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

Пән атауы: Геномика және молекулалық диагностика

Дәріс 3

Функционалды геномика.

Транскриптомика, протеомика және метаболомика

Лектор: б.ғ.к., Алтыбаева Н.А.

Дәрістің мақсаты: Функционалды геномиканың негізгі қағидаларын, транскриптомика, протеомика және метаболомиканың зерттеу әдістерін, олардың ген қызметі мен жасушалық үдерістерді түсіндірудегі ғылыми және медициналық маңызын сипаттау.

Оқыту нәтижелері

Дәрісті меңгергеннен кейін магистрант:

1. Функционалды геномиканың негізгі ұғымдарын, мақсаты мен зерттеу бағыттарын түсіндіре алады.
2. Ген экспрессиясының молекулалық механизмдерін және функционалдық реттелу ерекшеліктерін сипаттай алады.
3. Транскриптомика, протеомика және метаболомиканың зерттеу объектілерін ажырата алады.
4. РНҚ секвенирлеу (RNA-seq) технологиясының ген экспрессиясын зерттеудегі маңызын түсіндіре алады.
5. Масс-спектрометрияның ақуыздар мен метаболиттерді анықтаудағы қолданылуын сипаттай алады.
6. Транскриптомдық, протеомдық және метаболомдық деректердің өзара байланысын талдай алады.
7. Омиялық технологиялардың мүмкіндіктері мен шектеулерін салыстыра алады.
8. Мультиомикалық зерттеулердің молекулалық диагностикадағы және дербестендірілген [illegible]надағы маңызын бағалай алады.

Дәрістің жоспары

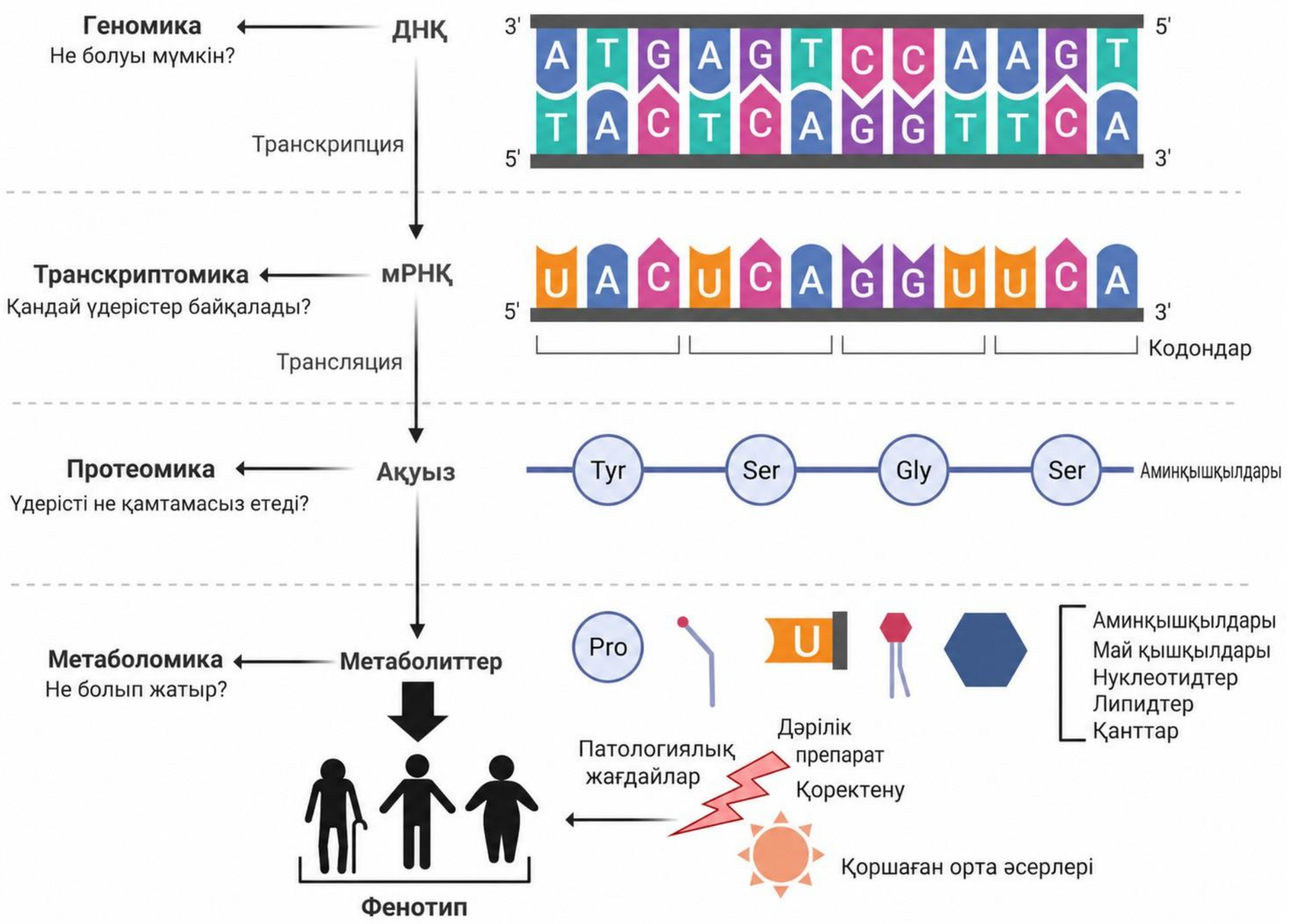
1. Функционалды геномиканың ғылыми негіздері, гендердің функционалдық белсенділігі және ген экспрессиясын зерттеу принциптері.
2. Транскриптомика, протеомика және метаболомиканың молекулалық негіздері, зерттеу объектілері мен заманауи аналитикалық технологиялары.
3. Мультиомикалық деректерді интеграциялау, биологиялық процестерді жүйелік талдау және омиялық зерттеулердің молекулалық диагностикадағы қолданылуы.

