillus flavus</i></td><td>1</td></tr><tr><td><i>Aspergillus fumigatus</i></td><td>58</td></tr><tr><td><i>Aspergillus nidulans</i></td><td>134</td></tr><tr><td><i>Aspergillus oryzae</i></td><td>12</td></tr><tr><td><i>Candida albicans</i></td><td>176</td></tr><tr><td><i>Candida glabrata</i></td><td>19</td></tr><tr><td><i>Cryptococcus neoformans</i></td><td>78</td></tr><tr><td><i>Fusarium graminearum</i></td><td>8</td></tr><tr><td><i>Fusarium oxysporum</i></td><td>14</td></tr><tr><td><i>Fusarium verticillioides</i></td><td>4</td></tr><tr><td><i>Neosartorya fischeri</i></td><td>3</td></tr><tr><td><i>Neurospora crassa</i></td><td>72</td></tr><tr><td><i>Saccharomyces cerevisiae</i></td><td>881</td></tr><tr><td><i>Schizosaccharomyces pombe</i></td><td>507</td></tr></tbody></table>		SPECIES	NUMBER OF STRESS PROTEINS	<i>Aspergillus flavus</i>	1	<i>Aspergillus fumigatus</i>	58	<i>Aspergillus nidulans</i>	134	<i>Aspergillus oryzae</i>	12	<i>Candida albicans</i>	176	<i>Candida glabrata</i>	19	<i>Cryptococcus neoformans</i>	78	<i>Fusarium graminearum</i>	8	<i>Fusarium oxysporum</i>	14	<i>Fusarium verticillioides</i>	4	<i>Neosartorya fischeri</i>	3	<i>Neurospora crassa</i>	72	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	881	<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	507
SPECIES	NUMBER OF STRESS PROTEINS																															
<i>Aspergillus flavus</i>	1																															
<i>Aspergillus fumigatus</i>	58																															
<i>Aspergillus nidulans</i>	134																															
<i>Aspergillus oryzae</i>	12																															
<i>Candida albicans</i>	176																															
<i>Candida glabrata</i>	19																															
<i>Cryptococcus neoformans</i>	78																															
<i>Fusarium graminearum</i>	8																															
<i>Fusarium oxysporum</i>	14																															
<i>Fusarium verticillioides</i>	4																															
<i>Neosartorya fischeri</i>	3																															
<i>Neurospora crassa</i>	72																															
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	881																															
<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	507																															

Gomba stressválasz adatbázis („Fungal Stress Response Database”, FSRD)

Karányi és munkatársai (2013) Database (Oxford Journals) Article ID bat037 doi: 10.1093/database/bat037

<http://internal.med.unideb.hu/fsrd>

A genomok nagysága.

- A genomok nagysága, illetve a gének száma nem tükrözi az élőlények komplexitását!
- Genomok és a gének száma

Faj	Genom nagyság (Mbp)	Proteint kódoló gének száma
• <i>Escherichia coli</i> K-12	4,6	4288
• <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	12,2	6692
• <i>Caenorhabditis elegans</i>	100	20517
• <i>Drosophila melanogaster</i>	170	13917
• <i>Arabidopsis thaliana</i> (lúdfű)	135	27416
• <i>Glycine max</i> (szójabab)	975	54175
• <i>Homo sapiens</i>	3100	21792

Az ember proteint kódoló génjeinek a száma csupán ötszöröse az *E. coli*-énak, de mekkora különbség van a két élőlény komplexitásában!

Felhasznált adatbázisok:

<http://jul2012.archive.ensembl.org/info/about/species.html> és <http://www.phytozome.org/>

Felhasznált irodalom:

Blattner és munkatársai (1997) *Science* **277**, 1453-1462.

Egysejtű és növényi genomok.

- Érdekes, hogy az egysejtű állatok, pl. *Amoeba* fajok genomjának a mérete akár 200-szorosan is meghaladhatja az emberi genom nagyságát, miközben a gének száma körülbelül egy baktériumével vethető össze.
- A növényi genomok is tekintélyes méretűek lehetnek, és az emberi génállománnyal összevethető, vagy azt meghaladó számú génjük lehet!
- A Phytozome és Gramene növényi genom adatbázisok (<http://www.phytozome.org/>, <http://www.gramene.org/>) alapján, pl.:
- *Linum usitatissimum* (házi len): 318 Mbp, 26374 gén;
- *Phaseolus vulgaris* (veteménybab): 521 Mbp, 27197 gén;
- *Solanum tuberosum* (burgonya): 811 Mbp, 39021 gén;
- *Hordeum vulgare* (árpa): 4,7 Gbp, 24211 gén;
- *Zea mays* (kukorica): 2,1 Gbp, 39475 gén;
- *Triticum aestivum* (búza): 4,5 Gbp, 108569 gén.
- A *Triticum aestivum* teljes genomja ~ 17 Gbp, egy hexaploid növény, mely 3 faj természetes hibridizációjával jött létre (http://ensembl.gramene.org/Triticum_aestivum/Info/Index)

Eltérő genom méretek.

