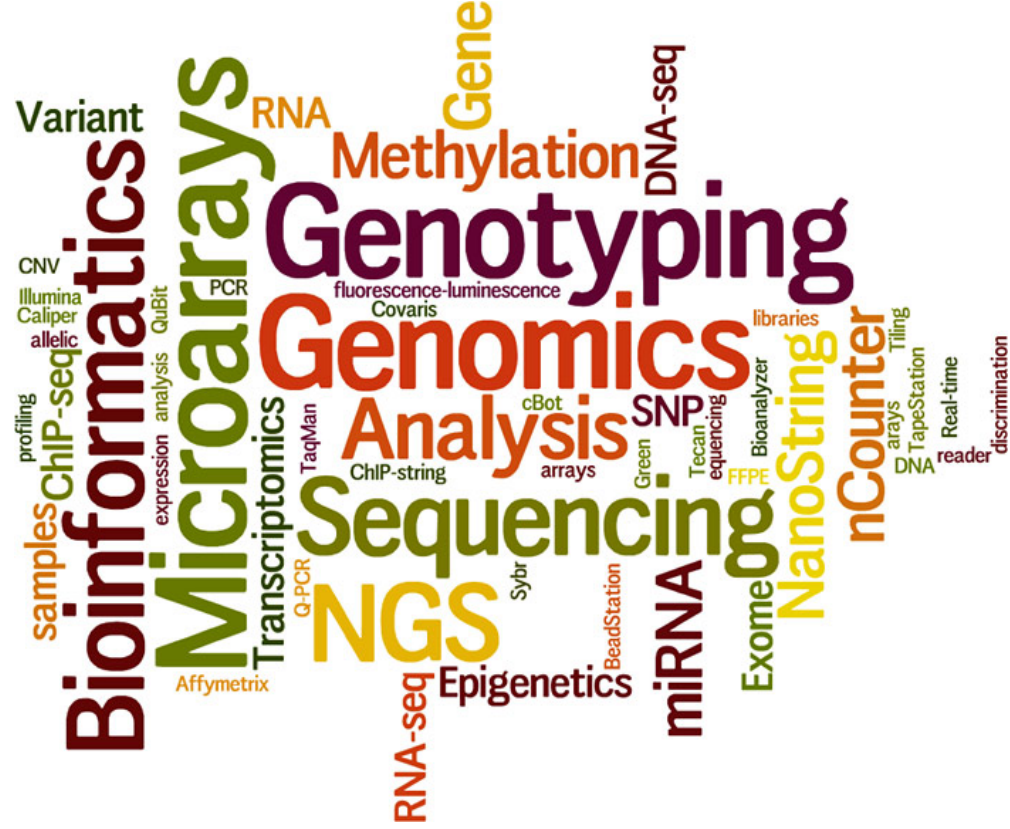


GENOMİK ve ÖTESİ



Genom terimi

- Genom terimi ilk olarak Alman Botanikçi Hans Winkler (1920) tarafından ortaya atılmıştır.
- Bu araştırmacıya göre genom, tüm haploit kromozom seti içindeki gen topluluğudur.

Genom terimi

- Günümüzde bu terim, haploit kromozom setindeki tüm DNA'yı içine alacak şekilde genişletilmiştir.
- Daha sonra fare genetikçisi Thomas Roderick, bu terimi;
 - Genomun haritalanması
 - Sekanslanması ve
 - Karakterizasyonuiçin kullanmıştır.

Diğer terimler

- Fonksiyonel genomik: Gen fonksiyon analizi için çeşitli sistematik yaklaşımların kullanımı
- Transkriptomik: mRNA'nın geniş ölçekli analizi
- Proteomik: Proteinlerin geniş kapsamlı analizi (ekspresyon profilleri, protein etkileşimleri, protein yapıları)

Proteomik neden önemlidir?

- Moleküler tıp için önemli bir unsurdur.
- Birçok ilacın hedefi proteinlerdir.

Genomik-Biyoinformatik ilişkisi

- Bugünlerde yüzlerce farklı organizmanın genomu analiz edilmektedir.
- Genomik bilimi, DNA dizi analizi ve protein veri kullanımını kapsayan biyoinformatik ile yakından ilişkilidir.

Genomün amaçları

- Hem ifade edilen gen dizilerini hem de gen olmayan bölgeleri incelemek
- Farklı şartlar altında nesilden nesle transkripsiyon ve translasyon profillerini incelemek
- Tüm gen bölgelerini tanımlamak ve genom içinde sıralamak

Genomğin amaçları

- Gen işlev ve regülasyonunu incelemek (işlevsel genomik)
- Genomdaki proteinlerin kimliği, işlevleri ve protein-protein etkileşimlerini incelemek (proteomik)
- Türler arası genom farklılıklarını incelemek

Harita tipleri

- Genetik haritalar
- Sitogenetik haritalar
- Fiziksel haritalar

Genetik haritalar

- 1911'de Thomas Hunt Morgan'ın *Drosophila* ile yaptığı çalışmalarda, krossing-over sıklığı ile genler arasındaki uzaklığın bağlantılı olduğu tespit edilmiştir.
- İlk genetik haritalama, Morgan'ın öğrencisi Alfred Sturtevant tarafından geliştirilmiştir.
- Sturtevant'a göre, bağlantılı iki gen arasındaki mesafe ne kadar fazla ise krossing-over gerçekleşme ihtimali o kadar yüksektir.

Genetik haritalar

- Sturtevant, rekombinasyon frekanslarını hesaplayarak genler arasındaki uzaklığı ölçmenin mümkün olduğunu belirtmiştir.
- Genetik haritalama 1950'lere kadar pratikte uygulanamamıştır.
- 1980'lerde RFLP tekniğinin ortaya çıkmasıyla kromozomal haritalar oluşturulmaya başlanmıştır.

Genetik haritalar

- 1990'ların ortalarında istatistiksel analiz yöntemlerinin gelişmesi ile tüm genomun genetik haritası oluşturulmaya başlanmıştır.
- Bu haritalar güncellenip geliştirilerek internet ortamına aktarılmaya başlanmıştır.

Genetik haritalamanın temel kuralları

- Genetik haritalama, genlerin yerleşimleri ve fonksiyonları arasında bağlantı kurmak için kullanılan istatistiksel bir yöntemdir.
- Genetik haritalamanın iki temel kuralı vardır:
 - Rekombinasyon bu tekniğin temelini oluşturur.
 - Kromozom üzerindeki komşu genler, sonraki nesillere birlikte aktarılır.

Genetik haritalamanın temel kuralları

- Genetik haritalama, genlerin kromozomlar üzerindeki yerlerini tespit edebilmek için;
 - Moleküler biyolojik yöntemler ve
 - Karmaşık istatistiksel analizleribirlikte kullanır.
- Böylelikle genetik hastalıklardan sorumlu genlerin yerlerinin saptanması mümkün olabilir.

Marker (genetik belirleyici) kullanımı

- Genetik haritalama tekniğinde, lokalisasyonu araştırılan gen ile lokalisasyonu bilinen genetik belirleyicinin (marker) kuşaklar arasında birlikte kalıtımı test edilir.