Кіріспе

Геномдағы нуклеотидтік тізбекті анықтау гендердің қызметін және олардың ағза белгілерінің қалыптасуына әсерін толық түсіндіруге жеткіліксіз. Осыған байланысты **функционалды геномика** гендердің қызметін, олардың белсенділігінің реттелуін және өзара әрекеттесуін геном ауқымында зерттейді.

Функционалды геномикада ***транскриптомика*** жасушада түзілетін РНҚ жиынтығын, ***протеомика*** ақуыздардың құрамы, мөлшері мен қызметін, ал ***метаболомика*** төмен молекулалы метаболиттер жиынтығын зерттеуге мүмкіндік береді. Бұл молекулалық деңгейлер жасушаның түріне, физиологиялық күйіне және сыртқы орта әсеріне байланысты өзгеріп отырады.

Омикалық деректерді біріктіріп талдау ген белсенділігінің жасушалық үдерістер мен фенотипке қалай әсер ететінін түсіндіруге негіз болады. Мұндай тәсіл биологиялық жүйелердің жұмысын кешенді сипаттауда, ауру механизмдерін анықтауда және биомаркерлерді іздеуде маңызды.



Сурет - Генетикалық ақпараттың жүзеге асуы: геномика, транскриптомика, протеомика және метаболомиканың фенотиппен байланысы

Функционалды геномика

Гендердің қызметін, олардың реттелуі мен өзара әрекеттесуін геном ауқымында зерттейтін ғылым саласы. Ол генетикалық ақпараттың жасушалық үдерістер мен фенотиптің қалыптасуына қалай қатысатынын анықтайды.

Зерттеу нысаны: гендер, олардың экспрессия өнімдері және молекулалық өзара әрекеттесу желілері.

Негізгі міндеттері:

- Гендердің биологиялық қызметін анықтау.
- Ген экспрессиясының реттелу механизмдерін сипаттау.
- Гендер мен олардың өнімдері арасындағы функционалдық байланыстарды зерттеу.
- Ген белсенділігінің өзгеруі жасуша қызметі мен фенотипке қалай әсер ететінін анықтау.

Негізгі тәсілдері: ген экспрессиясын омикалық әдістермен талдау және ген белсенділігін тәжірибелік өзгерту арқылы оның қызметін бағалау.

Генетикалық ақпараттың жүзеге асуы

Генетикалық ақпараттың қызметтік нәтижесі ***гендердің транскрипциясы, РНҚ-ның өңделуі, ақуыздардың синтезі және метаболизмдік реакциялар*** арқылы қалыптасады. Бұл үдерістердің өзара байланысы жасушаның құрылымы мен қызметін қамтамасыз етеді.

