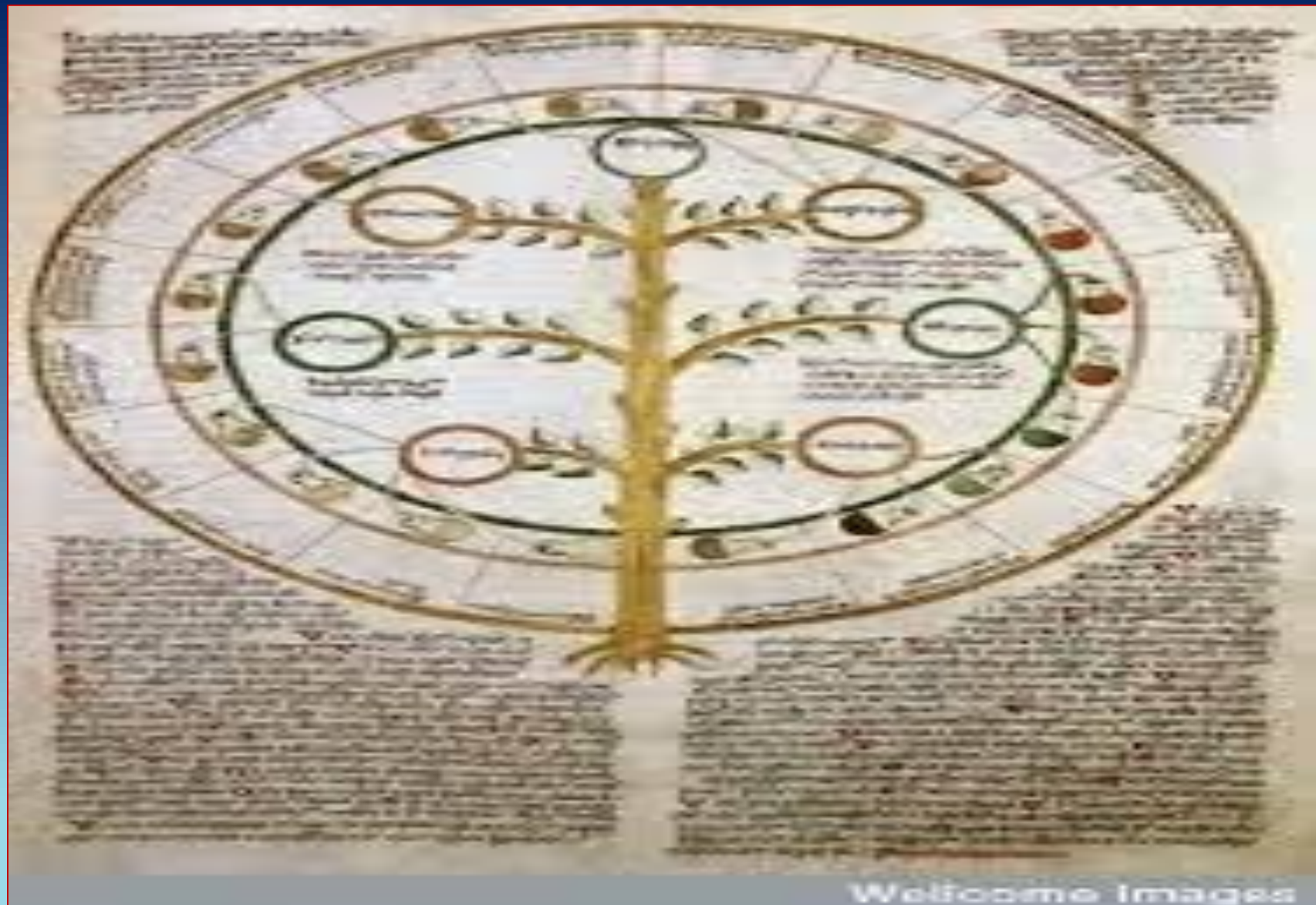


Лекция № 10. Метаболизм және метаболомика: маңыздылығы және қолданылуы.



