



Kako povezati?

povijest

filozofija

tehnika

simpozij u spomen
na prof. dr. sc. Zvonka Benčića

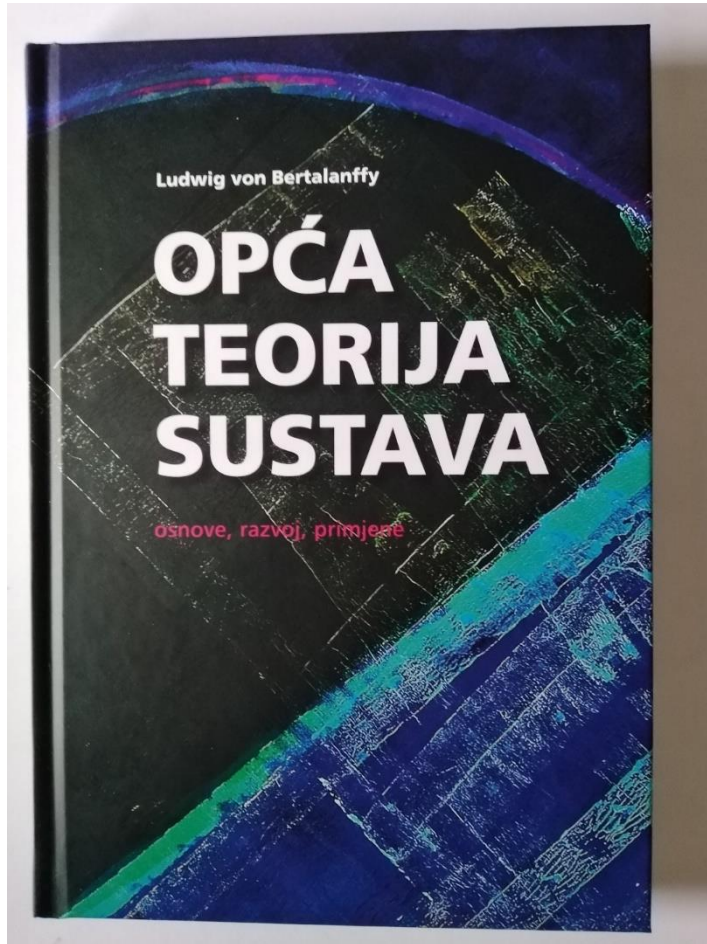
biologija, molekularna genetika



Kratki pregled istraživanja genoma
u svjetlu Opće teorije sustava

Prof. Miroslav Plohl, dr. sc.
Emeritus Instituta Ruđer Bošković

Slučajan susret kod Kazališne kavane.... Jesen 2019?



U knjizi Opća teorija sustava – osnove, razvoj, primjene (1968.) u prijevodu prof. Benčića i prof. Jovića, von Bertalanffy kompilira znanstvene radove kojima ukazuje na opće zakonitosti koje povezuju prirodna, tehnička i društvena područja znanosti.



Ludwig von Bertalanffy
(1901. – 1972.)

-von Bertalanffyjeva primarna disciplina bila je teorijska biologija;
OTS je razvijena u kontekstu živih organizama

**Osnovna misao: svijet kao velika organizacija,
strukturirana hijerarhijski u međudjelujuće
sustave koji se ponašaju podjednako
bez obzira o čemu se radilo --> opća teorija sustava**

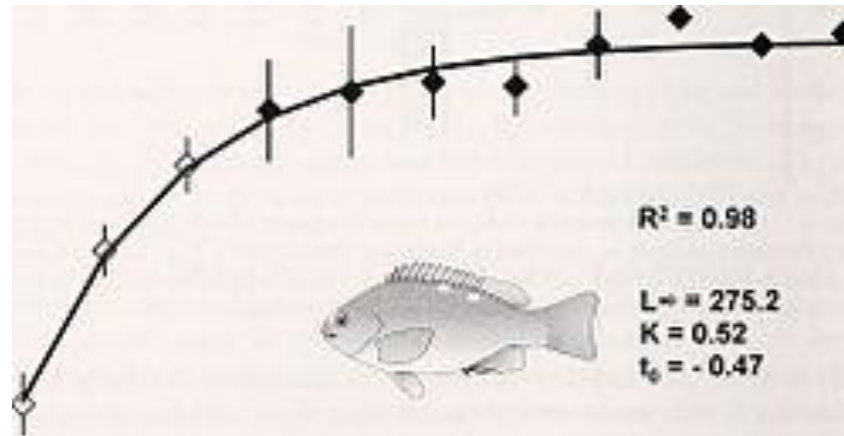
- transdisciplinarne zakonitosti koje povezuju prirodne, tehničke i društvene znanosti

„organizmička koncepcija osnova je moderne biologije. Nužno je proučavati ne samo izolirane dijelove i procese nego i rješavati presudne probleme organizacije u cilju povezivanja dijelova.”

