

Odbor za primijenjenu genomiku  
Hrvatske akademije znanosti i umjetnosti.

### **Primjena genomike u Hrvatskoj, upitnik**

(Molimo da odgovore napišete običnim tiskom u nastavku upita, izostavite pitanja koja se ne odnose na Vaše djelovanje, te da odgovor pošaljete zaključno do utorka, 02. travnja 2013.)

1. Matko Glunčić, dr.sc., docent, Fizički odsjek Prirodoslovno-matematičkog fakulteta, Sveučilište u Zagrebu, Bijenička cesta 25, matko@phy.hr

#### *2. Uža znanstvena problematika kojom se bavite*

U suradnji s V. Paarom i suradnicima stvorena je potpuno nova metode za identifikaciju i analizu periodičnih i superperiodičnih (HOR) struktura u genomskoj sekvenci i ab initio izrađen odgovarajući vrlo složen kompjutorski softver GRM. U GRM metodi po prvi put je uspjelo direktno preslikati simboličku DNA sekvencu u frekventnu domenu što omogućuje jedinstveno visokoselektivnu identifikaciju globalne repeticijske mape i naročito aproksimativne superperiodične (supersimetrijske) strukture. Ključna ideja GRM metode je uvođenje kompletnog ansambla K-stringova kao robustnog indikatora najšireg spektra za identifikaciju aproksimativnih periodičnosti primarnog i viših redova. Pomoću GRM algoritma, u genomima čovjeka i drugih viših primata, identificirano je preko pedeset dosad nepoznatih novih primarnih aproksimativnih repeticija i repeticija višeg reda, te disperziranih repeticija.

Usporedbom odgovarajućih repeticija dokazano je da je značajna razlika između čovjeka i ostalih primata koncentrirana u velikim aproksimativnim primarnim repeticijama i super-repeticijama. Dodatno, pronađeno je da se ove razlike javljaju na dvije razine: prvo, na nivou razlike pojedinih baza i drugo, na nivou razlike strukturne organizacije osnovnih repetitivnih jedinica. Na primjer, pronađeno je da je razlika u bazama kod odgovarajućih repetitivnih sekvenci kromosoma Y čovjeka i čimpanze iznenađujuće velika, ~70%. Primjenjena na cijeli kromosom, ova razlika je na nivou ~14%, što značajno prevazilazi dosadašnje procjene od 2-5% razlike između genoma čovjeka i čimpanze. Kao primjer strukturne razlike, pronađen je u ljudskom genomu novi tip dugodosežnog evolucijskog "ubrzanja", Human Accelerated HOR Regions (HAHORs), koji razotkriva naglu evoluciju strukturnih HOR organizacija nakon separacije čovjeka i čimpanze. Generalno, pokazano je da su razlike između čovjeka i čimpanze puno veće u području tandernih repeticija, posebno kod HOR-ova, nego kod genskih kodirajućih sekvenci. Otkrivena je dosad potpuno nepoznata super-repeticija (čak 46 kopija) u NBPF genu koji je povezan s radom ljudskog mozga, a koja je u potpunosti odsutna u genomima ostalih visokih primata. Na osnovu ovih rezultata iznesena je u ovim publikacijama hipoteza o mogućoj važnosti HAHOR-a kao komponenti u višerazinskoj mreži regulacije genske ekspresije.

Dodatno, uvedena je potpuno nova ideja proširenih start/stop "codon-like" trinukleotida (CLT) u nekodirajućim DNK sekvencama te odgovarajućih proširenih klastera pomoću kojih se izvodi nova klasifikacija alfa satelita kod čovjeka i viših primata. Također, pokazuje se da analiza start /stop CLT proširenih klastera omogućuje značajno veći broj kombinacija mogućih proteina u odnosu na standardne tripletne kodove, i samim tim značajno veći informacijski potencijal genske sekvence, što pridonosi većoj razlici među organizmima.