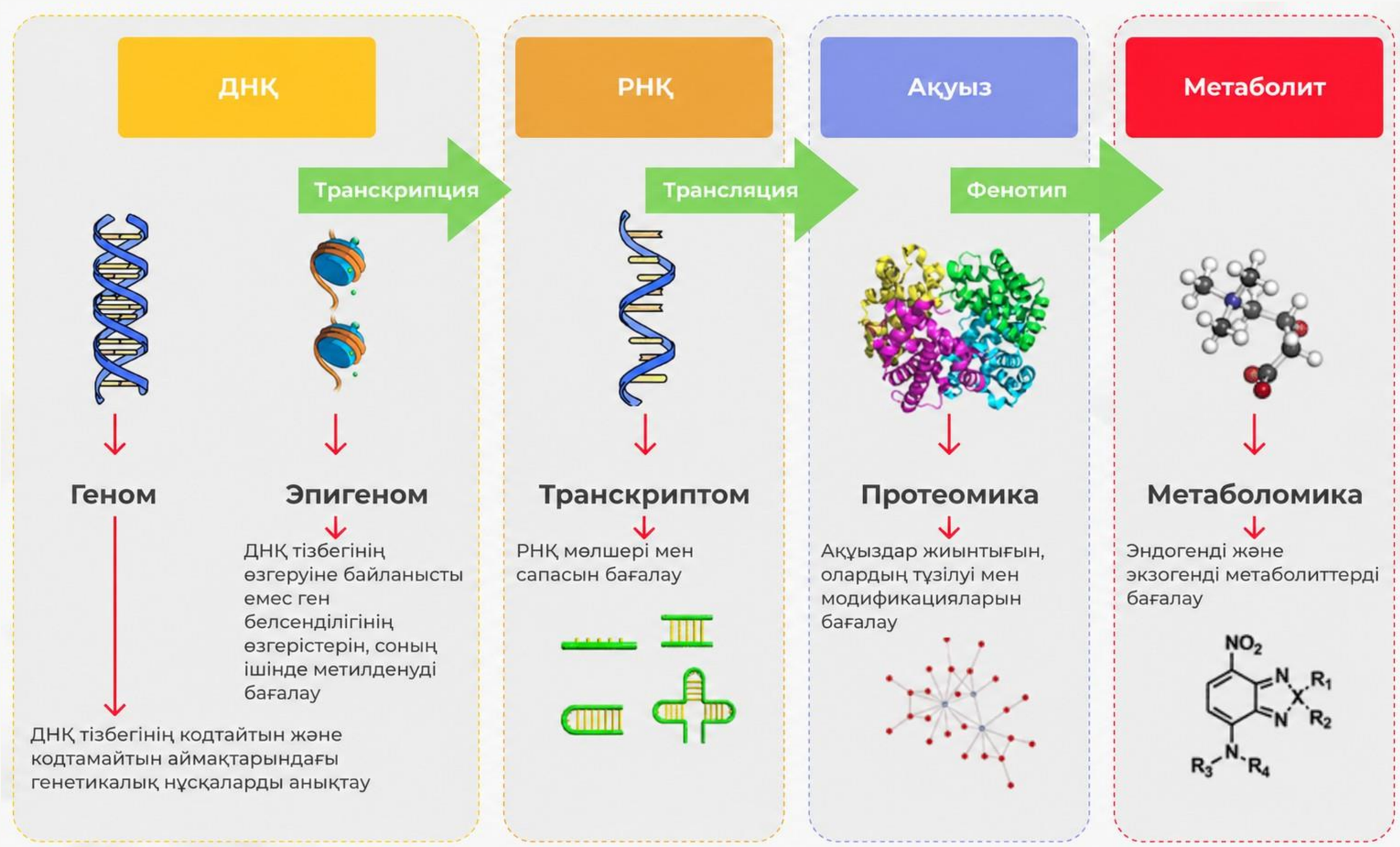
Омикалық деңгей	**Зерттеу нысаны**	**Негізгі әдістері**	**Функционалдық маңызы**
Геном	Кодтаушы және реттеуші ДНҚ аймақтары; нуклеотидтік және құрылымдық нұсқалар.	Толық геномды және экзомды секвенирлеу (WGS, WES), генотиптеу.	Генетикалық әлеуетті және ген қызметіне ықпал ететін нұсқаларды анықтайды; геннің нақты белсенділігін көрсетпейді.
Транскриптом	мРНҚ, кодтамайтын РНҚ және альтернативті сплайсинг нәтижесінде түзілетін транскрипт изоформалары.	RNA-seq, бір жасушалық және кеңістіктік транскриптомика, RT-qPCR.	Ген экспрессиясы мен транскрипт құрамының өзгерістерін анықтайды; РНҚ мөлшері ақуыз мөлшеріне әрдайым сәйкес келмейді.
Протеом	Ақуыздар, олардың мөлшері, посттрансляциялық модификациялары және өзара әрекеттесулері.	LC–MS/MS, сандық протеомика, фосфопротеомика.	Жасушаның қызметтік күйін сипаттайды; ақуыз белсенділігі оның мөлшеріне, модификациясына және орналасуына тәуелді.
Метаболом	Аминқышқылдары, қанттар, липидтер және басқа төмен молекулалы метаболиттер.	LC–MS, GC–MS, ядролық магниттік резонанс (ЯМР).	Метаболизмдік күйді және генетикалық әрі сыртқы орта әсерлерінің нәтижесін көрсетеді; метаболит мөлшері реакция ағынына тең емес.

Омикалық деңгейлердің өзара байланысы

Транскриптом, протеом және метаболом жасушаның функционалдық күйін сипаттайтын өзара тәуелді молекулалық жүйелерді құрайды. Олардың арасындағы байланыс ***көпдеңгейлі реттелу және кері байланыс механизмдері*** арқылы қамтамасыз етіледі.

- **Транскриптом–протеом байланысы:** мРНҚ мөлшерінің ақуыз мөлшеріне сәйкестігі трансляция тиімділігіне, РНҚ мен ақуыздардың тұрақтылығына тәуелді.
- **Протеом–метаболом байланысы:** ферменттердің белсенділігі, посттрансляциялық модификациялары және субстраттардың қолжетімділігі метаболизмдік реакциялардың қарқынын анықтайды.
- **Метаболизмдік кері байланыс:** метаболиттер ферменттер белсенділігін, сигналдық жолдарды және эпигенетикалық механизмдер арқылы ген экспрессиясын реттеуге қатысады.