*Лектор:
д.х.н., профессор
Шоинбекова Сабина
Алимжановна*

- ▶ Зәр, қан, т.б. биологиялық сұйықтықтарды зерттеу тарихы біздің ғасырға дейін 2000-1500 жылдардан басталады. Қытай емшілері зәрді зерттеу үшін құмырсқаларды диабетті анықтау үшін қолданды.
- ▶ Орта ғасырларда «зәр дөңгелектері» қолданылды, олар зәрдің түсін, дәмін, иісін метаболизмнің бұзылуымен, яғни аурулармен байланыстырды.
- ▶ Грецияда біздің ғасырға дейін 300 жыл бұрын биологиялық сұйықтықтардың (гумордың) қасиеттерін аурулардың диагностикасымен байланыстырды.
- ▶ Осы уақытты биологиялық сұйықтықтардың талдау әдістерінің бастамасы ретінде санауға болады, ары қарай дамып, метаболомикаға әкелген.
- ▶ Біздің ғасырға дейін 131 жыл бұрын Гален Гиппократтың гуморальді теориясына негізделген патология жүйесін құрды.
- ▶ Гален теориясы 17 ғасырға дейін өзгерген жоқ және медициналық стандарт болып қала берді.



Wellcome Images

Мочевая диаграмма, Apocalypse Circa, 1420-30, Wellcome Library, London MS 49

- ▶ Адамның биологиялық сұйықтығының құрамын, яғни жеке метаболикалық профилін *Роджер Уильямс 1940-шы* ж. соңында ұсынды. Уильямс қағаз хроматографиясында жасалған шизофрения ауруымен ауратын адамдардың зәрі мен сілекейіндегі метаболикалық паттерндерін жасаған. (қайталанатын ерекшеліктерді).
- ▶ 1960-1970-шы жылдары бұл технологиялар дамып, түрлі аурулардың метаболикалық профильдерін сандық, сапалық зерттей бастады.
- ▶ «Метаболикалық профиль» терминін *Хорнинг* әріптестерімен 1971 жылы ұсынды. Олар адамның зәріндегі және тканьдік эктстракттарындағы заттардың концентрациясын газ-хроматографиямен бірлескен масс-спектрометрия әдісімен анықтауға болатынын дәлелдегенен кейін.
- ▶ *Хорнинг тобы, Лайнус Полинг пен Артур Б. Робинсонмен* бірлесіп, ГХ-МС әдісін зәрдегі метаболиттердің 1970 жылдарда мониторингін жүргізуге жасады.

- ▶ 1940-шы ж. масс-спектрометриямен бірге ЯМР әдісі дами бастады.
- ▶ 1974 ж. - Сили әріптестерімен ЯМР-дың метаболиттерді детекциялауға қолдануға болатынын көрсетті.
- ▶ Алғаш рет ЯМР әдісімен бұлшық ет клеткаларында 90% аденозинтрифосфор қышқылы (АТФ) магниймен комплексте болатыны анықталды.
- ▶ ЯМР-дың метаболомдық зерттеулердегі келесі Лондон Университетінің Бирбек колледжінің Джереми К. Николсонның зертханасында, содан кейін Лондон Империялық колледжінде болды.
- ▶ 1984 ж. Николсон әріптестерімен ЯМР-спектроскопияның ПМР түрінде қант диабетін (инсулинқажетті) диагностикалауға болатынын ашты.

- ▶ Содан кейін Николсон жұмыстарымен қатарлас Мики Ала-Корпеланың, Йохан Тригг (Швеция, Умео университеті) топтарының метаболомның зертеулері аса маңызды орын алды.
- ▶ 2005 ж – метаболомиканың мәлімет базасы, METLIN жасалды. Ол – Скриппс Зерттеу Институтында, Гари Сиуздака зертханасында, 10 000 метаболитен астам MS/MS көмегімен алынған мәліметтерден тұрады.
- ▶ 2015 ж. қыркүйегіне METLIN базасында 240 000 астам метаболиттердің мәліметтері жиналды.

- ▶ 2007 ж. 23 қаңтарында Альберт университетінде, (Канада) Дэвид Уишарт бастаған “Адам метаболомы” жобасы аяқталып, Homo Sapiens метаболомы анықталды: 2500 метаболиттер, 1200 фармацевтикалық препараттар және 3500 нутриенттер (тағам компоненттері).
- ▶ Осындай жұмыстар бірқатар өсімдіктерге де жүргізілді.

- ▶ Бастапқыда пайда болатын бағытты анықтау үшін екі термин ұсынылды - *метабономика және метабономика*.
- ▶ Метабономика – тірі жүйелердің патофизиологиялық ынталандыруға немесе генетикалық модификацияларға динамикалық мультипараметрлік метаболикалық реакциясының (жауабының) сандық өлшемі ретінде түсінілді.