### 3. 10 najznačajnijih radova

1. V. Paar, N. Pavin, M. Rosandić, M. Glunčić, I. Basar, R. Pezer, S. Durajlija Žinić (2005) ColorHOR – novel graphical algorithm for fast scan of alpha satellite higher-order repeats and HOR annotation for GenBank sequence of human genome. *Bioinformatics* **21**:846-852.
2. M. Rosandić, V. Paar, I. Basar, M. Glunčić, N. Pavin, I. Pilaš (2006) CENP-B box and pJa sequence distribution in human alpha satellite higher-order repeats (HOR). *Chromosome Res* **14**:735-753.
3. V. Paar, I. Basar, M. Rosandić, M. Glunčić (2007) Consensus Higher Order Repeats and Frequency of String Distributions in Human Genome. *Curr Genomics* **8**:93-111. (IF = 2.487)
4. M. Rosandić, M. Glunčić, V. Paar, I. Basar (2008) The role of alphoid higher order repeats (HORs) in the centromere folding. *J Theor Biol* **3**:555-560 doi:10.1016/j.jtbi.2008.06.012.
5. V. Paar, N. Pavin, I. Basar, M. Rosandic, M. Gluncic, N. Paar (2008) Hierarchical structure of cascade of primary and secondary periodicities in Fourier power spectrum of alphoid higher order repeats. *BMC Bioinformatics* **9**:466 doi:10.1186/1471-2105-9-466.
6. V. Paar, M. Glunčić, I. Basar, M. Rosandić, P. Paar, M. Cvitković (2011) Large Tandem, Higher Order Repeats and Regularly Dispersed Repeat Units Contribute Substantially to Divergence Between Human and Chimpanzee Y Chromosomes, *J Mol Evol* **72**:34-55 doi 10.1007/s00239-010-9401-8.
7. V. Paar, M. Glunčić, M. Rosandić, I. Basar, I. Vlahović (2011) Intra-Gene Higher Order Repeats in Neuroblastoma BreakPoint Family (NBPF) Genes Distinguish Humans from Chimpanzees. *Mol Biol Evol* **28**:1877-1892.
8. M. Glunčić, V. Paar (2012) Direct mapping of symbolic DNA sequence into frequency domain in Global Repeat Map (GRM) algorithm. *Nucleic Acid Res* doi: 10.1093/nar/gks721.
9. M. Rosandić, M. Glunčić, V. Paar (2012) Start/Stop codon like trinucleotides extensions in primate alpha satellites. *J Theor Biol* doi: 10.1016/j.jtbi.2012.09.022
10. M. Rosandić, V. Paar, M. Glunčić (2013) Fundamental role of start/stop regulators in whole DNA and new trinucleotide classification. *Gene* **531**:184-190

### 4. Znanstveno-istraživački projekti koje ste vodili ili u njima surađivali.

Međunarodni projekt:

- Modeling of dynein redistribution during nuclear oscillations,

Domaći projekt:

- KSA kompjutorsko istraživanje repeticija višeg reda i duplikona u humanom genomu.
- Istraživanje preraspodjele dineina u profazi mejoze
- Istraživanje utjecaja kinesin-8 motora na centriranje jezgre

*5. Znanstveno-istraživački projekt koji vodite ili u njemu surađujete.*

Međunarodni projekt:

- Modeling of dynein redistribution during nuclear oscillations,

Domaći projekt:

- Istraživanje utjecaja kinesin-8 motora na centriranje jezgre

*6. Međunarodna suradnja.*

Međunarodni projekt:

- Modeling of dynein redistribution during nuclear oscillations,

Max Planck institut za fiziku kompleksnih sustava u Dresdenu

*7. Najvažnija oprema Vašeg laboratorija*

*Stolno i prijenosno računalo*

*9. Oprema koju bi valjalo nabaviti*

*- na razini Vašeg laboratorija*

Dodatna računalna oprema za studente i poslijediplomante koji surađuju na našim projektima.