Мультиомикалық талдау осы деңгейлердегі өзгерістерді біріктіріп, жасушалық фенотиптің молекулалық негізін анықтауға мүмкіндік береді. Анықталған байланыстардың себеп-салдарлық сипаты функционалдық тәжірибелермен расталады.



Сурет - Омикалық деңгейлердің өзара байланысы: геномнан метаболомға дейін

Транскриптомика

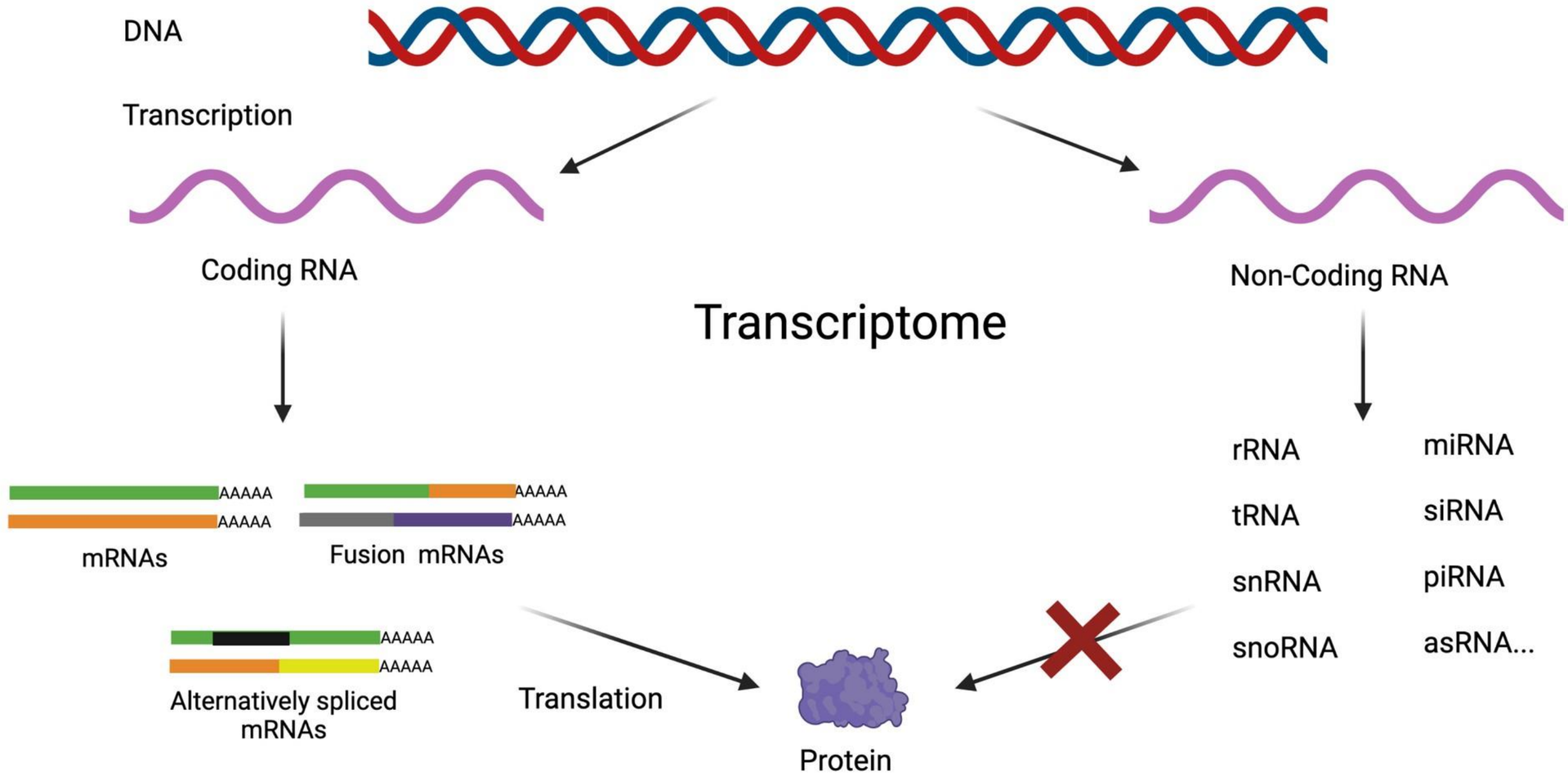
Транскриптомика - белгілі бір уақытта және нақты биологиялық жағдайда жасушада немесе ұлпада болатын РНҚ молекулаларының құрамын, мөлшерін және құрылымдық ерекшеліктерін кешенді зерттейтін бағыт.

Транскриптомның негізгі құрамдастары:

- **Матрицалық РНҚ (мРНҚ)** - ақуыз синтезіне ақпараттық негіз болатын транскрипттер.
- **Кодтамайтын РНҚ** - трансляцияға, РНҚ өңделуіне және ген экспрессиясының реттелуіне қатысатын рРНҚ, тРНҚ, микроРНҚ және ұзын кодтамайтын РНҚ.
- **Транскрипт изоформалары**- альтернативті сплайсинг, транскрипцияның басталу және полиаденилдену орындарының өзгеруі нәтижесінде бір геннен түзілетін РНҚ нұсқалары.