- ▶ **Метабономика** — бұл тірі клеткадағы жүріп жатқан процестердің химиялық «саусақ таңбаларының» зерттелуі, яғни төмен молекулалық қосылыстардың метаболикалық профильдерін зерттеу.
- ▶ Метаболом – бұл клеткадағы, тканьдердегі, орган немесе организмде жүретін зат алмасу процесстерінің бастапқы, аралық, соңғы өнімдердің (*метаболиттердің* жиынтығы).
- ▶ Гендердің экспрессиясы мен протеомдық талдау деректері метабономика сияқты жасушада болып жатқан физиологиялық процесті толық аша алмайды, ал метаболикалық профильдер кез келген физиологиялық процестерді суреттеп береді.
- ▶ Жүйелік биология мен функционалдық геномиканың міндеттерінің бірі тірі организмдер туралы неғұрлым біртұтас көзқарас алу үшін протеономика, транскриптомика және метаболикалық ақпаратты біріктіру болып табылады.

- ▶ XX ғасырдың екінші жартысы - бұл молекулярлық биологияның, ең алдымен генетиканың қарқынды дамыған уақыты. Жарқын мысал – ең әйгілі халықаралық ғылыми жобалардың бірі – «Адам геномы»-ның сәтті жүзеге асырылуы, ғылыми ортада ғана емес, кең қолдау тапты.
- ▶ Осының барлығы организмдегі тұқым қуалайтын ақпараттың жүзеге асуының молекулалық өнімдері зерттелетін, жалпы жұртшылық арасында белгілі емес «постгеномдық» ғылыми зерттеулердің тұтас тобының дүниеге келуіне әкелді.
- ▶ Постгеномдық ғылымдардың ішіндегі ең жасы – ***метабономика***.
- ▶ ***Метаболом*** – организмдегі, мүшедегі, ұлпадағы немесе жасушадағы шағын (молекулалық салмағы 1 кДа-нан төмен) молекулалар жиынтығы.
- ▶ Метаболиттерге аминқышқылдары, органикалық қышқылдар, қанттар, нуклеотидтер және органикалық қосылыстардың көптеген басқа кластары жатады.