Rekombinasyon-Rekombinant bireyler

- Kromozomlar mayozda karşı karşıya gelerek parça değişimi geçirirler (krossing-over).
- Bu sırada birbirine yakın genler genellikle aynı kromozom üzerinde konumlanmaya devam ederler.

Rekombinasyon-Rekombinant bireyler

- Birbirine uzak genler ise farklı kromatitlere paylaşılabilirler.
- Böylelikle yeni nesillerde, ebeveyn ile aynı olmayan yeni genotipler ortaya çıkar.
- Bu olaya rekombinasyon, böylesi bireylere ise rekombinant bireyler adı verilir.

“Rekombinasyon” genetik haritalamanın kalbidir !!!

- Temel hipotez şudur:
 - Eğer aradığım gen, lokalizasyonunu bildiğim marker'e çok yakınsa, genellikle marker ile birlikte taşınacaktır.
- Başka bir deyişle:
 - Yeni nesilde rekombinant bireyler sayıca fazla oranda oluşuyor ise, bu durum, aradığımız genden uzaklaştığımız anlamına gelir.

Rekombinasyonun matematiksel ifadesi

- Rekombinasyon birimi centimorgan (cM) ile ifade edilir.
- 1 cM, her 100 bireyde 1 rekombinant bireyin oluştuğunu ifade eder.
- Genetik uzaklıklar, fiziksel anlamda ölçülebilir uzaklıklar değildir.

Rekombinasyonun matematiksel ifadesi

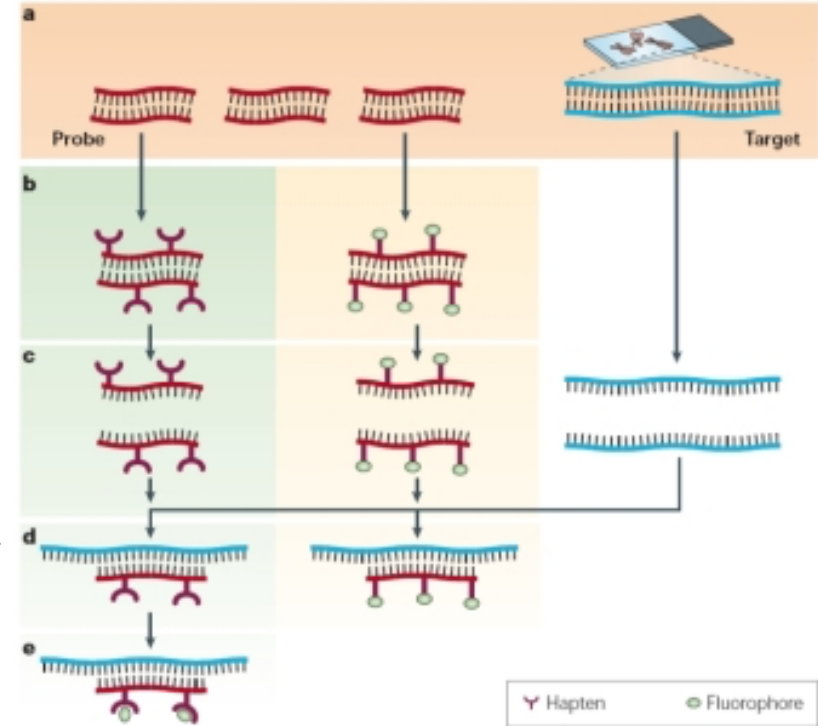
- Teorik olarak iki lokus arasındaki 1 cM'lik uzaklık, 1 milyon baz çifti anlamına gelir.
- Ancak bu rakam her zaman kesin değildir.

Sitogenetik haritalar

- İlk olarak sitogenetik bantlama tekniklerinin bulunması ile ortaya çıkmıştır.
- Bu tür haritalar, düşük çözünürlüklü haritalardır.
- Ancak bu yöntem, kromozom in situ hibridizasyonu için zemin hazırlamıştır.

Sitogenetik haritalar

- Kromozom in situ hibridizasyonunda genler ve diğer DNA dizileri haritalanabilmektedir.
- Bu teknikte, araştırıcı, hedef diziye komplementer bir dizi (prob) kullanarak, hedef dizinin kromozom üzerindeki lokasyonunu tespit edebilir.



Floresan in situ hibridizasyon (FISH)

- Yöntem, belirli bir DNA dizisini prob olarak kullanarak, kromozomlar içerisinde komplementer bölgeyi bulmak anlamına gelir.
- Prob olarak kullanılan DNA bölgesi, radyoizotopla veya floresanla işaretlenir ve sonrasında ısıtma-soğutma işlemleri ile tek iplikli hale getirilir.
- Hazırlanan prob, lam üzerine yayılmış metefaz kromozomlarına uygulanır.

Floresan in situ hibridizasyon (FISH)

- Prob, bu kromozomlardan kendisine komplementer bölge ile birleşerek hibrit oluşturur.
- Son yıllarda, birden fazla farklı renkteki floresan işaretli problarla, kısa sürede birden fazla bölge incelenebilmektedir.
- Sitogenetik haritalarda çözünürlük genellikle birkaç megabaz uzunluktadır.

Karyotip

- Tüm kromozomların, büyükük ve çesitlerine göre gruplandırılmasına karyotip adı verilir.
- Karyotip bugün halen insanlarda genetik düzensizlikler gibi çesitli hastalıkların teşhisinde kullanılmaktadır.
- Örneğın;
 - Kromozom kırılması
 - Kromozom kaybı
 - Ekstra kromozom kopyasının bulunması gibi

Karyotip

- Ancak karyotip, insersiyon ve delesyon gibi küçük mutasyonları görsüntülemeye olanak sağlamaz.
- Dolayısıyla karyotip analizi ile kistik fibrozis, Huntington veya kanser tanısı konulamaz.