Негізгі зерттеу міндеттері: экспрессияланатын гендерді анықтау, олардың РНҚ деңгейін сандық бағалау, дифференциалды экспрессияны және транскрипт изоформаларының өзгерістерін талдау.

Биологиялық ерекшелігі: транскриптом жасуша типіне, даму кезеңіне және сыртқы әсерлерге тәуелді өзгереді. Сондықтан оны зерттеу жасушалардың мамандануын және физиологиялық не патологиялық жағдайларға молекулалық жауабын сипаттауға мүмкіндік береді.



Сурет - Транскриптомның құрамы: ақуыз кодтайтын және кодтамайтын РНҚ түрлері

Транскриптомиканың негізгі зерттеу әдістері

Әдіс	Жұмыс істеу қағидасы	Мүмкіндігі мен шектеуі
Кері транскрипциялы сандық ПТР (RT-qPCR)	РНҚ-дан комплементарлы ДНҚ (кДНҚ) синтезделіп, нысаналы тізбектің амплификациясы флуоресценция арқылы бақыланады.	Таңдалған гендердің экспрессиясын сезімтал бағалайды; транскриптомды толық қамтымайды.
ДНҚ микроматрицалары	Таңбаланған кДНҚ немесе кРНҚ матрицадағы комплементарлы зондтармен гибридтенеді.	Мыңдаған белгілі транскриптті қатар салыстырады; жаңа транскрипттерді анықтау мүмкіндігі шектеулі.
РНҚ секвенирлеу (RNA-seq)	РНҚ негізінде дайындалған кітапхана секвенирленіп, оқылымдар геномнен немесе транскриптоммен салыстырылады.	Ген экспрессиясын, сплайсингті және жаңа транскрипттерді зерттейді; нәтижесі кітапхана түрі мен секвенирлеу тереңдігіне тәуелді.
Бір жасушалық RNA-seq (scRNA-seq)	Жеке жасушалардың транскрипттері молекулалық штрихкодтар арқылы ажыратылады.	Жасушалық әртектілікті және сирек популяцияларды анықтайды; мөлшері төмен транскрипттер толық тіркелмеуі мүмкін.
Кеңістіктік транскриптомика	РНҚ туралы ақпарат ұлпадағы кеңістіктік координаттармен байланыстырылады.	Ген экспрессиясын ұлпа құрылымымен байланыстырады; ажыратымдылығы қолданылатын платформаға тәуелді.