- A genom tekintélyes hányadát „parazita” szekvenciák töltik ki, melyek képesek sokszorozódni és elárasztani a genomot. (És ezáltal is növelni annak méretét.)
- Az intronok egy része is szerepet játszik a képződő fehérjék formálásában az „alternatív splicing” jelenség révén. Meglepő módon egy-egy gén esetén az elsődlegesen szintetizálódott hírvivő pre-mRNS utófeldolgozása („splicing”) több, akár eltérő funkciójú fehérjét is eredményezhet!
- Nem meglepő módon, a fajok genommérete egy törzsön belül is jelentősen eltérhet, miközben a gének száma közeli érték, pl. a gerincesek törzsét tekintve, a Archive EnSEMBL adatbázis (<http://jul2012.archive.ensembl.org/info/about/species.html>) alapján:
- *Danio reiro* (zebrahal): 1,4 Gbp, 26206 gén
Takifugu rubripes (gömbhal, „fugu”): 393 Mbp, 18523 gén
Xenopus tropicalis (nyugati karmosbéka): 1,5 Gbp, 18429 gén
Anolis carolinensis (zöld anolisz): 1,8 Gbp, 17805 gén
Gallus gallus (házityúk): 1,1 Gbp, 16736 gén
Mus musculus (háziegér): 2,7 Gbp, 22368 gén
Sus scrofa (vaddisznó): 2,8 Gbp, 21640 gén
Gorilla gorilla (gorilla): 3,0 Gbp, 20962 gén
Homo sapiens (ember): 3,1 Gbp, 21792 gén
- Az ember és a csimpánz DNS szekvenciák közötti hasonlóság ~ 99 %, ha az inzerciókat és a deléciókat is figyelembe vesszük, akkor genomok hasonlósága ~ 96 %.
Varki és Altheide (2005) *Genome Res.* **15**, 1746-1758.

Az emberi genom változékonysága.

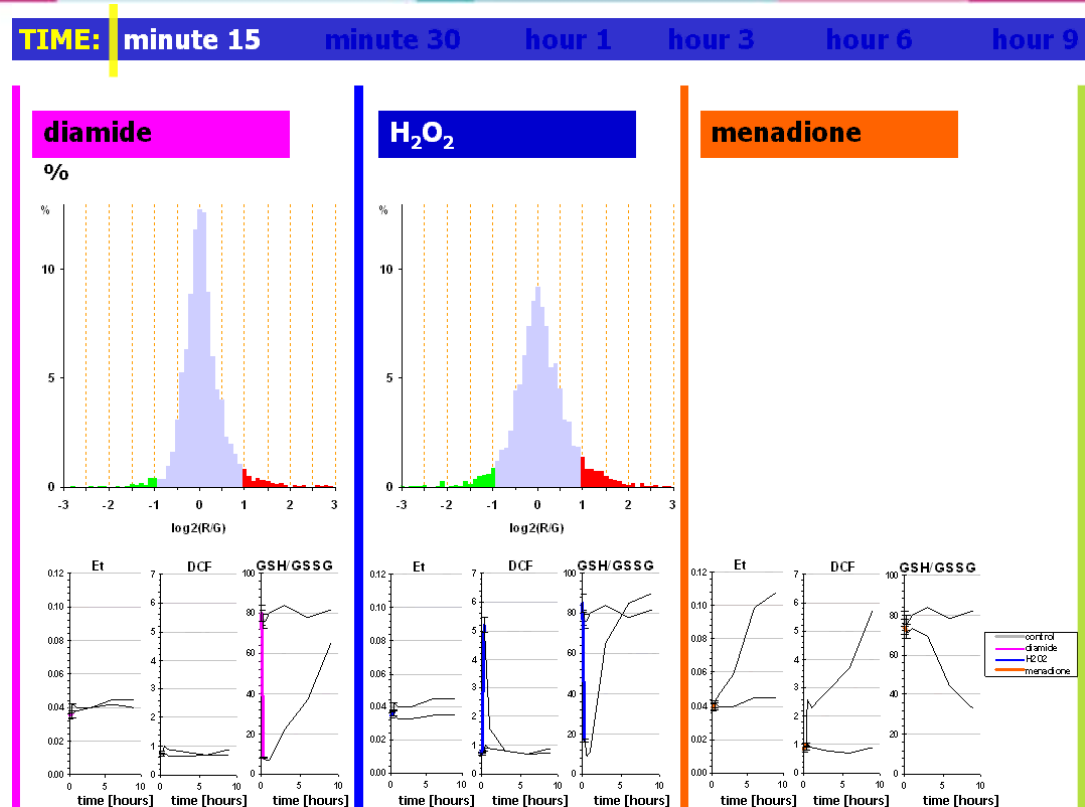
- 1000 Genom Projekt (1000 Genomes Project Consortium, 2012; <http://www.1000genomes.org/>) az emberi genom változékonyságának a megismerését tűzte ki célul. A tanulmány 1092 ember genomjának az összehasonlító elemzésére terjedt ki. A kutatók ezen projekt keretében 38 millió egy pontos nukleotid polimorfizmust („single-nucleotide polymorphism”; SNP), ~1.4 millió rövid inzerciót és delécióit („indelek”) és ~14000 nagyobb (> 50 bp) delécióit azonosítottak.
- Két ember genomja között ~99.5 % egyezés van (<http://www.genome.gov/10001688>).
- Az emberi genomok szekvenálása és összehasonlítása folyamatban van. Az emberi SNP-k 2013. júliusában ismert száma: 62676337 (ebből 40274298 validált).
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_summary.cgi?view+summary=view+summary&build_id=138

Személyre szabott gyógyítás.