Fiziksel haritalar

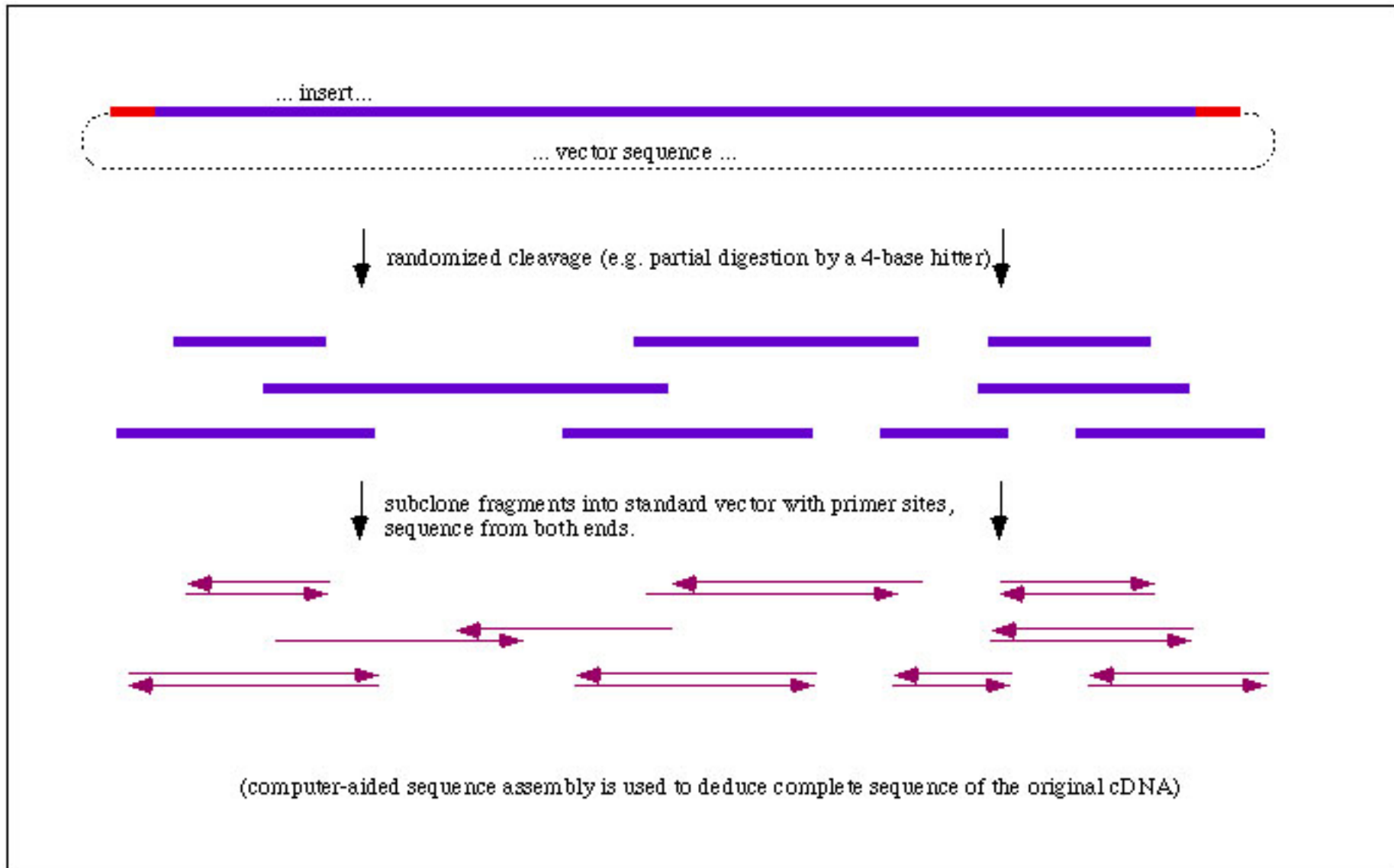
- Bu haritalarda, herhangi bir kromozomun veya genomun tamamının DNA dizisi çıkarılır.
- Bu tür haritalarda genler arasındaki mesafeler baz çifti cinsinden ve kesin rakamlarla ifade edilir.

Shotgun dizi analizi

- Yüksek çözünürlüklü fiziksel haritalar oluşturulurken, shotgun (gelişigüzel) adı verilen bir yaklaşım kullanılır.
- Genom, farklı restriksiyon endonükleazlarla, çok sayıda birbiri üzerine çakışan küçük parçaya ayrılır.
- Bu fragmentlerin her biri klonlanır ve sekansı çıkarılır.

Shotgun dizi analizi

- Daha sonra dizisi belirlenen her bir fragmentin birbiri üzerine çakışan noktaları bilgisayar tarafından tespit edilir.
- Sonuçta dizinin tamamını oluşturan doğrusal DNA ipliğinin sekansı ortaya çıkarılmış olur.



Fragmentleri bir araya getirme stratejileri

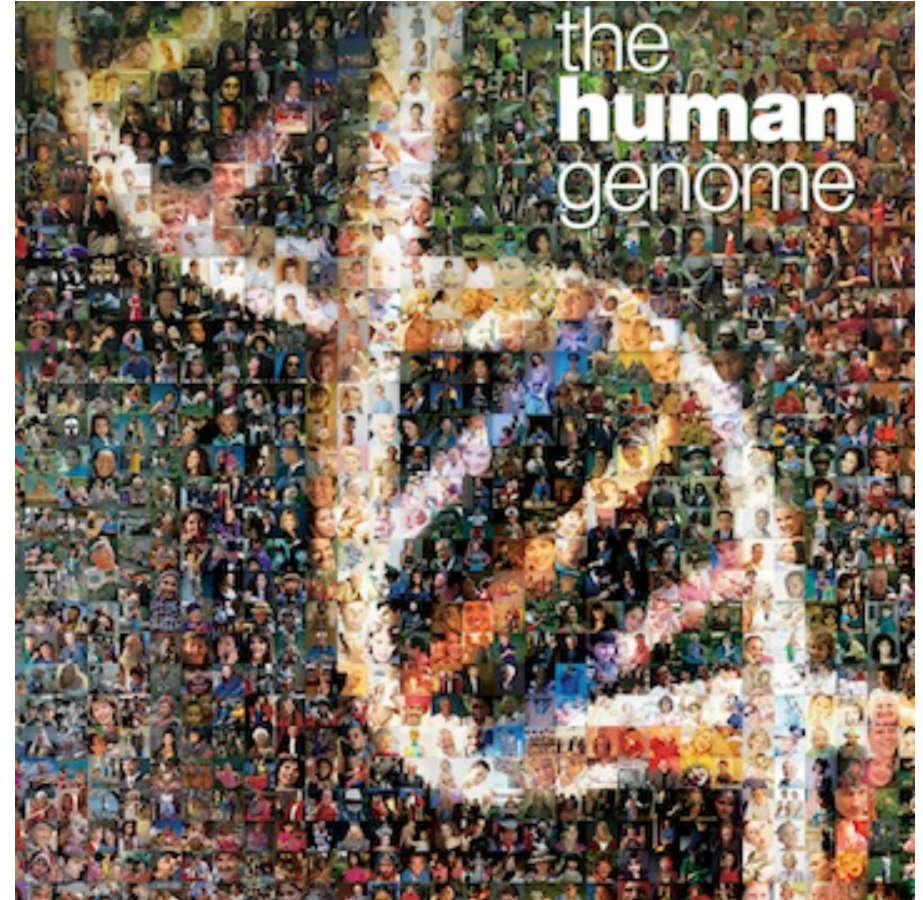
- Fragmentleri bir araya getirmek için çeşitli stratejiler tasarlanmıştır:
 - Kromozom yürümesi (chromosome walking)
 - Restriksiyon enzim fingerprinting
 - Tekrarlı (repetitive) DNA fingerprinting
 - STS haritalama

Fragmentleri bir araya getirme stratejileri

- Bu stratejilerin hepsinin temelinde, birbiri üzerine çakışan dizilere sahip fragmentlerin arka arkaya dizilmesi yatmaktadır.
- Dolayısıyla, “restriksiyon enzim fingerprinting”, en sık başvurulan ve pratikte uygulanabilirliği en yüksek olan stratejidir.

İnsan genom projesi

- Bu proje, insan genomundaki 3.2 milyar baz çiftinin belirlenmesi ve
- Genomdaki tüm genlerin tanımlanması için gerçekleştirilen uluslar arası bir çabadır.