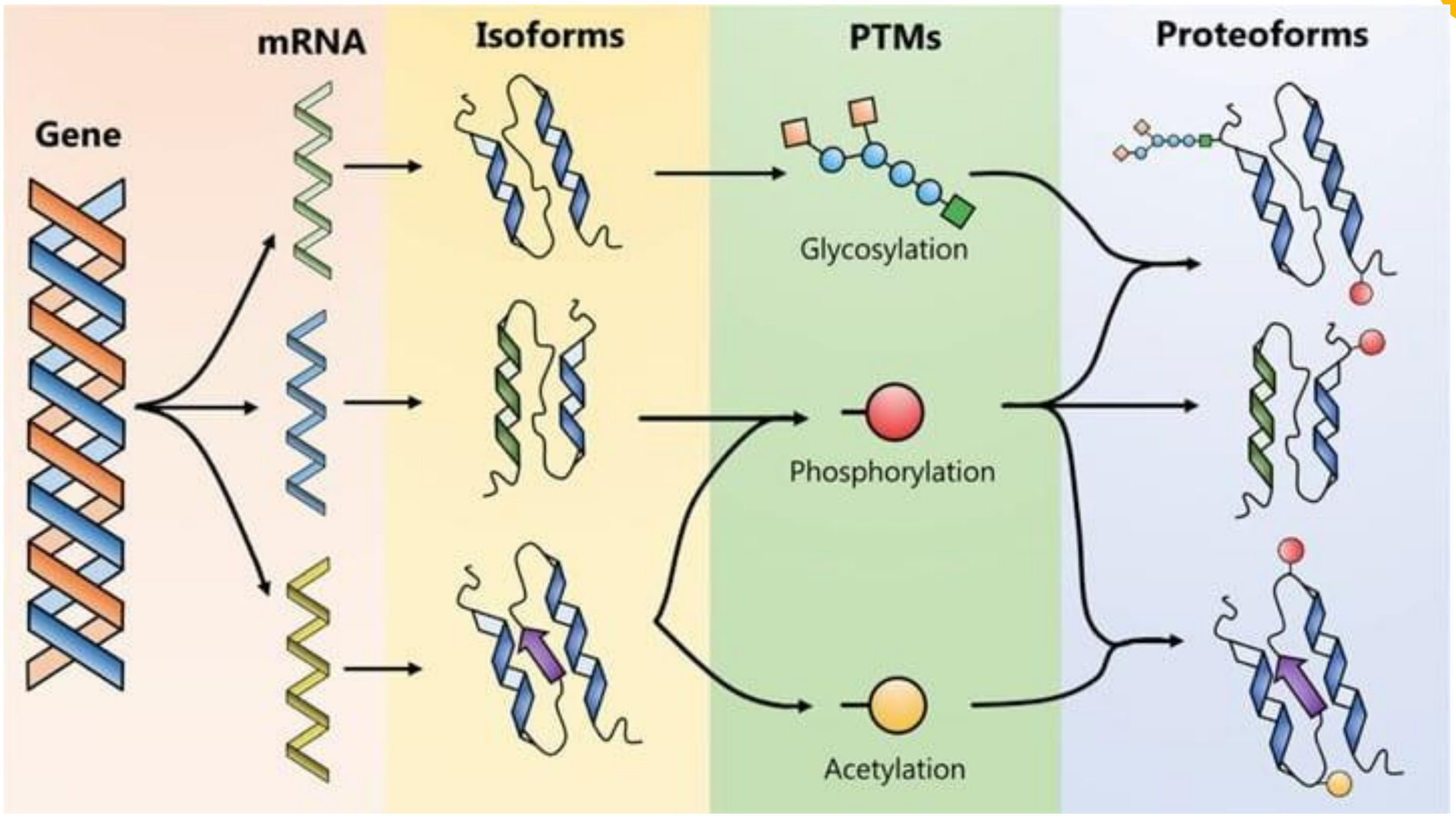
Протеомика

Протеомика - белгілі бір жағдайда жасушада, ұлпада немесе биологиялық сұйықтықта болатын ақуыздардың құрамын, мөлшерін, молекулалық ерекшеліктері мен өзара әрекеттесуін кешенді зерттейтін бағыт.

Негізгі зерттеу бағыттары:

- **Ақуыздарды сәйкестендіру және сандық бағалау** - ақуыздық құрамды анықтау және әртүрлі жағдайлардағы мөлшерлік өзгерістерді салыстыру.
- **Протеоформаларды сипаттау** - генетикалық нұсқалар, альтернативті сплайсинг және посттрансляциялық модификациялар нәтижесінде түзілетін ақуыз түрлерін зерттеу.
- **Посттрансляциялық модификацияларды талдау** - фосфорлану, гликозилдену және ацетилденудің ақуыз белсенділігіне, тұрақтылығына және орналасуына әсерін бағалау.
- **Ақуыздардың өзара әрекеттесуін зерттеу** - ақуыз кешендері мен сигналдық желілердің құрамын және ұйымдасуын анықтау.

Протеомның ерекшелігі: оның құрамы жасуша типіне, физиологиялық күйіне және сыртқы әсерлерге байланысты өзгереді. Ақуыздың мөлшері оның белсенділігін толық сипаттамайды; қызметі модификацияларына, жасушаішілік орналасуына және байланыс серіктестеріне тәуелді.



Сурет - Альтернативті сплайсинг және посттрансляциялық модификациялар нәтижесінде протеоформалардың түзілуі

Протеомиканың негізгі зерттеу әдістері

Әдіс	Жұмыс істеу қағидасы	Зерттеу мүмкіндігі
Екіөлшемді гель-электрофорез (2D-PAGE)	Ақуыздар алдымен изоэлектрлік нүктесі, кейін молекулалық массасы бойынша бөлінеді.	Ақуыздық профильдерді салыстыру; мөлшері төмен және гидрофобты ақуыздарды анықтауы шектеулі.
Сұйықтық хроматографиясы–тандемді масс-спектрометрия (LC–MS/MS)	Пептидтер хроматографиямен бөлініп, масса/заряд қатынасы және фрагментациялық спектрлері бойынша талданады.	Күрделі үлгілердегі ақуыздарды сәйкестендіру, мөлшерін және модификацияларын бағалау.
Сандық протеомика: LFQ, SILAC, TMT	Ақуыздар мен пептидтердің мөлшері таңбасыз немесе изотоптық таңбалау арқылы салыстырылады.	Топтар арасындағы ақуыз мөлшерінің өзгерістерін анықтау; SILAC көбіне жасуша дақылдарында қолданылады.
Модификацияға бағытталған протеомика	Модификацияланған пептидтер байытылып, LC–MS/MS арқылы зерттеледі.	Фосфорлану, гликозилдену және басқа модификациялардың орындары мен өзгерістерін анықтау.
Аффиндік тазарту–масс-спектрометрия (AP–MS)	Нысаналы ақуыз онымен байланысқан ақуыздармен бірге бөлініп, масс-спектрометриямен сәйкестендіріледі.	Ақуыз кешендерінің құрамын анықтау; тікелей және жанама байланыстарды ажырату үшін қосымша тексеру қажет.