ДНК
У человека –
28 тыс. генов



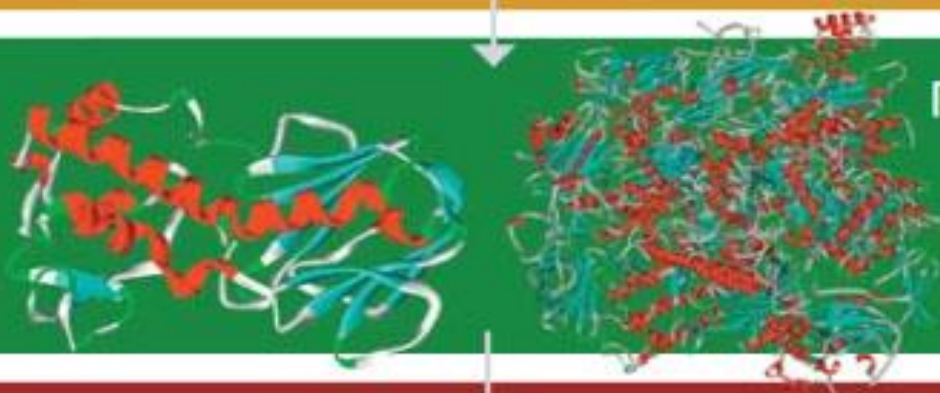
ГЕНОМ

РНК
У человека – 100 тыс.
различных транскриптов



ТРАНСКРИПТОМ

БЕЛКИ
У человека – 1 млн типов
белков и их вариантов



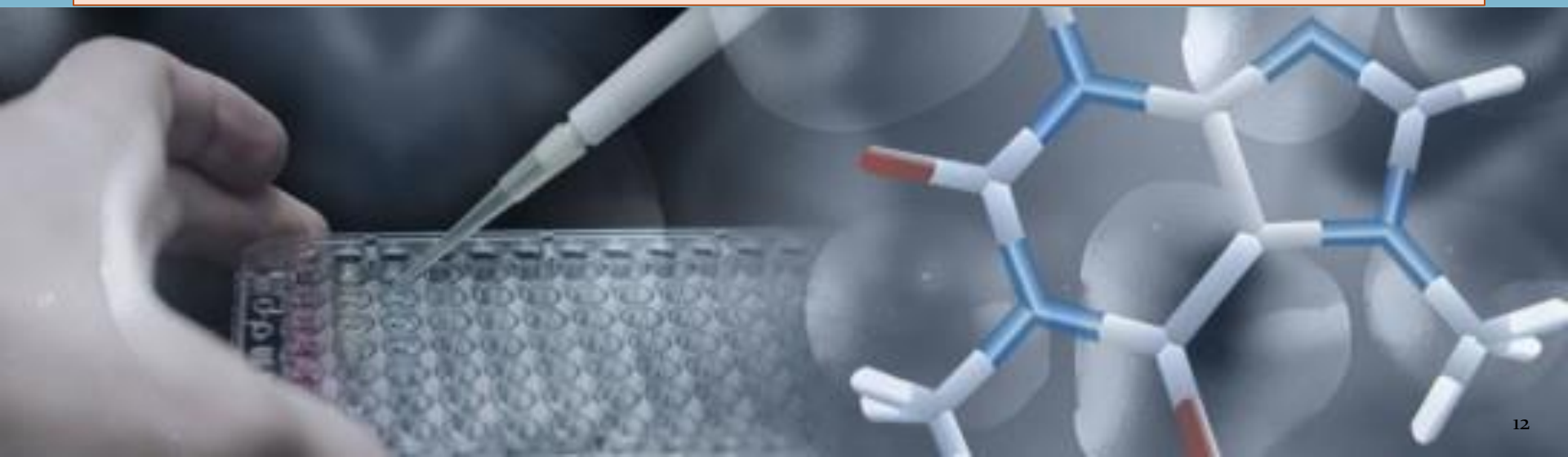
ПРОТЕОМ

МЕТАБОЛИТЫ
У человека – 2.4 тыс.
типов молекул



МЕТАБОЛОМ

- ▶ Заманауи молекулярлы-биологиялық зерттеулер биологиялық объектілердің қасиеттерін геном, транскриптом, протеом және метаболомдық деңгейде зерттей алатын әртүрлі технологиялық платформаларды қолдануымен ерекшеленеді.
- ▶ Осы платформаларды бірлескен түрде қолдану тірі организмдегі процестерді ақпараттың геннен фенотипке дейінгі жүйелі зерттеуге мүмкіншілік береді.
- ▶ Метаболомика өз кезегінде осындай зерттеулердің, фенотиптің ақпараттық сипаттамасы болғандықтан, логикалық қорытындысы бола алады.



Негізгі анықтамалар:

Метаболиттер

- молекулалық массасы 1 кДа-ға дейін зат алмасу реакцияларына қатысатын және клетканың өсуіне, қалыпты қызмет атқаруына, адаптациясына қажетті молекулалар

Метаболом

- биологиялық объектінің метаболиттерінің толық жиынтығы

Метаболомика

- биологиялық объектінің барлық метаболиттерінің идентификациясы және сандық өлшемі

- ▶ Тірі организмде тұқым қуалайтын ақпараттың жүзеге асуы ДНҚ-дан РНҚ-ға, РНҚ-дан белокқа дейін жүзеге асады. Сәйкесінше, иерархия немесе пәндер шоғыры бар: геномика – геном мен гендерді зерттейді; транскриптомика – транскрипттердің синтезі және таралуы (РНҚ молекулалары); протеомика – белок молекулаларының жиынтығы; метаболомика – биохимиялық реакциялар нәтижесінде түзілетін барлық метаболиттер жиынтығы.
- ▶ Бір қызығы, метаболиттер саны осы реакцияларға жауапты молекулалар санынан әлдеқайда аз. Бұл, біріншіден, бұл кішігірім молекулалардың биохимиялық өзгерістердің каскадыннан өткендігімен және өздігінен тұрақты болғанымен байланысты. Екіншіден, іс жүзінде бірдей биохимиялық процестер әртүрлі адамдардың адам геномында кодталған, сондықтан олардың құрамдас бөліктерінің жеке құрылымдық ерекшеліктері соңғы метаболиттер санына айтарлықтай әсер етпейді, кем дегенде қалыпты (Черноносков, 2010)

Метаболомика клеткадағы зат алмасудың соңғы және аралық өнімдерін зерттейді.