İnsan genom projesinin hedefleri

- İnsan kromozomlarının fiziksel haritasını çıkarmak
- İnsan DNA'sında bulunan yaklaşık 3 milyar baz çiftinin dizilimini ve bunu oluşturan genlerin yerlerini tespit etmek
- Daha ileri biyolojik araştırmalar için genlerin ulaşılabilir kılınmasını sağlamak
- Diğer organizmaların da genom dizilerini belirleyerek insanınki ile karşılaştırmak

İnsan genom projesinin hedefleri

- Farklı canlı türlerine ait genomları karşılaştırmak için yeni teknikler geliştirmek
- Elde edilecek bilgileri tarım, sağlık, çevre ve enerji gibi alanlarda değerlendirmek
- Proje sonucunda ortaya çıkabilecek ahlaki, sosyal ve yasal unsurlara çözüm önerilerinde bulunmak

İnsan genom projesinin tarihçesi

- Birleşik Devletler'de insan genomunun dizisini belirlemek için 1986 yılında bir proje öne sürülmüştür.
- 1988 yılında Ulusal Sağlık Enstitüsü (NIH) ve Birleşik Devletler Enerji Bakanlığı (DOE), bu projeyi gerçekleştirmek için bir komite oluşturmuştur.
- Proje, 1990 yılında DNA'nın ikili sarmal yapısını bulan James Watson önderliğinde başlamıştır.



İnsan genom projesinin tarihçesi

- Projeye kısa zamanda İngiltere, Fransa, Almanya, Japonya, Rusya, Çin ve Kanada'nın da içinde yer aldığı 18 ülke, birçok gönüllü kuruluş ve özel firmalar destek vermiştir.
- Proje ayrıca; Celera, IBM, Compaq, Dupond ve Sanger gibi büyük şirketlerin de katılımıyla her yıl 200 milyon dolar bütçe ile desteklenmiştir.

İnsan genom projesinin tarihçesi

- İnsan genom dizisinin taslağı, Haziran 2000 itibariyle ortaya çıkarılmıştır.
- Şubat 2001 'de kamuoyuna duyurulan sonuçlar, Nisan 2003'te son haline getirilmiştir.

İnsan genom projesinin sonuçları

- İnsan genomu yaklaşık 3.1 milyar baz çiftinden oluşmaktadır.
- İnsan genomunun 80.000 - 100.000 genden oluştuğu tahmin ediliyordu.
- Ancak proje sonucunda genomun 25.000 - 40.000 arası gen içerdiği tespit edilmiştir.
- İnsan genomunun yaklaşık % 1.5'i protein kodlamaktadır.

İnsan genom projesinin sonuçları

- Protein kodlamayan tekrarlı diziler genomun yaklaşık % 50'sini oluşturur.
- Tekrarlı diziler protein kodlamamaktadır ancak bu dizilerin, kromozom yapı ve kararlılığını etkilediği düşünülmüştür.
- Bir gen ortalama 3.000 nükleotit içermektedir.
- En uzun gen 2.4 milyon nükleotit içermektedir ve bir kas proteini olan distrofin'i kodlamaktadır.

İnsan genom projesinin sonuçları

- İnsan proteinleri, düşük yapılı organizmaların benzer fonksiyonlarına sahip proteinlerine göre daha karmaşıktır.
- Y kromozomu, en az gene sahip kromozomdur.
- Kromozom 1 ise en fazla gene sahiptir.
- Genom, bireyler arasında % 99 oranında benzerlik göstermektedir.

İnsan genom projesinin sonuçları

- İnsan genomunda bulunan yaklaşık 200 adet genin, bakterilerden köken aldığı düşünülmektedir.
- Erkek eşey hücrelerinde görülen mutasyon oranı, dişilerinkine kıyasla 2 kat daha fazladır.
- Yeni keşfedilen genlerin yaklaşık % 50'sinin fonksiyonu bilinmemektedir.

İnsan genom projesinin sonuçları

- Hastalıklardan sorumlu binlerce gen teşhis edilmiş, haritalanmış ve lokasyonları belirlenmiştir.
- İnsan genomunda, fonksiyonu bilinen proteinlere benzerlikleri esas alınarak işlevleri tespit edilmiş 26.588 gen bölgesinin listesi yayınlanmıştır.
- En sık temsil edilen genler şunlardır:

İnsan genom projesinin sonuçları

- Nükleik asit metabolizmasında görev alan proteinler (%7.5)
- Transkripsiyon faktörleri (%6)
- Reseptörler (% 5)
- Protein kinazlar (% 2.8)
- Sitoplazma iskeletini oluşturan yapısal proteinler (%2.8)

İnsan genom projesi sonuçlarının kullanıldığı alanlar

- Tıpta;
 - Daha doğru ve hızlı teşhis yöntemlerinin geliştirilmesi
 - Kişiyeye özel tedaviler oluşturulması



İnsan genom projesi sonuçlarının kullanıldığı alanlar

- Enerji ve çevre alanlarında;
 - Zehirli atıkların temizlenmesi
 - Küresel iklim değişiminin azaltılmasına katkıda bulunulması
 - Temiz enerji kaynaklarının oluşturulması



İnsan genom projesi sonuçlarının kullanıldığı alanlar

- Biyoantropoloji alanında;
 - İnsan soyunun araştırılması
 - Geçmişteki insan göçlerinin araştırılması



İnsan genom projesi sonuçlarının kullanıldığı alanlar

- Tarım, hayvancılık, ıslah ve biyoişlemler alanlarında;
 - Aşıların gıda maddeleri içerisinde sunulması
 - Daha besleyici ve daha fazla miktarda ürün eldesi
 - Hastalıklara, zararlılara ve çevre şartlarına dayanıklı tarımsal üretim

Diğer organizma genomları

- İnsan genom projesi ayrıca;
 - Fare
 - Meyve sineği (*Drosophila melanogaster*)
 - Nematod (*C. elegans*)gibi organizmaların genom analizlerine de destek sağlamıştır.

Sekansı Bitmiş Genomlar

 human	 <i>Arabidopsis thaliana</i>	 <i>Archaeoglobus fulgidus</i>	 <i>Campylobacter jejuni</i>
 mouse	 rat	 <i>Aquifex aeolicus</i>	 <i>Thermotoga maritima</i>
 <i>Caenorhabditis elegans</i>	 <i>Drosophila melanogaster</i>	 <i>Chlamydia pneumoniae</i>	 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
 <i>Mycobacterium leprae</i>	 <i>Vibrio cholerae</i>	 <i>Ureaplasma urealyticum</i>	 <i>Buchnera</i> sp. APS
 <i>Plasmodium falciparum</i>	 <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	 <i>Thermoplasma acidophilum</i>	 <i>Escherichia coli</i>
 <i>Neisseria meningitidis</i> Z2491	 <i>Helicobacter pylori</i>	 <i>Guillardia theta</i>	 <i>Saccharomyces cerevisiae</i>
 <i>Xylella fastidiosa</i>	 <i>Borrelia burgdorferi</i>	 <i>Yersinia pestis</i>	 <i>Salmonella enterica</i>
 <i>Rickettsia prowazekii</i>	 <i>Bacillus subtilis</i>	 <i>Ralstonia solanacearum</i>	 <i>Schizosaccharomyces pombe</i>

