ӘЛ-ФАРАБИ АТЫНДАҒЫ ҚАЗАҚ ҰЛТТЫҚ УНИВЕРСИТЕТІ
БИОЛОГИЯ ЖӘНЕ БИОТЕХНОЛОГИЯ ФАКУЛЬТЕТІ
МОЛЕКУЛАЛЫҚ БИОЛОГИЯ ЖӘНЕ ГЕНЕТИКА КАФЕДРАСЫ

Пән атауы: Қолданбалы генетика және геномика

Дәріс 3

Функционалды геномика.
Транскриптомика, протеомика және метаболомика

Лектор: к.б.н., Алтыбаева Н.А.

Дәрістің мақсаты: Функционалды геномиканың молекулалық негіздерін, гендердің экспрессиясы мен реттелу механизмдерін қарастыру, транскриптомика, протеомика және метаболомиканың негізгі зерттеу әдістерін және олардың биологиялық маңызын түсіндіру.

Дәрістің жоспары:

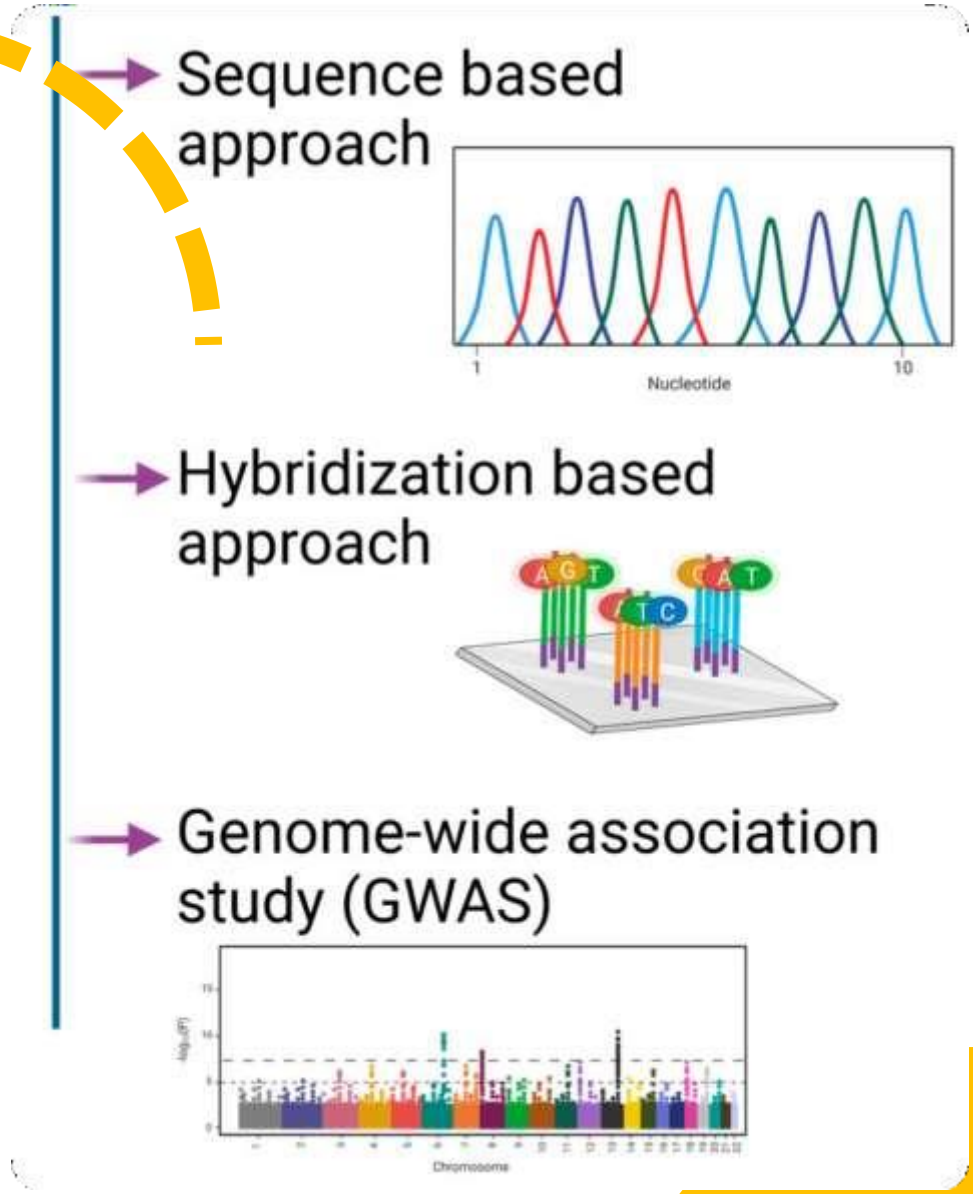
1. Функционалды геномиканың негізгі ұғымдары мен міндеттері.
2. Ген экспрессиясының молекулалық механизмдері және реттелу ерекшеліктері.
3. Транскриптомиканың зерттеу объектілері мен негізгі әдістері.
4. Протеомиканың негізгі міндеттері және ақуыздарды зерттеу әдістері.
5. Метаболомиканың ерекшеліктері және метаболиттерді талдау әдістері.
6. Транскриптомика, протеомика және метаболомика деректерін біріктіріп талдаудың биология мен медицинадағы маңызы.