- A teljesen szekvenált emberi genomok számának a rohamos növekedésével és az SNP chipek kifejlesztésével lehetővé vált az SNP mintázatok asszociáltatása betegségekkel, ami igen értékes információkat szolgáltat az egyes betegségek kialakulásával, illetve azok kockázatával kapcsolatban. (International HapMap Project, <http://hapmap.ncbi.nlm.nih.gov/>)
- Az emberi genom változékonysága, pl. az SNP mintázatok esetében, szintén összefügghetnek az emberek pl. gyógyszerekkel, vakcinákkal és betegségokozó patogénekekkel szemben mutatott eltérő reakcióival.
- Az emberi genom szekvenálása egyre gyorsabb és olcsóbb, ez pedig forradalmasíthatja az orvostudományt, hiszen személyre szabott terápiák és gyógyszerek jelenhetnek meg a közeli jövőben.

A transzkriptom analízise.

- A malignusan átalakult, rákos és normál sejtek transzkriptomja közötti különbségek térképezése segíthet új gyógyszer-támadáspontok kijelölésében.
- Az őssejtek és a specializált sejtek transzkriptomja közötti különbségek vizsgálata révén megérthetjük a sejt-differenciálódás folyamatát.
- A környezeti stressz-hatásokra adott transzkriptom változások vizsgálata segíthet biotechnológiai eljárások számára stressztoleráns mikroorganizmusok kifejlesztésében.



Globális génexpresszió-változások oxidatív stresszt kiváltó ágenseknek kitett *Aspergillus nidulans* tenyészetekben.

Pócsi és munkatársai (2005) BMC Genomics 6, Article No: 182. alapján

A proteom és metabolom analízise.

- A proteom fehérjei szerkezetének, funkcióinak és kölcsönhatásainak a megismerése segíthet minket korszerű és hatékony diagnosztikai és terápiás eszközök kifejlesztésében. Különösen jelentős az egyes súlyos betegségek korai kimutatására alkalmas „biomarker” fehérjék azonosítása és megbízható mennyiségi meghatározása.
- A metabolom kutatása segíthet minket egyes anyagok, pl. gyógyszerjelölt molekulák toxicitásának a felismerésében (pl. metabolikus zavarok kiváltása, a máj és vese károsodása), továbbá génfunkciók feltárásában is mutáns és vad típusú sejtek metabolomjának az összehasonlításra révén.
- Különösen izgalmas annak a kérdésnek a megválaszolása, hogy a bélrendszer mikróbái és azok metabolizmusa miképpen segítik elő, vagy éppen gátolják egyes igen elterjedt betegségek, pl. az érelmeszesedés kialakulását.

Köszönetnyilvánítás

Szeretném kifejezni a köszönetemet az alábbiaknak:

A lehetőségért:

Dr. Antos László ügyvezető igazgató, Magyar Innovációs Szövetség
Pappné Fülöp Ildikó intézményvezető, Kőrösi Csoma Sándor Gimnázium, Szakközép-,
Szakképző Iskola és Kollégium

A kiváló szemléltető anyagokért:

Prof. Dr. Batta Gyula, Fizil Ádám, DE TTK Szerves Kémiai Tanszék
Prof. Dr. Gaál István, DE TTK Algebra és Számelmélet Tanszék
Prof. Dr. Kéki Sándor, DE TTK Alkalmazott Kémiai Tanszék
Prof. Dr. Kövér Katalin, DE TTK Szervetlen és Analitikai Kémiai Tanszék
Dr. Hajdú András, DE IK Komputergrafika és Képfeldolgozás Tanszék
Dr. Bálint L. Bálint, Debreceni Klinikai Genomikai és Személyre Szabott Orvoslási Központ
Karányi Zsolt, DE ÁOK I. sz. Belgyógyászati Klinika
Zalka Anna, Kromat Kft., Budapest

A szakmai konzultációkért

Dr. Miskei Márton, DE ÁOK Biokémiai és Molekuláris Biológiai Intézet
Dr. Barta Endre és Horváth Attila, Debreceni Klinikai Genomikai és Személyre Szabott
Orvoslási Központ
Revákné Dr. Markóczi Ibolya, DE TTK Biológia Szakmódszertani Részleg
Szabó Zsuzsa, DE TTK Mikrobiális Biotechnológiai és Sejtbiológiai Tanszék



**Köszönöm a
megtisztelő figyelmet!**

www.meetthescientist.hu