Karşılaştırmalı genomik

- Bir organizmanın genom bilgisinin diğerinkiyle karşılaştırılmasıdır.
- Bu alanda şu tarz çalışmalar yapılmaktadır:
 - Gen bulma
 - İnsan hastalıkları için model organizma geliştirme
 - Genler, genomlar ve türler arasındaki ilişkilerin evrimsel geçmişinin aydınlatılması
 - Organizmalar ve çevreleri arasındaki ilişkilerin çalışılması

Farklı organizmaların genomlarının karşılaştırılması

Organizma	Tahmini genom büyüklüğü	Tahmini gen sayısı	Kromozom Sayısı
<i>Homo sapiens</i> (insan)	2,900 milyon baz	~30,000-20.000	46
<i>Rattus norvegicus</i> (sıçan)	2,750 milyon baz	~30,000	42
<i>Mus musculus</i> (fare)	2500 milyon baz	~30,000	40
<i>Drosophila melanogaster</i> (sirke sineği)	180 milyon baz	13.600	8
<i>Arabidopsis thaliana</i> (bitki)	125 milyon baz	25.500	5
<i>Caenorhabditis elegans</i> (nematod)	97 milyon baz	19.100	6
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (maya)	12 milyon baz	6300	16
<i>Escherichia coli</i> (bakteri)	4.7 milyon baz	3200	1
<i>H. influenzae</i> (bakteri)	1.8 milyon baz	1700	1

DNA polimorfizmleri

- Birçok kalıtsal hastalığın temelinde genler yatmaktadır.
- Yaklaşık 5.000 gene ait bozukluk ve bunlarla bağlantılı kalıtsal hastalık tespit edilmiştir.
- Aynı gen bölgesi, farklı bireyler arasında baz dizilimi açısından farklılıklar içerebilir.

DNA polimorfizmleri

- Bu sekans varyasyonlarına DNA polimorfizmi denir.
- Kodlama bölgesi içerisinde meydana gelen DNA polimorfizmleri
 - Göz rengi
 - Saç rengi
 - Hastalık şüphesigibi gözlenebilir özelliklerde değişikliklere yol açar.

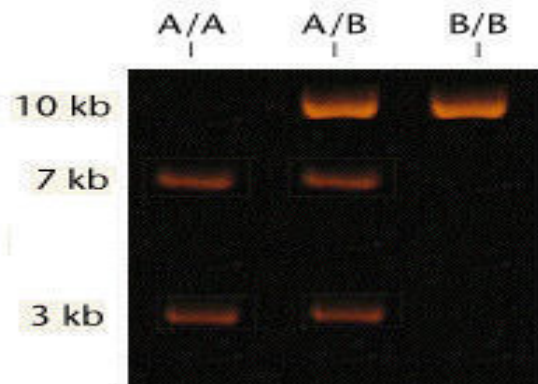
Polimorfizmin tespiti: RFLP

- RFLP yöntemi ile DNA sekans varyasyonları tespit edilebilmektedir.
- Restriksiyon enzimleri belirli nükleotit dizilerini tanır ve DNA'yı bu bölgelerden keser.
- Sonuçta farklı uzunlukta parçalar meydana gelir.

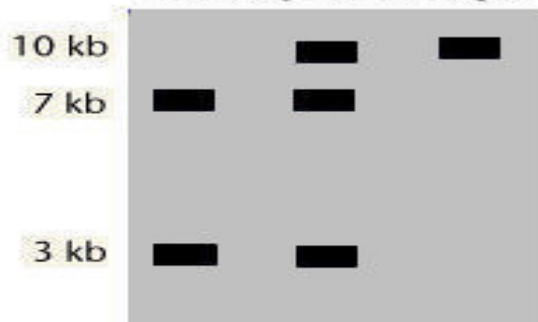
Polimorfizmin tespiti: RFLP

- Bu parçaların jel elektroforezi ve southern blot hibridizasyonu sonucunda belirli bant profilleri meydana gelir.
- Oluşan bant profilleri aynı zamanda polimorfizm hakkında da kuvvetli deliller sunar.

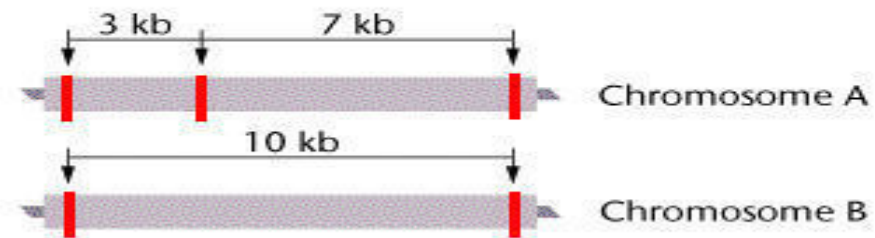
Polimorfizmin tespiti: RFLP



Electrophoresis gel



Southern blot



Genotypes	Fragment sizes
Homozygous for chromosome A (A/A)	3 kb, 7 kb
Heterozygous (A/B)	3 kb, 7 kb, 10 kb
Homozygous for chromosome B (B/B)	10 kb

SNP (single nucleotide polymorphism)

- Bazı gen bölgelerinde tek bir nükleotitik değişim (mutasyon) kalıtsal hasara yol açar.
- Buna en iyi örnek orak hücre anemisinin oluşumudur.
- Tek nükleotitten kaynaklanan polimorfizmlerin teşhisi, bu tarz genetik hastalıkların temelinin daha iyi anlaşılması ve tedavi stratejileri geliştirilmesi için büyük önem taşımaktadır.

Diğer genom projeleri

- Bugün yüzlerce farklı genom projesi yürütülmektedir.
- Mikroorganizma ve virüslerden, bitki ve hayvanlara kadar çeşitli organizmaların genomları aydınlatılmıştır.
- Çoğu genom projesi, biyoteknolojik uygulamalar için başlatılmıştır.
- Örn; mikrobiyal uygulamalar, yenilenebilir yakıtların geliştirilmesi vb.

İnsan genomu birkaç önemli özellik bakımından diğer genomlardan farklıdır

- İnsan genomundaki gen bölgelerinin rastgele dağılımının aksine, diğer organizmaların genleri daha düzgün ve eşit aralıklarla dağılmıştır.
- İnsanlar, *D. melanogaster* ve *C. elegans*'a göre 3 kat daha fazla protein çeşitliliğine sahiptir.
- Çünkü pre-mRNA'ları alternatif splicing işlemine uğrar ve proteinler translasyon sonrası kimyasal modifikasyonlara maruz kalır.

İnsan genomu birkaç önemli özellik bakımından diğer genomlardan farklıdır

- Bu süreç, aynı genden farklı protein ürünlerinin ortaya çıkmasına yol açar.
- İnsanlar; solucan, sinek ve bitkilerle çok sayıda benzer gen ailesini paylaşırlar.
- Ancak insanlarda gelişim ve bağışıklık sistemi proteinlerinde gen ailesi sayısı daha yüksektir.

İnsan genomu birkaç önemli özellik bakımından diğer genomlardan farklıdır

- İnsan genomu bitkilere göre çok fazla oranda tekrarlı dizilere sahiptir (% 50).
- Tekrarlı dizi oranı *Arabidopsis thaliana*'da % 11, *C. elegans*'da % 7 ve *D. melanogaster*'de % 3'tür.