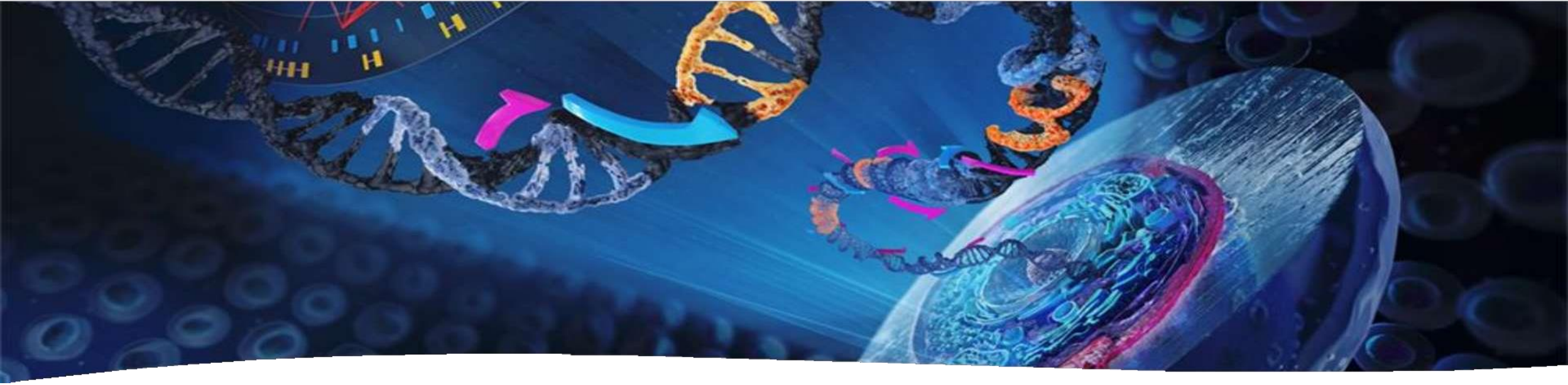
Оқыту нәтижелері

Дәрісті меңгергеннен кейін докторант:

1. Функционалды геномиканың негізгі ұғымдарын, мақсаттары мен міндеттерін Түсіндіре алады.
2. Ген экспрессиясының молекулалық механизмдерін және оның реттелу ерекшеліктерін сипаттай алады.
3. Транскриптомика, протеомика және метаболомиканың зерттеу нысандарын ажырата алады.
4. RNA-seq, Microarray және RT-qPCR әдістерінің жұмыс істеу принциптерін түсіндіре алады.
5. Ақуыздарды зерттеуде 2D-гель электрофорезі мен LC-MS/MS әдістерінің қолданылуын салыстыра алады.
6. Метаболиттерді талдауда GC-MS, LC-MS және NMR әдістерінің ерекшеліктерін сипаттай алады.
7. Транскриптомдық, протеомдық және метаболомдық деректерді біріктіріп талдаудың биология мен медицинадағы маңызын бағалай алады.

Функционалды геномика - геномдық деректер негізінде гендердің қызметін, өзара әрекеттесуін және олардың организм деңгейіндегі рөлін зерттейтін ғылым саласы. Бұл бағыт геномды түсінудің жаңа кезеңін қалыптастырады.





Функционалды геномиканың мақсаты

Бұл бағыттың басты мақсаты – **генетикалық ақпараттың фенотиптік көрінісін** молекулалық деңгейде түсіндіру.

