

GENSKE MIKROMREŽE

Radovan Komel

Medicinska fakulteta Univerze v Ljubljani

Uvod

Z objavo nukleotidnega zaporedja človeškega genoma v znanstvenih revijah *Science* in *Nature* se je začelo obdobje tako imenovane funkcijske genomike, ko bo potrebno raziskati vseh 35.000 – 40.000 človeških genov in ugotoviti njihovo vlogo oz. vlogo njihovih proteinskih produktov v življenju celice. Za družbo večkrat slišimo, da je vstopila v 'postgenomsko obdobje', ki ga bodo zaznamovali že omenjena nova spoznanja v genomiki in v z njo povezani biotehnologiji, nanotehnologiji in novi materiali ter skokovit napredek računalništva in informatike. Če smo do sedaj v biokemiji, biologiji in z njima povezanimi biotehnološkimi in biomedicinskimi vedami preučevali posamezne fenomene in nato spoznanja povezovali, je za funkcijsko genomiko in njeno 'mlajšo sestro' sistemsko biologijo značilno, da celico obravnava kot sistem sočasnosti in prepletenosti tisočerih molekul in dogodkov, ter da v preučevanju zapletenih mrež soodvisnosti išče vzorce, značilne za trenutno fiziološko oziroma patofiziološko stanje celice, kot tudi ključne molekulske igralce, ki so nekakšne 'kretnice' pri celičnih odločitvah in njihovemu usmerjanju.

Orodja funkcijske genomike

Ker celico obravnavamo kot sistem molekul in njihovih interakcij, so se vede za njihovo preučevanje razvile v številne '-omike'. Tako transkriptomika obravnava celični transkriptom, ki ocenjuje kvantiteto in vrsto vseh v preučevanih razmerah navzočih mRNA. Proteomika obravnava celični proteom, prav tako kvantiteto in vrsto vseh navzočih proteinov, pa tudi njihove medsebojne interakcije. Njena spoznanja razširja strukturna biokemija, ki preučuje trodimenzionalno zgradbo proteinov in njene posledice za njihovo delovanje in aktivnost. Metabolomika se ukvarja s celičnim metabolomom, kvantitativno navzočnostjo celičnih metabolitov, njihovimi interakcijami in interakcijami s celičnimi komponentami. Vse skupaj pa povezuje sistemska biologija, odločno podprta z bioinformatiko, ki naj bi ponudila globalna spoznanja o medsebojni prepletenosti celičnih molekul v preiskovanih fizioloških razmerah.

Mikromreže

Mikromreže ali bio-čipi so majhne steklene ali silikonske ploščice, običajno velike kot mikroskopsko objektno stekelce, na katere nanesimo na tisoče gensko-specifičnih sond, in nam zato omogočajo globalno preučevanje transkriptomov, v primeru protienskih bio-čipov pa tudi proteomov. Gensko-specifična sonda je krajša enoverižna molekula DNA, komplemetarna delu nukleotidnega zaporedja preiskovanega gena; lahko gre za umetno sintetiziran 70 bp dolg oligonukleotid ali pa za nekoliko daljšo cDNA, ki jo pridobimo z verižnim pomnoževanjem (PCR) omenjenega odseka gena. V točko na omenjeni podlogi, ki ni dosti večja od enega mikrona, vežemo nekaj sto ali tisoč molekul omenjene sonde, nato na sosednjo točko enako količino molekul sonde nekega drugega gena, in tako naprej. Tako v primeru visokogostotnih bio-čipov na en čip vežemo tudi do 20.000 različnih gensko-specifičnih sond, v primeru nizkogostotnih bio-čipov pa do nekaj tisoč gensko-specifičnih sond.

Iz bolnega (npr. malignega) tkiva izoliramo vse mRNA, kjer je količina posamezne vrste mRNA odraz intenzivnosti izražanja njenega gena. Isto naredimo iz okolnega zdravega tkiva. RNA iz patološkega tkiva označimo z zelenim fluorescenčnim barvilom, tiste iz zdravega tkiva pa z rdečim barvilom. Z obema populacijama preplavimo bio-čip in vsaka molekula ene vrste mRNA iz patološkega tkiva bo tekmovala s tistimi iz zdravega tkiva za vezavo na molekule svoje gensko-specifične sonde, ki so pritrjene na bio-čipu. Če bo specifičnih mRNA iz patološkega tkiva več, se bo točka na bio-čipu obarvala bolj zeleno, in obratno, v primeru, da jih bo manj, bo obarvanje bolj rdeče. V primeru enakega izražanja omenjenega gena bo točka obarvana rumeno.

Celoten bio-čip po opravljenem poskusu izgleda kot mreža rdeče, zeleno in rumeno obarvanih pik, ki za vsak gen posebej povedo način oziroma intenziteto njegovega izražanja v patološkem oziroma zdravem tkivu, skupaj pa dajo nekakšen pikčast vzorec, ki si ga lahko zamislimo kot 'prstni odtis' preučevanega fiziološkega stanja celice. Če z bioinformacijskimi posegi točke razvrstimo po funkcijskih vlogah, celičnem položaju ali strukturnih družinah genov, lahko celo pridobimo bolj izrazito podobo, ki neko fiziološko stanje razlikuje od nekega drugega stanja celice.

Onkogeneza

Vemo, da je v nastanek raka vpletenih večje število onkogenov in proti-onkogenov. Onkogeni se značilno povečano izražajo ali pa so njihovi proteinski produkti preveč aktivni, medtem ko je za proti-onkogene v malignosti značilno, da njihovo izražanje upade ali pa je celo odsotno. Preučevanje posameznih genov raka je redko pripeljalo do zadovoljivih spoznanj o mehanizmu nastajanja in napredovanja bolezni, saj so nam iz eksperimenta ušli številni drugi geni, ki so odgovorni, da celico privedejo v stanje, ko napake v onkogenih in odpovedi proti-onkogenov usodno posežejo v njeno fiziologijo.

Mikromreže v nasprotju s tem omogočajo vpogled v celovitost izražanja genov in lahko dajo informacijo o nagnjenosti k bolezni že v predrakastih stanjih, o obliki in stanju že nastale bolezni, kot tudi o težnjah oziroma oblikah njenega napredovanja. To so seveda želje, ki jih bo napredek v raziskavah iz funkcijske genomike morda že zelo kmalu udejanjil in mikromreže zdravniku lahko ponudil kot dobro diagnostično in prognostično orodje. Ker je rak sistemska in v veliki meri tudi individualna bolezen, bodo mikromreže verjetno posegle tudi na področje tako imenovane 'osebne medicine'. S preučevanjem sočasnosti in prepletenosti molekularnih dogodkov bomo morda že v bližnji prihodnosti lahko prepoznali molekularna križišča oziroma ključne igralce v onkogenezi in razvijali zdravila s tarčnim delovanjem nanje, brez nepotrebnih stranskih učinkov na druge proteine celice in organizma. Taka zdravila razvijajo že danes in jih poznamo kot 'biološka zdravila'.

Viri in literatura

1. M. Schena: *Microarray Analysis*. Wiley-Liss Inc., Hoboken, New Jersey, 2003.
2. A.D. Baxevanis, B.F.F. Ouellette: *Bioinformatics*. Wiley-Interscience, New York, 2001.
3. F.Macdonald, C.H.J. Ford, A.G. Casson: *Molecular Biology of Cancer*. BIOS Scientific Publishers, London, New York, 2004.