Fare ve diğer hayvanlar

- Fare ve sıçanlar, tıbbi araştırmalarda sıklıkla kullanılan türlerdir.
- Tıbbi araştırma ihtiyaçlarını gidermek için çok sayıda iyi karakterize edilmiş laboratuvar suşu üretilmiştir.
- Birçok mutant fare dizisi, insan hastalıklarına model teşkil etmektedir.



Fare ve diğer hayvanlar

- İnsanlar ve fareler uzun zaman öncesinde evrimsel olarak birbirinden ayrılmış olmalarına rağmen, halen korunmuş DNA bölgeleri bulunmaktadır.
- Bu DNA bölgeleri, insan hastalıkları için farelerin neden model organizmalar olduğunu açıklamaktadır.

Mouse genome initiative (MGI)

- MGI web sitesinde fareye ait fiziksel ve genetik haritalar mevcuttur.
- Ayrıca genlerin lokasyonları ve diğer bilgiler de yer almaktadır.
- Verileri yayınlayan Celera Genomics, tüm bu bilgilere ulaşmamızı sağlar.

Mouse genome initiative (MGI)

- Araştırmacılar, fare ve insan genomu arasındaki korunmuş bölgelerin saptanması ile çok ilgilenmektedir.
- Bu amaçla insan-fare “synteny” haritaları oluşturulmuştur.
- Synteny: Farklı türlerde aynı kromozom üzerinde yer alan DNA bandı veya şerididir.

Diğer hayvanlar

- İnsan genom projesinden sonra diğer hayvanların genomları da araştırılmaya başlanmıştır.
- Bunar arasında; at, domuz, inek, koyun, hindi, tavuk, geyik, balık, kedi ve köpek yer almaktadır.
- En son kaniş genomunun dizisi belirlenmiştir.



Hayvan genom projelerinin amaçları

- Hayvan yetiştirme
- Hastalık önleme
- Evrimsel modelleme

D. melanogaster ve *C. elegans* genomu

- Her iki canlı da gelişimin moleküler biyolojisini çalışmak için geniş ölçüde model organizmalar olarak kullanılmışlardır.
- Çünkü bu organizmalar kolaylıkla mutasyona uğrar ve tüm genlerinin fonksiyonları tanımlanabilir.
- Bu da insan genomu için önemli bir bulgudur, çünkü insanlar bu organizmalarla benzer genlere sahiptir.

D. melanogaster ve *C. elegans* genomu

- *C. elegans* genom projesi tarımsal öneme sahiptir.
- Çünkü bu organizmalar bazen ekin zararlarına yol açmaktadır.



Bitkiler

- 2000 yılında *Arabidopsis thaliana*'nın genom sekansı her seferinde birer kromozom şeklinde açıklanmıştır.
- Tarımsal açıdan önemli olan ve genomları dizilenen diğer bitkiler arasında; pirinç, buğday, yonca, süpürge darısı, arpa, soya fasulyesi ve mısır yer almaktadır.



Bitkiler

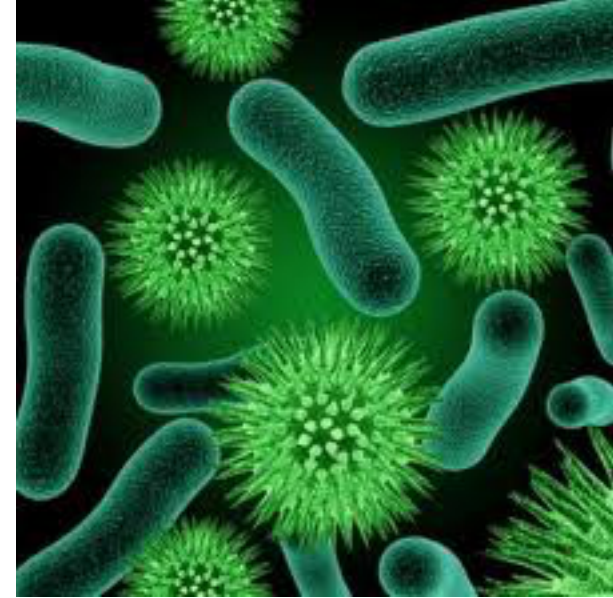
- Bitkiler, kendilerine özgü eşsiz metabolik yolların enzimlerini kodlayan genleri barındırırlar.
- Bu durum, biyoteknolojik uygulamalar açısından oldukça önemlidir.

Bitkilere özgü metabolik yollar

- Sekonder metabolit üretimi
- Bitki hücre duvarının sentezlenmesi
- Fotosentez
- Patojen direnci

Mikroorganizmalar

- Mikroorganizmaların evrimsel tarihi yaklaşık olarak 3.5 milyar yıl öncesine dayanır.
- Dünya biyokütlesinin önemli bir parçasını oluştururlar ve hemen hemen tüm habitatlarda bulunurlar.
- Bazıları ekstrem çevre koşullarına dayanabilme yeteneğine sahiptirler (düşük veya yüksek sıcaklık, tuz, asitli ortamlar, radyoaktif çevreler vb).



Mikroorganizmalar

- Bu organizmalar, belirtilen çevrelerde yaşayabilmelerine olanak veren kompleks metabolik aktivitelere adapte olmuşlardır.
- Araştırmacılar, bu ilginç hayatta kalma mekanizmasını aydınlatmaya çalışmaktadır.
- Mikroorganizmalara ayrıca, çeşitli uygulamalardaki kullanımları için de ilgi duyulmaktadır.

Mikroorganizmalar

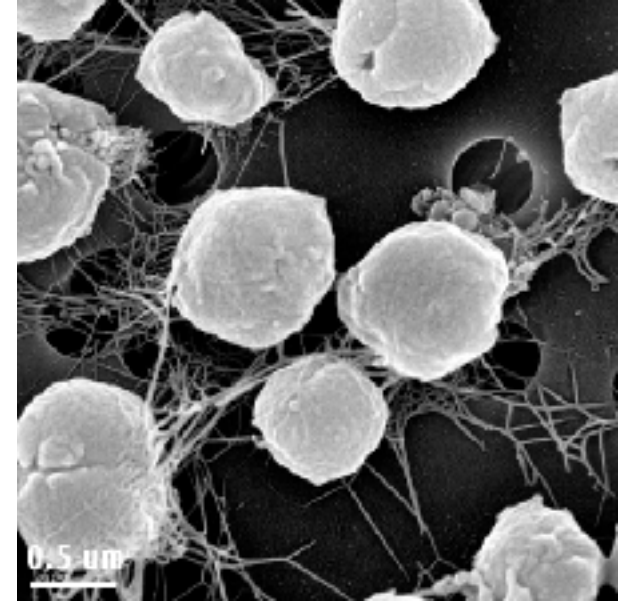
- Bu uygulama alanları arasında çevre, tıp, endüstri, tarım ve enerji bulunmaktadır.
- Mikrobiyal genomik bilimi;
 - Yeni biyoyakıtların
 - Yeni biyolojik ilaç üretim metotlarının
 - Etkili tedavi yöntemlerinin
 - Biyolojik savaşa karşı koruyucu tedavilerin geliştirilmesi için temel hazırlayacaktır.