Функционалды геномика құрылымдық геномикадан айырмашылығы – тек гендердің орналасуын анықтап қана қоймай, олардың **қалай, қашан және қандай жағдайда жұмыс істейтінін** зерттейді.

Ол **жүйелік биология** әдістеріне сүйеніп, организмдегі барлық молекулалардың (ДНҚ, РНҚ, ақуыз, метаболиттер) өзара әрекеттесуін кешенді түрде қарастырады.

Функционалды геномиканың негізгі мақсаттары:

Гендердің экспрессиясын уақыт пен орта әсеріне байланысты зерттеу;

Ген өнімдері арасындағы байланыс пен сигналдық жолдарды анықтау;

Геномның күрделі реттелу механизмдерін жүйелі түрде түсіндіру;

Гендік мутациялардың биологиялық процестерге әсерін бағалау;

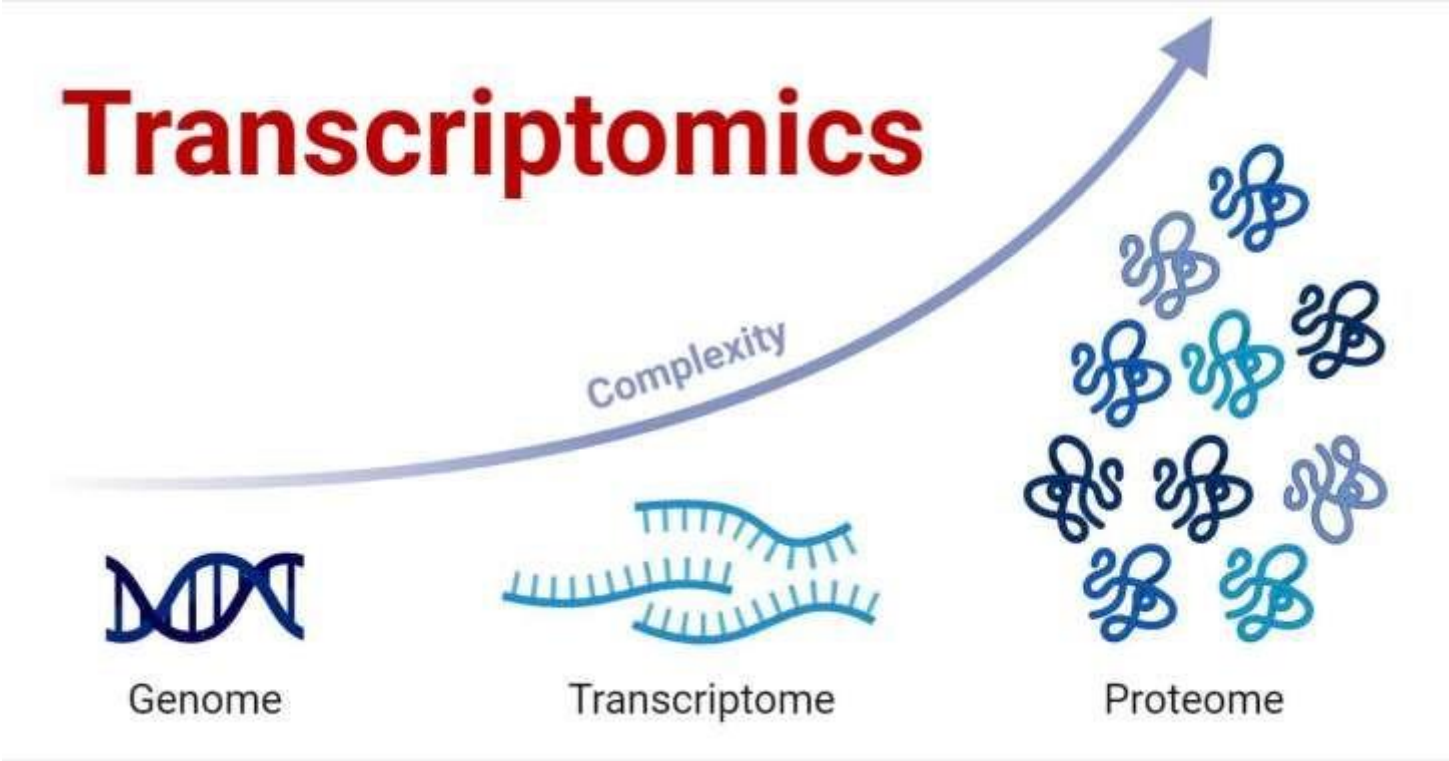
Физиологиялық және патологиялық жағдайларда гендердің қызметін салыстыру.

