



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



Дәріс 3.

Функционалды геномика.

Транскриптомика, протеомика және метаболомика.

Лектор: к.б.н., Алтыбаева Н.А.

Дәрістің мақсаты:

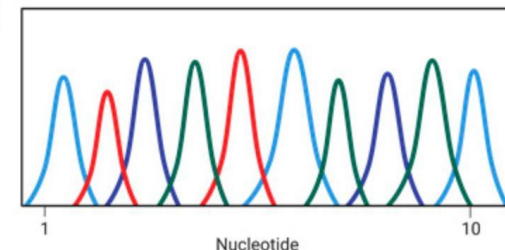
Функционалды геномиканың мазмұнын ашу, жасушадағы транскриптом, протеом және метаболом деңгейлерін талдау әдістерімен таныстыру, олардың биотехнология мен медициналық зерттеулердегі маңызын көрсету.

Қарастырылатын сұрақтар:

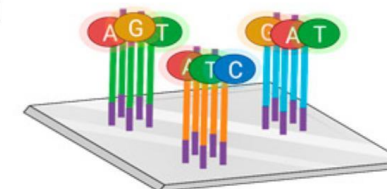
1. Функционалды геномика ұғымы және оның бағыттары.
2. Транскриптомика: РНҚ экспрессиясын зерттеу әдістері.
3. Протеомика және ақуыз деңгейіндегі зерттеулер.
4. Метаболомика және метаболиттерді талдау.
5. Олардың интеграциялық маңызы (multi-omics).

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

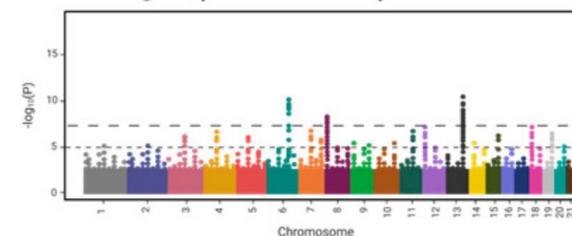
Sequence based approach

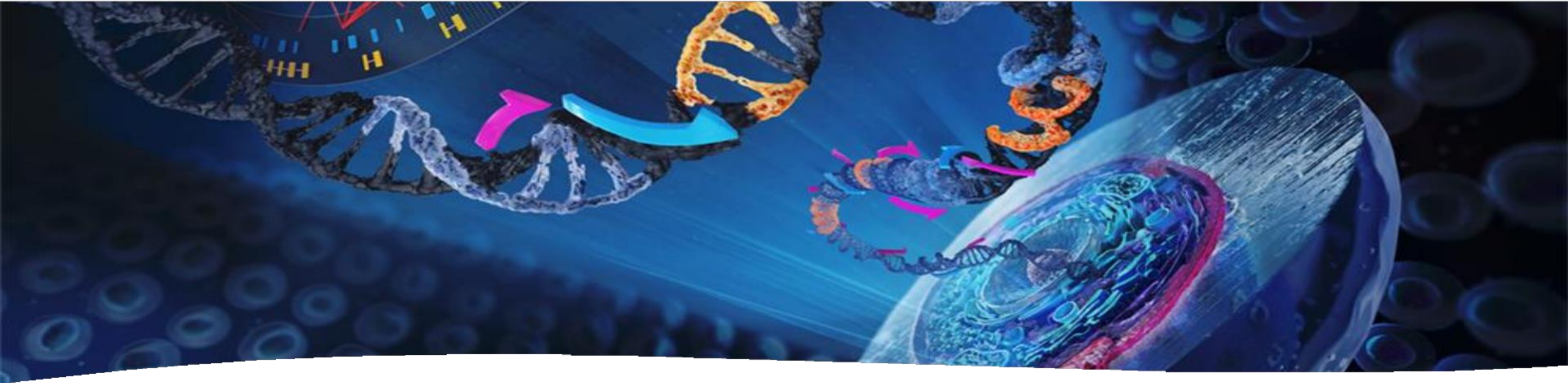


Hybridization based approach



Genome-wide association study (GWAS)





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.