Dizilenen bazı mikrobiyal genomlar

- *Mycoplasma genitalium* (589 kb)
- *Haemophilus influenza* (1830 kb)
- *Methanococcus jannaschii* (1660 kb)

Methanococcus jannaschii

- Bu mikroorganizmanın genlerinin % 56'sı bilim dünyası için yenidir.
- Ancak enerji üretimi, metabolik süreçler ve hücre bölünmesinde görev alan genler "bacteria" aleminin diğer üyelerine benzerdir.
- Replikasyon, transkripsiyon ve translasyonda görev alan genlerin ise ökaryotlara daha fazla benzediği tespit edilmiştir.



Mikrobiyal genom projesi (MGP)

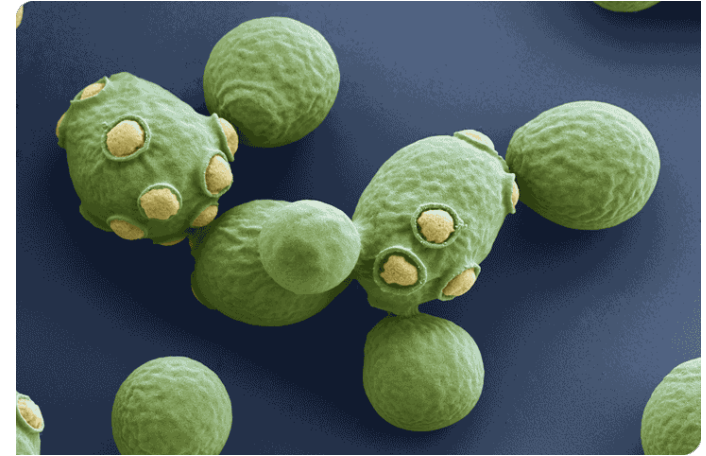
- Şu ana kadar 200'den fazla mikrobiyal genom dizilenmiş ve yayınlanmıştır.
- Bu proje ile genom dizilemenin yanı sıra tüm mikrobiyal genomlardan etkin bir biçimde yararlanabilmek hedeflenmiştir.

MGP'nin fayda sağladığı alanlar

- Biyokütle dönüşümü
- Selülozun bozundurulması ve enerji üretimi (etanol, metan, hidrojen vb)
- Küresel karbon yönetiminde ortamın stabilize edilmesi
- Toksik atıkların temizlenmesi ve çevre kirliliği ile mücadele

Maya ve parazit organizmaların genomu

- Mikrobiyal genomik alanına maya ve parazit organizmaların genom projeleri de dahil edilmiştir.
- İlk olarak 1997'de Saccharomyces cerevisiae'nin genom dizisi yayınlanmıştır.
- Bunu daha sonra Schizosaccharomyces pombe ve Candida albicans'in genom dizileri izlemiştir.



Parazit genom projesine dahil olan mikroorganizmalar

- Trypanosomalar
- Keneler
- Böcek kaynaklı virüsler
- Sıtma parazitleri
- Flarial nematodlar
- Giardia
- Sivrisinekler

Parazit genom projesinin hedefleri şunlardır:

- Parazitlerin bir canlıdan diğerine aktarımında hangi genom bölümlerinin işlevsel olduğunun tespit edilmesi
- Spesifik bazı parazit türlerinde genom çeşitliliğinin daha iyi anlaşılabilmesi için veri birikimi sağlanması
- Antijen üretiminden sorumlu spesifik genlerin saptanmasıyla etkili aşılarda yapılması

Parazit genom projesinin hedefleri şunlardır:

- Parazitlerin yaşam d6ngülerinin daha iyi anlaşılması
- Yařam d6ngülerindeki kritik noktaların ilaç üretimi için etkili hedefler olarak kullanılması

Fonksiyonel genomik

- Belirli bir genomun tüm sekansını belirledikten sonra, bütün genleri ve bu genlerin fonksiyonlarını tespit etmek gerekir.
- DNA sekansı, genlerin fonksiyonları belirlenmediği sürece anlamsız nükleotit zincirlerinden ibaret kalacaktır.
- Fonksiyonel genomik sayesinde genlerin biyokimyasal ve metabolik aktivitesi ve fizyolojik fonksiyonları karakterize edilebilir.

Fonksiyonel genomuđim uygulama alanları

- Moleküler biyoloji
- Genetik
- Biyokimya
- Rekombinant DNA teknolojisi
- İstatistiksel biyoloji

Bütün bu bilgi birikimi ile !!!

- Şimdiye kadar elde edilen bilgi birikimi ile aşağıdaki süreçler hakkında bilgi sahibi olunmuştur:
 - Genomdaki genlerin kesin yerleri ve fonksiyonları
 - Genlerin nasıl düzenlendiği
 - Kromozomların nasıl organize olduğu
 - Kodlama yapmayan DNA'nın rolü
 - Protein etkileşimlerinin nasıl gerçekleştiği
 - Total protein içeriği ve fonksiyonları
 - SNP'lerin hastalıklarla ilişkisi
 - Çoklu gen hastalıklarında rol alan genler

Bütün bu bilgi birikimi ile !!!

- Fenotipik karakterlerin belirlenmesinde rol alan genler
- Farklı organizmalar arasında korunmuş evrimsel mekanizmalar

Proteom ve proteomik

- Bir genomdaki bütün genlerin belirlenmesinden sonraki basamak proteom'u anlamaktır.
- Proteom, hücrede tanımlanmış bütün proteinlerden oluşur.
- Proteomik ise genom tarafından kodlanan proteinlerin analiz edilmesidir.

Proteomik araştırmalarının aşamaları

- Hücredeki proteinlerin ekspresyonu ve kimliklerinin saptanması
- Protein yapılarının aydınlatılması
- Protein-protein etkileşimlerinin tespiti
- Proteinlerin bilgisayar veri tabanına kaydedilmesi ve diğer proteinlerle karşılaştırılması

Proteomik-Genomik-Metabolomik birbirini tamamlar

- Bir organizmanın kompleksliği, hücre içindeki proteinlerin etkileşimine dayanır.
- Genomik ve proteomik verileri, kompleks protein yollarını ve bunların hücre içindeki etkileşimlerini anlamamıza olanak sağlar.
- Metabolomik dataları ile ise transkripsiyonel ve translasyonel düzenlenmenin ötesindeki molekül ve yollar arasındaki etkileşimler hakkında fikir sahibi oluruz.