Метаболомика

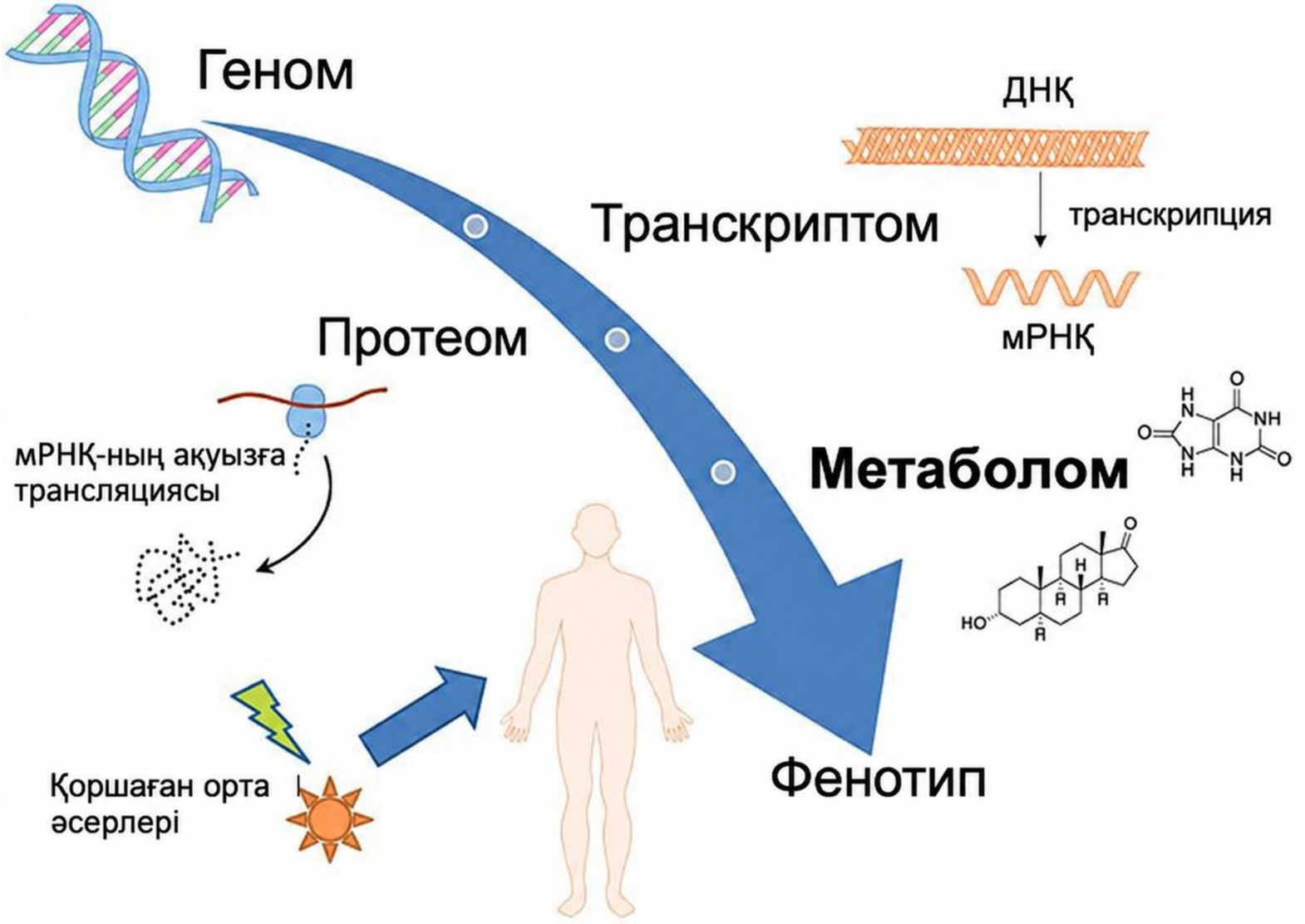
Метаболомика - белгілі бір жағдайда жасушада, ұлпада немесе биологиялық сұйықтықта болатын төмен молекулалы қосылыстардың құрамын, мөлшерін және өзгерістерін кешенді зерттейтін бағыт.

Метаболомның негізгі құрамдастары: аминқышқылдары, қанттар, органикалық қышқылдар, нуклеотидтер, липидтер және олардың туындылары. Бұл қосылыстар метаболизмдік реакциялардың субстраттары, аралық және соңғы өнімдері ретінде қызмет етеді.

Негізгі зерттеу бағыттары:

- **Метаболиттерді сәйкестендіру және сандық бағалау -** үлгінің метаболизмдік профилін анықтау.
- **Метаболизмдік жолдардағы өзгерістерді талдау** - энергия алмасу, биосинтез және ыдырау үдерістерінің ерекшеліктерін сипаттау.
- **Биологиялық жағдайларды салыстыру** - даму, ауру немесе сыртқы әсерлерге байланысты метаболизмдік айырмашылықтарды анықтау.

Метаболомның ерекшелігі: оның құрамы ген экспрессиясы мен ферменттер белсенділігіне, қоректік заттарға және орта жағдайларына тәуелді. Метаболит концентрациясы оның түзілуі, жұмсалуы және тасымалдануының арақатынасын көрсетеді; метаболизмдік ағынды тікелей сипаттамайды.