- ▶ Масс-спектрометрияның қарқынды дамуымен метаболомдар анализі, соның ішінде 2 мың адам және 20 мың өсімдік негізгі метаболиттері анализі жүзеге асу мүмкіншілігі туды.
- ▶ Заманауи метаболомика масс-спектрометрия әдістерін қолдануға негізделген. Соның ішінде *метаболикалық фингерпринтинг* және *профильдеу* әдістері кеңінен таралған.

Метаболикалық фингерпринтинг

Метаболикалық фингерпринтинг (fingerprinting) – бұл метаболиттердің сандық сипаттамасынан түзілетін үлгілер (паттерн) негізіндегі биопробаның классификациясы.

Бұл алдымен *метаболиттер идентификациясына емес*, ауру туындағанда, ағзаға сыртқы ортаның әсері және генетикалық ауытқулар кезіндегі *өзгерістердің* кезінде түзілетін үлгілердің салыстырмалы анализіне негізделген. Масс-спектрометриялық анализ кезінде биологиялық үлгі метаболит массасы жиналуымен және масс-спектрометриялық пиктерінің белсенділігімен түзіледі.

Метаболикалық фингерпринтингте метаболиттердің барынша кең ауқымы қамтылады. Бұл өз кезегінде метаболомдық технология ретінде қабылдауға септігін тигізеді.

Метаболиттердің түрі мен бөліну тәсіліне байланысты *метаболикалық фингерпринтинг* келесідей жіктеледі:

- Тікелей масс-спектрометриялық анализ
- Масс-спектрометриямен бірлескен тиімділігі жоғары сұйықтық хроматография (ВЭЖХ-МС)
- Масс-спектрометриямен бірлескен газды хроматография (ГХ-МС)
- Масс-спектрометриямен бірлескен капиллярлы электрофорез (КЭ-МС)

Метаболикалық профильдеу

- ▶ Метаболикалық профильдеу – бұл бір химиялық класқа жататын қосылыстардың немесе мақсатты метаболиттердің тобын, аурулардың биомаркерлерін, дәрінің әсер етуі үшін диагностика жүргізу немесе әсер ету нысанын табу мақсатында белгілі бір биохимиялық реакция тізбегі метаболиттерінің сандық анализі.
- ▶ Осындай мақсатты бағыты үшін метаболикалық профильдеу қолданбалы медицина саласында кең қолданысқа ие болды. Жаңа туған балалардың аминқышқылдары, май қышқылдары және органикалық қышқылдар синтезі метаболизмінің бұзылуы бар немесе жоқтығын анықтауда ВЭЖХ-МС сәтті қолданылады. Сонымен қатар, метаболизмнің туа пайда болған бұзылуы диагностикасында несепнәрдің ГХ-МС әдісі қолданылады.

Клиникалық метабономика

- ▶ Метабономика көмегімен анықтауға болатын негізгі патологияларға метаболикалық синдром, диабет, қан-тамыр аурулары, бауыр патологиясы жатады.
- ▶ Қан сарысуы метабономикасы жүрек, қан-тамыр ауруларының патологиясы мен дәрежесін дәл анықтауға мүмкіншілік береді.
- ▶ Шизофренияны анықтауда жұлын сұйықтығы метабономикасы маңыздылығын көрсетті. Олар глюкозаның мөлшерінің ауытқығандығын көрсетті. Шизофренияға шалдыққандардың арасында диабеттің екінші типі 16,8%-ді құрағандығы анықталды (қалыпты жағдайда популяциядағы жиілігі 2-3%-ды құрайды).

▶ Метаболомды талдау денеде болып жатқан динамикалық процестерді түсінудің кілті болып табылады. Қалыпты жағдайда тіндегі немесе сұйықтықтағы белгілі бір қосылыстардың концентрациясы олардың метаболикалық процестердегі рөлімен анықталады және әдетте шағын шектерде өзгереді. Дегенмен, патологиямен зақымдалған тіннің метаболикалық профилі күрт өзгеруі мүмкін. Метаболиттердің құрамы мен концентрациясының динамикасын зерттей отырып, көптеген аурулардың пайда болуының молекулалық негіздерін түсінуге немесе кем дегенде олардың биомаркерлерін анықтауға болады. Бүгінгі таңда метаболомикада үш бағыт бар.