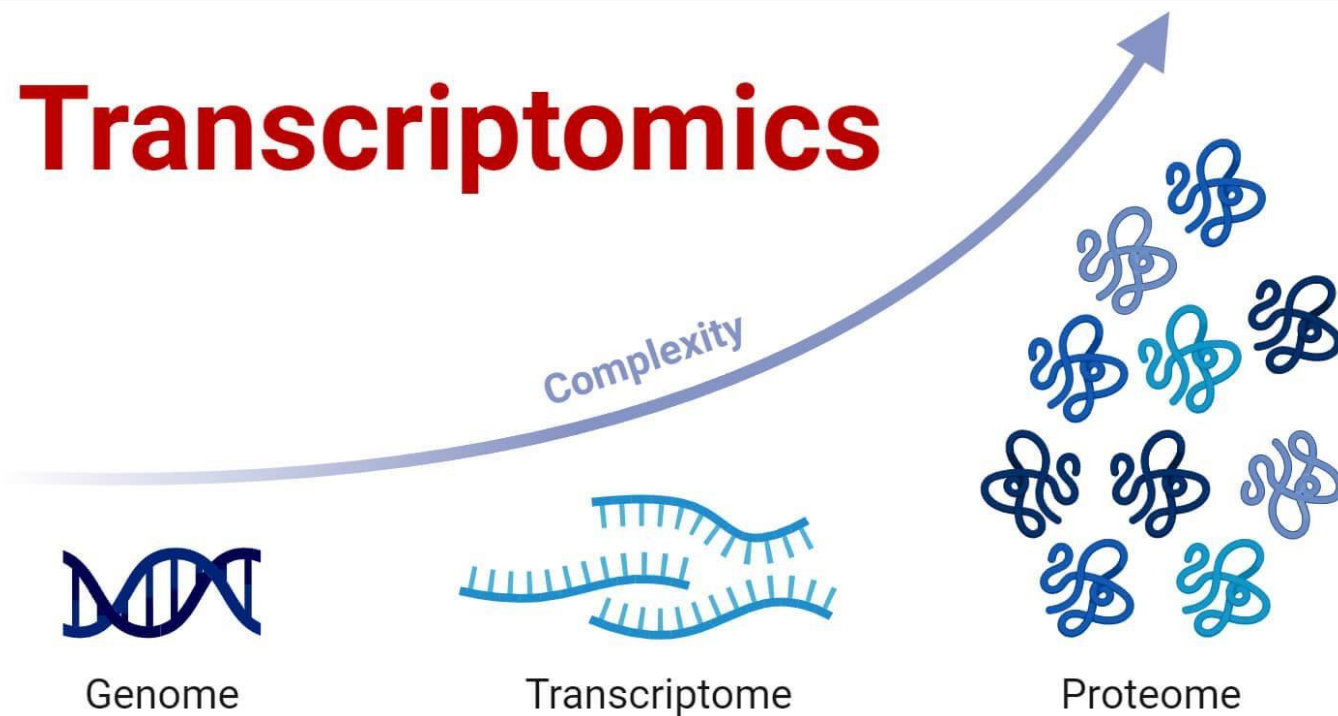
Бұл бағыт **адам геномы жобасынан (Human Genome Project)** кейінгі ең маңызды ғылыми кезең ретінде қарастырылады, себебі ол генетикалық ақпараттың нақты биологиялық мәнін ашады.

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.

Transcriptomics



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 полА-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 эффекттеріне 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 шаблон, нақты-уақытты детекция (SYBR Green немесе TaqMan).

Дизайны: праймер ұзындығы 18–24 nt, $T_m \approx 60^\circ\text{C}$, праймерлер арасында 100–200 bp ампликон.

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

Кванттау: $\Delta\Delta C_t$ 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, РТМ-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, детердженттер), 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 интенсивтетті иондарды таңдап, оларды фрагментациялайды — идентификация үшін қолайлы.

DIA: кең диапазонда иондарды фрагменттеп, кванттауды жақсарты 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.

Бақылау сұрақтары:

1. Функционалды геномика нені зерттейді?
2. Транскриптомика мен протеомиканың айырмашылығы неде?
3. Метаболомикалық талдау неліктен маңызды?
4. «Омикс» ғылымдарының интеграциясы қандай артықшылық береді?

Қолданылған әдебиеттер

1. Lodish, H., Berk, A., Kaiser, C. A., Krieger, M., et al. Molecular Cell Biology. 9th ed. W.H. Freeman, 2021.
2. Ghosh, D. Functional Genomics and Proteomics: Methods and Protocols. 2nd ed. Springer, 2018. ISBN 978-1493988970.
3. Lesk, A. M. Introduction to Genomics. 3rd ed. Oxford University Press, 2017. ISBN 978-0198754831.
4. Aebersold, R., Mann, M. Mass-spectrometric exploration of proteome structure and function. *Nature*, 537(7620):347–355, 2016. DOI: 10.1038/nature19949. 5. Nicholson, J. K., Lindon, J. C. Systems biology: Metabonomics. *Nature*, 455(7216):1054–1056, 2008. DOI: 10.1038/4551054a.