Сурет - Геном, транскриптом, протеом және метаболомның өзара байланысы және қоршаған орта факторларының фенотиптің қалыптасуына әсері

Метаболомиканың негізгі зерттеу әдістері

Әдіс	Жұмыс істеу қағидасы	Мүмкіндігі мен шектеуі
Сұйықтық хроматографиясы–масс-спектрометрия (LC–MS)	Метаболиттер хроматографиямен бөлініп, иондарының масса/заряд қатынасы және фрагментациялық спектрлері бойынша талданады.	Полярлы қосылыстардан липидтерге дейін кең ауқымды қамтиды; нәтижеге иондану тиімділігі мен үлгі матрицасы әсер етеді.
Газ хроматографиясы–масс-спектрометрия (GC–MS)	Ұшқыш және термиялық тұрақты қосылыстар газ фазасында бөлініп, масс-спектрлері тіркеледі.	Органикалық қышқылдарды, қанттар мен аминқышқылдарын зерттейді; көптеген метаболиттер алдын ала химиялық туындыландыруды қажет етеді.
Ядролық магниттік резонанс (ЯМР)	Магнит өрісіндегі атом ядроларының резонанстық сигналдары арқылы молекулалардың құрылымы мен мөлшері бағаланады.	Қайталанғыштығы жоғары, үлгіні бұзбайды; сезімталдығы масс-спектрометриядан төмен.

Ғылыми және медициналық қолданылуы

Функционалды геномика және омикалық технологиялар молекулалық өзгерістерді жасуша қызметімен байланыстырып, ауру механизмдерін зерттеуге және диагностикалық тәсілдерді дамытуға мүмкіндік береді.

Қолданылу бағыты	Ғылыми және медициналық маңызы
Ауру механизмдерін анықтау	Ген экспрессиясы, ақуыз белсенділігі және метаболизмдік жолдардағы өзгерістерді талдау арқылы патогенезге қатысатын молекулалық үдерістерді сипаттау.
Биомаркерлерді іздеу	Диагнозды нақтылауға, ауру ағымын болжауға және емге жауапты бағалауға арналған РНҚ, ақуыз және метаболиттік көрсеткіштерді анықтау.
Дәрілік нысаналарды анықтау	Ауруға қатысатын гендер мен ақуыздарды іріктеу; олардың қызметтік маңызын ген белсенділігін өзгерту тәжірибелерімен тексеру.
Дербестендірілген медицина	Науқастарды молекулалық ерекшеліктеріне қарай топтастыру және емге сезімталдығын болжау арқылы терапияны таңдауды негіздеу.
Репродуктивті биология	Гаметалардың жетілуі, эмбрион дамуы және эндометрий қызметінің молекулалық механизмдерін зерттеу; репродуктивті бұзылыстарға қатысты кандидаттық маркерлерді анықтау.

Қорытынды

Функционалды геномика гендердің қызметін, олардың реттелуін және фенотиптің қалыптасуына қатысуын кешенді зерттейді. Транскриптомика РНҚ құрамы мен ген экспрессиясын, протеомика ақуыздардың мөлшері мен қызметтік ерекшеліктерін, ал метаболомика жасушаның метаболизмдік күйін сипаттайды.

Бұл деңгейлердегі өзгерістер әрдайым тікелей сәйкес келмейтіндіктен, ***омикалық деректерді біріктіру биологиялық үдерістердің молекулалық негізін түсіндіру үшін маңызды***. Мұндай тәсіл ауру механизмдерін зерттеуге, биомаркерлер мен дәрілік нысаналарды анықтауға және дербестендірілген медицинаны дамытуға негіз болады. Алынған нәтижелердің сенімділігі тәуелсіз зерттеулермен және функционалдық тәжірибелермен расталуы қажет.

Өзін-өзі тексеруге арналған

1. Функционалды геномика дегеніміз не және оның негізгі зерттеу міндеттері қандай?
2. Құрылымдық және функционалды геномиканың айырмашылығы неде?
3. Транскриптом дегеніміз не және ол қандай молекулалардан тұрады?
4. RNA-seq технологиясының негізгі принципі қандай?
5. Протеомика ғылымы нені зерттейді?
6. Масс-спектрометрия ақуыздарды анықтау мен талдауда қалай қолданылады?
7. Метаболомика дегеніміз не және оның зерттеу объектілері қандай?
8. Транскриптомдық және протеомдық деректер не себепті әрдайым бір-біріне сәйкес келе бермейді?
9. Мультиомика ұғымын түсіндіріңіз және оның негізгі артықшылықтарын сипаттаңыз.

Пайдаланылған әдебиеттер тізімі

1. Берсімбаев Р. І. Молекулалық биология. – Алматы: Қазақ университеті, 2016.
2. Льюин Б. Гены. – М.: Бином. Лаборатория знаний, 2012.
3. Уилсон К., Уолкер Дж. Принципы и методы биохимии и молекулярной биологии. – Лаборатория знаний, 2021.

Ғаламтор ресурстары

4. http://molbiol.ru/