- ▶ ***Сапалы метаболомика*** тіндердегі метаболиттерді олардың концентрациясына қарамастан «танады». Бұл тәсіл зерттеулердің бастапқы кезеңдерінде, сондай-ақ бірқатар нақты қолданбаларда (мысалы, допингке қарсы зертханаларда) пайдалы. Жұмыстардың ең көп саны ***жартылай сандық*** тәсіл арқылы жүзеге асырылады, онда сынақ және бақылау үлгілері (мысалы, патологиялық және сау тіндер) салыстырылады. Бірақ ең ақпаратты және сонымен бірге еңбекті қажет ететін әдіс - зерттелетін тіндегі метаболиттер концентрациясының абсолютті мәндері өлшенетін ***сандық әдіс***.

- ▶ Метаболикалық профильдеуде липидомикаға ерекше көңіл бөлінеді.
- ▶ *Липидомика* – биообъектінің липидтерін идентификациялау және сандық анықтау. Липидтердің анализінде масс-спектрометрияны қолдану олардың метаболизмін жете зерттеуге, липид-тәуелді сигналды жолдарды, олардың ауырған кездегі және дәрілік емдеудегі өзгерісін анықтауға мүмкіншілік береді.

Клиникалық липидомика

- ▶ Клиникалық липидомика – метаболомиканың маңызды бағыттарының бірі. Липид айналымының бұзылуы мынадай аурулармен байланысты: атеросклероз, диабет, Альцгеймер ауруы, т.б..

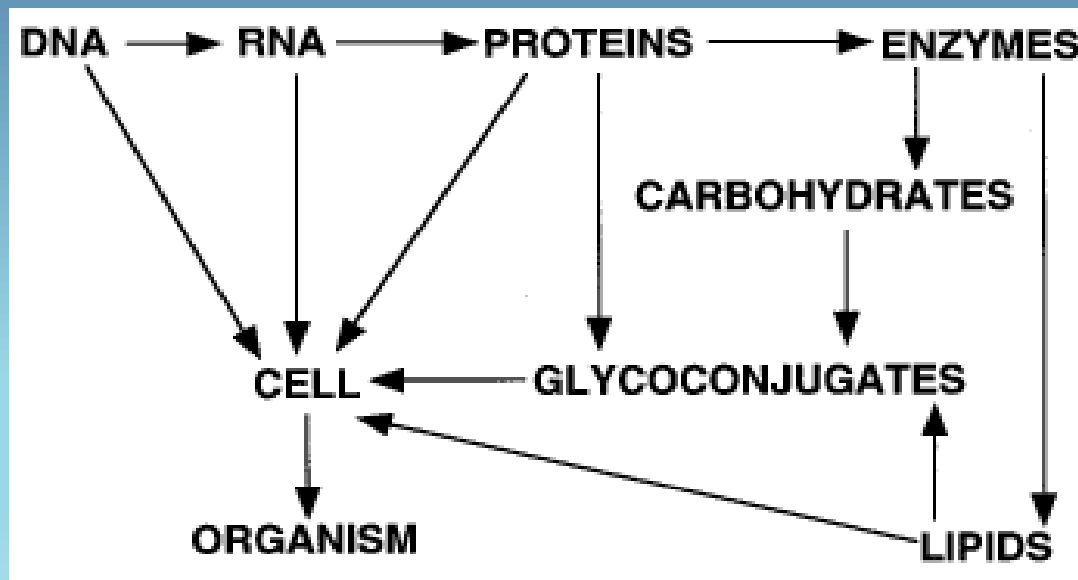
Липидомикаға қызығушылықтың туындауы:

1. Клетканы зерттеудің жалпы тәсілдерінің өзгеруі

Классикалық парадигма:



Постгеномдық дәуір парадигмасы:



Липидомикаға қызығушылықтың туындауы:
2. Ауруға шалдыққан кезде липидтер метаболизмі
ауытқуы жайында ақпараттың жиналуы

Диабет, семізділік т.б. - ядролық рецепторлар (PPAR)

Жүрек, қан-тамыр аурулары – простагландиндер

Клеткалар пролиферациясы -

полиқаньқпаған май қышқылдары,
простагландиндер

Нейродегенеративтік аурулар, шизофрения, күйзеліс

полиқаньқпаған май қышқылдары

Астма – лейкотриендер

Липидомикаға қызығушылықтың туындауы:

3. Әртүрлі липидтерді талдау жүргізуге мүмкіншілік беретін әдістердің туындауы

ESI/MS; LC/MS/MS

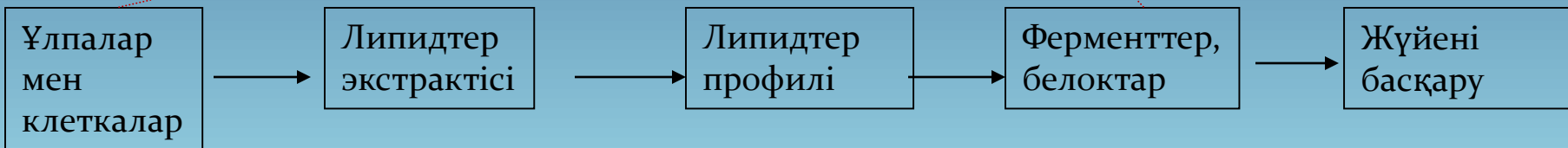
Lipid arrays

DNA – RNA → белоктар → метаболиттер → жауап

геномика → протеомика → метаболомика

липидтер қанттар токсиндер, etc

липидомика



Липидомиканың басқа «-омик» арасындағы орны



Ревматикалық аурулардың зертханалық диагностикасындағы заманауи биоаналитикалық (протеомдық) технологиялар.

*О.Б. Дынник (Медицинское научно-практическое объединение «Медстрой», Киев),
В.Н. Залесский (Национальный научный центр «Институт кардиологии им. Н.Д.
Стражеско», Киев) //Український ревматологічний журнал • № 2 (24) • 2006.*

Функционалды геномиканың 4 негізгі бағыты бар:

- Гендердің біріншілік транскрипттерін, сплайсингті, пісіп жетілген мРНК-ларды (транскриптомика) зерттеу;
- Гендердің экспрессиясын – белоктық өнімдерді, олардың посттрансляционды модификациясын (протеомика) зерттеу;
- Субклеткалық құрылымдардың түзулуінің генетикалық механизмдерін, клеткалық дифференцировка мен гистогенезді (цитомика) зерттеу;
- Норма мен патологиядағы фенотиптердің қалыптасуын зерттеу.

Яғни, постгеномдық периодтың ***протеомикасының міндеті – жаңа белоктардың фракцияларының пайда болуын анықтау және белгілі белоктармен салыстыру.***

Бұл міндеттің нәтижесі - геномдық, транскриптомдық және протеомдық ақпаратты салыстыра отырып, белоктық банктің дәрежесін арттырады.

Протеомиканың рөлі – белок өнімдерінің деңгейінде геномның функционалды қабілеттілігін бағалау.

Қазіргі уақытта ревматикалық аурулардың биомаркерлы молекулаларын табу үшін экспрессияланатын белоктарды зерттейді, ол үшін заманауи протеомдық технологияларды қолданады.

Протеомдық анализдің биомедициналық технологиялары:

- Лазерлық қармалаушы микродиссекция;
- Екікөлемді 2D-электрофорез және масс-спектрометрияның комбинациясы + биоинформатика (MALDI-tof («Matrix Assistant Laser Desorption Ionization time-of flight»)) (Lottspeich F., 1999);
- Белок-микрочиптік технологиялар;
- Биосенсорлық технологиялар (ферменттік, иммунологиялық, микробтық, электрохимиялық, оптоэлектрлік, оптикалық, акустикалық).

Қорытынды:

- ▶ Метаболомика қазіргі таңда молекулалық биологияның жаңа саласының бірі болып табылады.
- ▶ Метаболомика қазіргі таңда медицинада көптеген ауруларды анықтауда, әсіресе аурудың даму деңгейін дәл анықтауда орны ерекше.
- ▶ Метаболомика геномика, протеомика, транскриптомика сынды ғылым салаларымен тығыз байланыста даму үстінде, сонымен қатар метаболомиканың дамуы, медициналық диагностикада өз орны бар, липидомиканың туындауына әсер етті.

- ▶ http://bioinformatics.ru/Misc/MS_metabolomics.html
- ▶ <http://ppt4web.ru/biologija/genomika-proteomika-metabolomika.html>
- ▶ www.lipid.ru/lev/2.ppt