Бұл бағыт **адам геномы жобасынан (Human Genome Project)** кейінгі ең маңызды ғылыми кезең ретінде қарастырылады, себебі ол генетикалық ақпараттың нақты биологиялық мәнін ашады.

Транскриптомика ұғымы

Транскриптомика жасушада немесе ұлпада синтезделетін барлық **РНҚ молекулаларын (транскрипттерді)** зерттейтін ғылым.

Транскриптомика ген экспрессиясын зерттеу арқылы қандай гендер белгілі бір жағдайда белсенді немесе басылғанын анықтайды. Бұл бағыт генетикалық реттелудің динамикасын және физиологиялық жауап механизмдерін сипаттауға мүмкіндік береді.



Транскриптомика әдістері

Microarray талдау – белгілі бір гендер жиынтығының экспрессиясын анықтау.

RNA-Seq (Next Generation Sequencing) – барлық РНҚ молекулаларын жоғары дәлдікпен секвенирлеу.

RT-qPCR – нақты гендердің экспрессия деңгейін сандық анықтау.

Транскриптомикадағы деректерді талдау

Деректерді биоинформатика әдістерімен өңдеу, экспрессия деңгейін салыстыру, функционалды аннотация жасау және гендік желілерді құру.

FastQC — ридтердің (оқылымдардың) сапасын бағалауға арналған стандартты құрал.
→ Бұл бағдарлама сапа таралуын, GC құрамын, дубликаттарды, адаптерлерді және басқа да параметрлерді көрсетеді.

Trimmomatic / Cutadapt — адаптерлерді, сапасы төмен нуклеотидтерді және қысқа ридтерді алып тастау үшін қолданылады.

MultiQC — бірнеше үлгінің FastQC есептерін біріктіріп, бір жалпы шолу файлын жасайды.

RNA-seq (жалпы шолу және кезеңдер)

Мақсаты: транскриптомның барлық түрлері мен экспрессия деңгейін сандық анықтау.

Негізгі кезеңдері:

- 1) Үлгі жинау: RNA тазалығы (RIN >7 ұсынылады), деградациядан аулақ болу.
- 2) РНҚ дайындық: rRNA-ны алып тастау немесе mRNA-ны полA-селекциялау.
- 3) Кітапхана құру: фрагментация, cDNA синтезі, адаптерлер қосу.
- 4) Секвенирлеу: қысқа-оқылымды (short-read) немесе ұзын-оқылымды (long-read) платформалар.
- 5) Биоинформатика: сапа бақылау (FastQC), оқылымдарды кесу (trimming), карталау (STAR, HISAT2), кванттау (featureCounts, Salmon), дифференциалды экспрессия (DESeq2, edgeR).

Маңызды: репликат саны, кітапхана деңгейіндегі батч эффектілеріне бақылау.

Микрочип (Microarray) — принцип және кезеңдер

Принцип: лабильдендірілген зондтарға флуоресценттік белгілеген cDNA-гибридизация арқылы сигналды өлшеу.

Кезеңдер: РНҚ экстракциясы → белгілеп-шығару → гибридизация → сканерлеу → нормализация (RMA, MAS5).

Артықшылықтары: бағасы салыстырмалы түрде төмен, өндірістік қоймалар бар; кемшілігі: жаңа транскрипттерді анықтай алмайды.

Нормализация және баптау: background correction, quantile normalization.

Контрольдер: house-keeping гендер, spike-in контролдары.

qRT-PCR (сандық ПТР) — принцип және дизайн

Қолданылуы: ген экспрессиясын валидациялау және сандық бағалау.

Негізгі компоненттер: cDNA шаблоны, нақты-уақытты детекция (SYBR Green немесе TaqMan).

Дизайны: праймер ұзындығы 18–24 nt, Tm ≈ 60°C, праймерлер арасында 100–200 bp ампликон.

Контролдар: no-template control (NTC), no-RT control, house-keeping гендер (GAPDH, ACTB) — бірақ контекстке байланысты таңдау.

Кванттау: ΔΔCt әдісі (relative quantification) немесе стандартты қисық (absolute quantification).

Протеомика ұғымы

Протеомика – жасушадағы барлық белоктардың құрылымы мен функциясын зерттейтін ғылым. Протеомика организмнің физиологиялық және патологиялық күйін түсінуге мүмкіндік береді.