*- na razini Vaše ustanova*

Klaster računala za automatsku pretragu i usporedbu (upotrebom GRM računalnog programa) repeticija i proširenih trinukleotida unutar genomskih sekvenci čovjek i ostalih eukariota. Serversko računalo za online bazu (na otvorenom web portalu) repeticija u genomima svih eukariota. Nakon izrade kompletne baze jedan smjer istraživanja vodio bi na izradu evolucijske slike vremenskog i prostornog rasporeda svih mutacija unutar odgovarajućih repeticija. Na osnovi ovako dobivene slike bilo bi moguće izraditi i pojednostavljeni fizikalni model evolucije repetitivnih jedinica od genoma nižih primata do genoma čovjeka. Drugi smjer istraživanja modelirao bi razvoj repetitivnih struktura višeg reda, s posebnim naglaskom na područja nagle akceleracije (fazni prijelazi). Ova dva modela pomogla bi u razumijevanju same evolucije kompletne genske sekvence, organizacije genoma, te uloge nekodirajućeg dijela genoma u regulacijskoj mreži ekspresije gena.

*- centralno na razini države time da bude na raspolaganje uz razumne uvijete.*

Uz gore spomenuti klaster računala i otvorenu bazu repeticija trebalo bi povezati u informacijsku mrežu različite kliničke centre u Hrvatskoj i šire, što bi omogućilo klinička istraživanja genomskih varijacija unutar repetitivnih sekvenci za širok spektar pacijenata kod kojih veza između genotipa, fenotipa i kliničkih nalaza nije uvijek očita.

*10. Vaše mišljenje o izobrazbi iz genomike u Vašem području, sadašnje stanje i kako unaprijediti:*

- *dodiplomska*
- *poslijediplomska doktorska*
- *poslijediplomska specijalistička*

*11. Sažeto prikazite primjenu genomike u Vašem području u nas i usporedite sa svijetom.*

Primjene rezultata naših istraživanja trenutno kod nas ne postoji. U svijetu se sve više pokušava mutacije u nekodirajućem dijelu genoma, posebno unutar repetitivnih jedinica, povezati s regulacijom ekspresije gena i pronaći mehanizme njihovog djelovanja i aktivacije. U svrhu toga objavljuju se algoritmi za pretragu i uspostavljaju se baze repeticija i razlika unutar nekodirajućeg dijela genoma. Ono što mi u ovom trenutku imamo, a u svijetu još nisu pronašli, je dovoljno brz i robustan algoritam i odgovarajući kompjutorski program (bez unaprijed poznatih parametara) za automatsku identifikaciju i analizu svih repeticija u bilo kojem genomu.

*12. Da li su u nas zadovoljavajući etički i pravni vidovi primjene genomike? Sažeto prikazite u Vašem području i navedite prijedloge.*

*13. Da li je u nas dovoljno razvijena informatička potpora primjeni genomike? Što predlažete?*

*Vidi točku 9*

*14. Da li su Vam dostupne sve genomičke baze podataka, ako nisu što predlažete da se poduzme.*

Sve genomske baze koje koristimo su otvorenog tipa, uz mogućnost dobivanja dodatnih sekvenci na upit.

*15. Kako unaprijediti suradnju u genomici u nas (primjerice ustroj genomičke informacijske mreže)?*

Uspostavom jedinstvene baze svih repeticija, te otvorene računalne mreže koja bi omogućila pretragu i usporedbu rezultata s već poznatim repeticijama pohranjenim u bazi, bilo bi moguće povezati mutacije unutar repeticija s kliničkim odstupanjima za svakog pojedinačnog pacijenta. Ova primjena i paralelno istraživanje dovelo bi do otkrića uloge nekodirajućeg dijela genoma u regulacijskoj mreži ekspresije gena i njihovog utjecaja na razvoj pojedinih bolesti. Uspostava mreže s različitim kliničkim centrima dovela bi doznatnog razvoja personalizirane i prediktivne medicine. Na ovaj način postigao bi se napredak u dijagnosticiranju bolesti koje nisu povezane s monogenetskim poremećajima i omogućio dovoljno rani terapijski tretman.

*16. Dopunite upitnik prema Vašem nahođenju!*