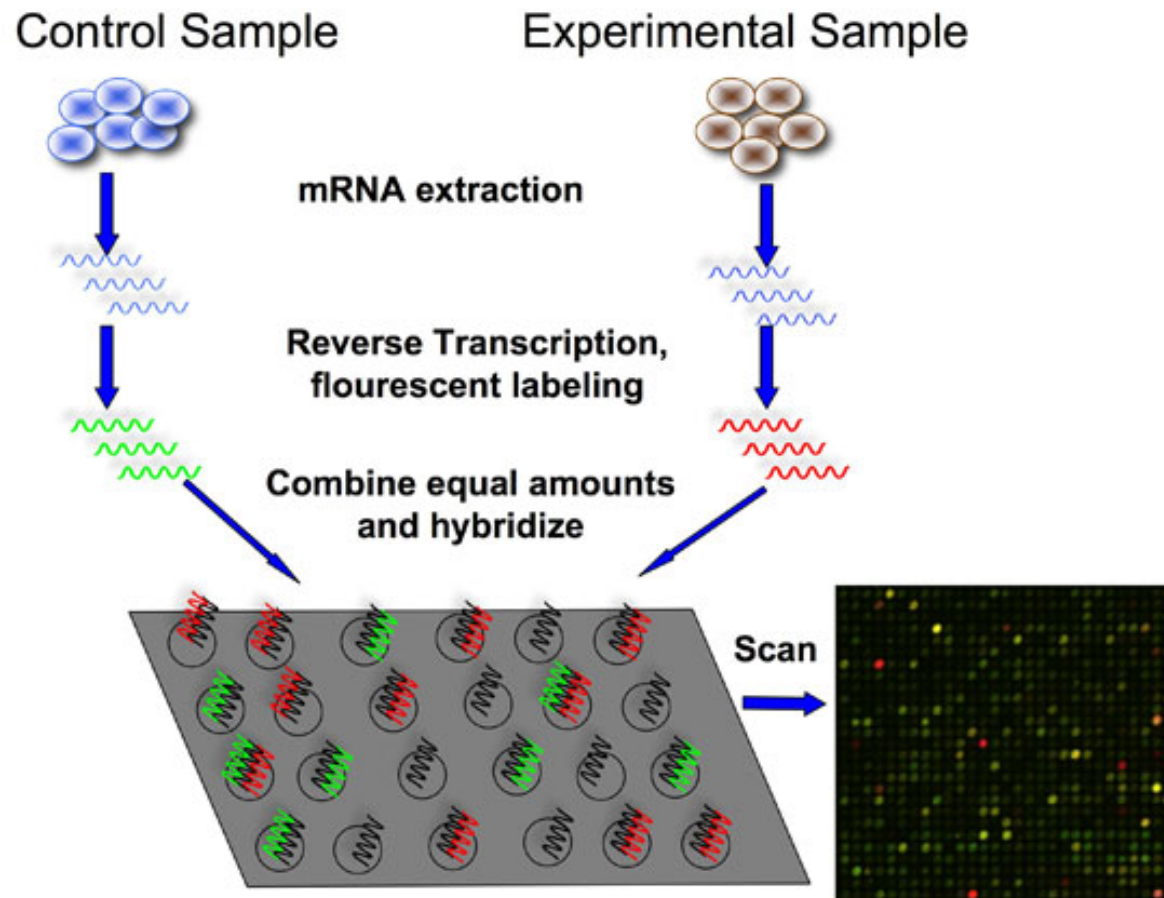
Her hücre tipi farklı proteoma sahiptir

- Çok hücreli canlılarda her bir hücre aynı DNA'ya sahip olsa da her hücre farklı proteoma sahiptir.
- Ayrıca herhangi bir hücre tipinin proteomu, organizmanın fizyolojik durumuna bağlı olarak da değişebilir.
- Genetik varyasyon, ilaç kullanımı ve diyet gibi diğer faktörler de hücrenin proteomunu etkileyebilir.

Transkriptom

- Spesifik bir hücrede spesifik koşullar altında ifade edilen ve transkript olarak adlandırılan anlamlı genlerin tamamıdır.
- Bir transkriptomu diğer bir transkriptomla karşılaştırmak, genomdaki bütün genlerin ifadesindeki değişikliği gösterir.
- DNA mikroarray teknolojisi, herhangi bir zaman diliminde, herhangi bir doku ya da hücre tipindeki bütün genlerin transkripsiyonunu ölçmek için kullanılır.

DNA mikroarray tekniği



Metabolom

- Bir hücredeki bütün metabolitlerin saptanmasıdır.
- Substratların, metabolitlerin ve farklı hücrelerde sentezlenen diğer küçük moleküllerin düzenlenişlerini inceler.
- Metabolom çalışmaları “metabolomik” olarak adlandırılır.
- Organizmalar üzerindeki son çalışmalar, metabolomun proteomdan daha karmaşık olduğunu göstermektedir.

Metabolom

- Araştırmacılar 4 farklı Arabidopsis türünün metabolomlarını karşılaştırdıklarında muazzam bir çeşitlilik ile karşılaşmışlardır.
- Hücreleri tamamen anlayabilmek için farklı hücre tipleri bütün fizyolojik şartlar altında;
 - Transkriptom
 - Proteom ve
 - Metabolomaçısından çalışılmalıdır.

Biyoinformatik

- Biyolojiyi, bilgisayar bilimini ve enformasyon teknolojilerini birleştiren bir disiplindir.
- Yeni genom projelerinin başlatılmasıyla çok fazla miktarda genom sekansı elde edilmeye başlanmıştır.
- Bu büyüklükteki bilgiyi organize etme, kataloglama ve saklama işlemleri için bilgisayar tabanlı programlara ihtiyaç duyulmuştur.
- Biyoinformatik, hesaplamaya dayalı biyolojik analiz süreçleri ile verilerin anlamlı hale getirilmesini sağlar.

Biyoinformatiğin hedefleri

- Veri tabanları oluşturarak bilgiyi kolay ulaşılabilir hale getirmek
- Çok büyük DNA ve protein sekanslarını anlamlandırmak ve analiz etmek
- Yeni algoritmalar geliştirerek verilerin daha etkili kullanılmasını sağlamak

DNA veritabanları

- Bir DNA veritabanı; nükleotit dizilerine, dizi hakkında bilgilere, yayınlayan kaynağa ve ilgili organizmanın bilimsel ismine ilişkin bilgileri içerir.
- Veritabanları sık sık güncellenmektedir.
- Veritabanlarında kaydedilmiş verilere internet kullanılarak ulaşılabilir.

GenBank (NCBI)

- Bir DNA veri tabanıdır.
- DNA sekans bilgilerinin depolandığı bir alandır.
- DNA ya da protein sekansı, mutasyonlar, gen ya da protein fonksiyonu, regülatör bölgeler ve kodlamayan genler gibi pek çok konu kendi referans başlıkları altında toplanır.
- Böylece bu veri tabanı, pek çok farklı bilginin araştırılmasında kullanılabilir.

Diğer veritabanları

- EMBL (European Molecular Biology Laboratory)
- DDBJ (DNA Data Bank of Japan)

Biyoinformatiğin kullanım alanları

- Veri tabanlarından protein ve DNA dizilerine erişebilmek
- Benzer dizileri araştırmak ve karşılaştırmak
- Karşılaştırmalar için global ve lokal hizalamalar yapmak
- RNA ikincil yapısını ve katlanmalarını araştırmak
- Proteinleri sınıflandırmak (primer dizi, motifler, fonksiyonel domainler, yapısal özellikler, fonksiyonların belirlenmesi)

Biyoinformatiğin kullanım alanları

- Proteinlerin ikincil yapılarının belirlenmesi
- DNA ve protein dizilerini kullanarak evrimsel ilişkilerin belirlenmesi (filogenetik yapılanmalar ve ağaç oluşturma)
- Genlerin belirlenmesi (ORF, promotörler, spesifik diziler vb)