Протеомиканың мақсаттары:

- Белгілі бір ұлпа немесе жасушадағы барлық ақуыздардың құрылымы мен функциясын анықтау;
- Ақуыздардың өзара әрекеттесу желілерін зерттеу;
- Посттрансляциялық модификацияларды (фосфорлану, ацетилдену, метилдену және т.б.) талдау.

Протеомика әдістері

1. 2D-гель электрофорез

2. Масс-спектрометрия (MALDI-TOF, LC-MS/MS)

3. Белок идентификациясы және кванттау

4. Белок–белок өзара әрекеттесуін талдау

2D-гель электрофорез (протеомика) — принцип

Принцип: белоктарды изоэлектрлік фокусирование бойынша бөлу (pI) және SDS-PAGE бойынша молекулярлық массаға қарай бөлу.

Кезеңдері: белоктарды экстракциялау, дегридирование/детергентпен өңдеу, IEF, SDS-PAGE, бояу (Coomassie, silver stain), дақтарды талдау.

Қолданылуы: белокқа өзгерістерді визуализациялау, PTM-ды көрсету мүмкіндігі шектеулі.

Тартылысы: жоғары ажыратымдылықта белгілі белоктарды бөлуді қамтамасыз етеді, бірақ гидрофобты белоктар мен төмен экспрессиялы белоктарды азғана көрсетеді.

Протеомика: LC-MS/MS — үлгі дайындық (sample prep)

Белок экстракциясы: буфер таңдау (денатурация агенттері, детерджентер), протеаз ингибиторлары.

Редукция және алкилирлеу: дисульфидтік байланыстарды ашу (DTT), алкилирлеу (IAA).

Протеолитикалық ассимиляция: трипсин арқылы тұтас белоктарды пептидтерге ыдырату.

Десалтылау және тазарту: C18 колонкалар арқылы тұздан тазалау.

Пайдалану: стандартизирленген протоколдар (FASP, SP3) жоғары сапа береді.

LC-MS/MS: хроматография және масс-спектрометрия түрлері

LC (nanoflow LC) — пептидтерді уақыт бойынша бөліп, MS-ке беру.
MS түрлері: Orbitrap (жоғары резолюция), Q-TOF, Ion Trap; MS/MS – пептидтің детерминативтік фрагменттері.
Детекция режимдері: DDA (Data-Dependent Acquisition) және DIA (Data-Independent Acquisition).
DDA: жоғары интенситетті иондарды таңдап, оларды фрагментациялайды — идентификация үшін қолайлы.
DIA: кең диапазонда иондарды фрагменттеп, кванттауды жақсарта алады (SWATH сияқты тәсілдер).

Метаболомика ұғымы

Метаболомика – биологиялық жүйедегі барлық метаболиттердің (шағын молекулалардың) құрамын және олардың динамикасын зерттейтін ғылым. Бұл сала метаболизм деңгейіндегі өзгерістерді бақылауға және организмнің функционалдық күйін бағалауға мүмкіндік береді.

Метаболиттер – энергия алмасу, сигнал беру және физиологиялық процестердің соңғы өнімдері. Сондықтан метаболомика организмдегі **биохимиялық реакциялар нәтижесін нақты көрсетеді.**

Метаболомика әдістері

1. Газдық және сұйықтық хроматографиясы (GC-MS, LC-MS)

2. ЯМР спектроскопиясы (NMR)

3. Капиллярлық электрофорез

Метаболомика: жалпы жұмыс ағыны (workflow)

Мақсаты: жасушалардағы барлық шағын молекулалардың профильдерін анықтау.

Кезеңдер: үлгі жинау → метаболит экстракциясы → дериватизация (GC-MS үшін) → аналитикалық әдіс (GC-MS / LC-MS / NMR) → деректер өңдеу → идентификация/кванттау → pathway analysis.

Үлгі түрлері: қан, плазма, сөл, тін, жасуша культурасынан алынған экстракттар.

Маңызды: үзіліссіз тоңазытқышта жылдам өңдеу, метаболиттердің тұрақсыздығы үшін арнайы протоколдар.

GC-MS метаболомика - дериватизация және аналитика

GC-MS тек ұшпа немесе дериватизацияланған қосылыстар үшін қолайлы.
Дериватизация мысалдары: MSTFA, BSTFA - полярлы гидроксил және карбоксил топтарын летучий эфирлерге айналдырады.
Хроматография: колоночная селекция (DB-5 сияқты) және температуралық программалау.
Идентификация: масс спектр кітапханалары (NIST) арқылы сәйкестендіру.
Кванттау: ішкі стандарттар қолдану және аналитикалық валидация.

Омика ғылымдарының өзара байланысы

Транскриптомика → Протеомика → Метаболомика тізбегі арқылы жасуша қызметінің толық көрінісі алынады. Бұл интегративті тәсіл multi-omics деп аталады.

Multi-omics тәсілі геномдық, транскриптомдық, протеомдық және метаболомдық деректерді біріктіріп, жүйелік биология тұрғысынан организмді зерттейді.

Қолданбалы бағыттар

Функционалды геномика медицинада (биомаркерлер табу, ауру диагностикасы), ауыл шаруашылығында және фармакологияда кеңінен қолданылады.

Жасанды интеллект көмегімен гендік деректерді талдау, жеке медицина (precision medicine), және синтетикалық биология дамуда.

Қорытынды

Функционалды геномика - гендердің қызметін, экспрессиясын және өзара әрекеттесуін молекулалық деңгейде зерттейтін ғылым саласы. Ол генетикалық ақпараттың организмнің құрылымы мен қызметіне әсерін түсіндіруге мүмкіндік береді.

Транскриптомика жасушадағы РНҚ молекулаларының жиынтығын және ген экспрессиясының өзгерістерін зерттейді. RNA-seq, Microarray және RT-qPCR әдістері гендердің белсенділігін анықтауға және салыстыруға қолданылады.

Протеомика ақуыздардың құрылымын, қызметін, өзара әрекеттесуін және посттрансляциялық модификацияларын зерттейді. 2D-гель электрофорезі мен масс-спектрометрия ақуыздарды анықтауға және сандық талдауға мүмкіндік береді.

Метаболомика организмдегі шағын молекулалар мен метаболиттердің құрамын және өзгерістерін зерттейді. GC-MS, LC-MS және NMR әдістері метаболизм процестерін талдауда маңызды орын алады.

Транскриптомдық, протеомдық және метаболомдық деректерді біріктіретін multi-omics тәсілі биологиялық жүйелерді кешенді зерттеуге, аурулардың молекулалық механизмдерін түсіндіруге және жаңа биомаркерлерді анықтауға мүмкіндік береді.

Өзін-өзі тексеруге арналған сұрақтар:

1. Функционалды геномика дегеніміз не және оның негізгі міндеттері қандай?
2. Ген экспрессиясы дегеніміз не және оның реттелуінің биологиялық маңызы қандай?
3. Транскриптомика нені зерттейді және оның негізгі әдістері қандай?
4. RNA-seq, Microarray және RT-qPCR әдістерінің айырмашылықтары қандай?
5. Протеомика қандай молекулаларды зерттейді және оның негізгі міндеттері қандай?
6. 2D-гель электрофорезі мен LC-MS/MS әдістерінің жұмыс істеу принциптері қандай?
7. Метаболомика дегеніміз не және метаболиттерді зерттеудің маңызы қандай?
8. GC-MS, LC-MS және NMR әдістерінің ерекшеліктері қандай?
9. Multi-omics тәсілі дегеніміз не және ол қандай деректерді біріктіреді?
10. Функционалды геномика әдістерінің медицина мен биотехнологиядағы практикалық маңызы қандай?

Пайдаланылған әдебиеттер

1. Wang, Z., Gerstein, M., & Snyder, M. (2009). RNA-Seq: A revolutionary tool for transcriptomics. *Nature Reviews Genetics, 10*(1), 57–63. https://doi.org/10.1038/nrg2484
2. Conesa, A., Madrigal, P., Tarazona, S., et al. (2016). A survey of best practices for RNA-seq data analysis. *Genome Biology, 17*, Article 13. https://doi.org/10.1186/s13059-016-0881-8
3. Aebersold, R., & Mann, M. (2016). Mass-spectrometric exploration of proteome structure and function. *Nature, 537*, 347–355. https://doi.org/10.1038/nature19949
4. Patti, G. J., Yanes, O., & Siuzdak, G. (2012). Metabolomics: The apogee of the omics trilogy. *Nature Reviews Molecular Cell Biology, 13*, 263–269. https://doi.org/10.1038/nrm3314
5. Hasin, Y., Seldin, M., & Lusis, A. (2017). Multi-omics approaches to disease. *Genome Biology, 18*, Article 83. https://doi.org/10.1186/s13059-017-1215-1