OTS, str. 26

Široko obrazovanje: teorijska (i eksperimentalna) biologija i filozofija znanosti, ali i matematika, biokemija, biofizika, termodinamika, teorija Informacije, medicina, psihologija i psihijatrija, lingvistika... itd.

Kvantitativni metabolizam, fiziologija, biofizika, homeostatske regulacije, brzine metabolizma, populacijska biologija, **model rasta (Bertalanffyjeve jednadžbe), matematički model rasta organizma, biocenoza, staničnih kultura (1934)** koristi se i danas



$$L'(t) = r_B (L_{\infty} - L(t))$$

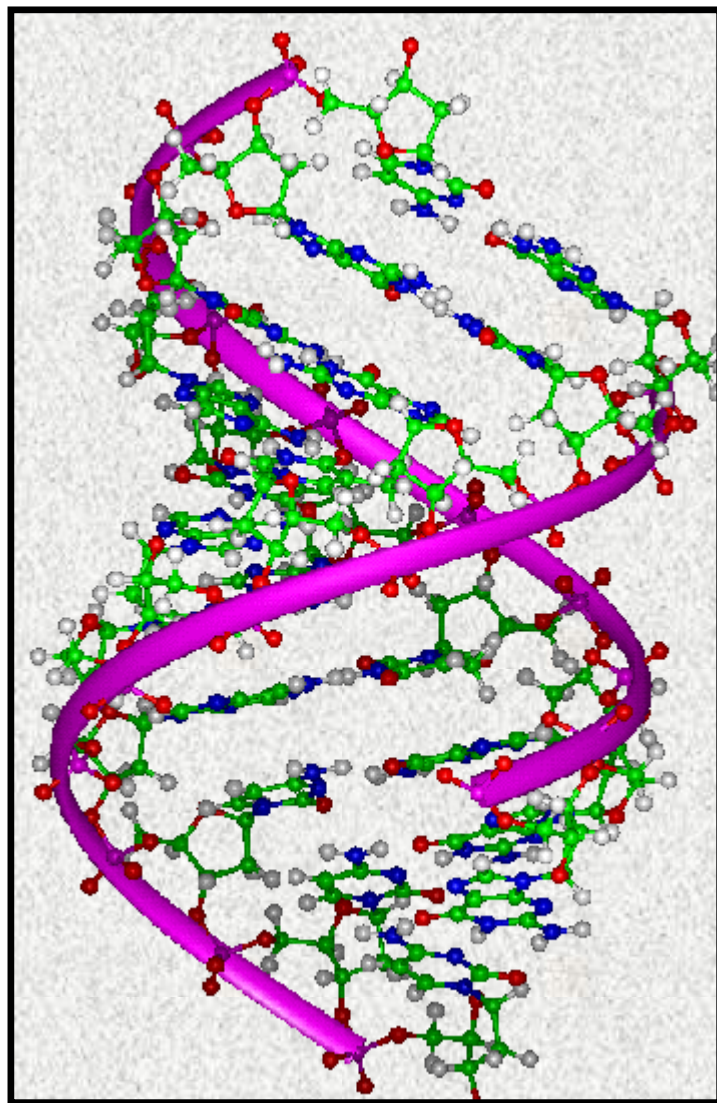
... genetička istraživanja i razumijevanje funkcije genoma komentira na raznim mjestima u knjizi

Što je bilo poznato u vrijeme nastanka knjige,
do 1968.?

Gregor Mendel (1822-1884): roditelji na potomstvo
prosljeđuju informacije o svojstvima, a ne sama svojstva
na njemačkom je tu informaciju nazvao
merkmal (~ obilježje, osobitost, čimbenik)

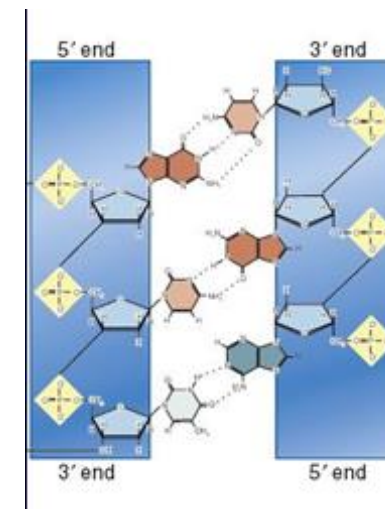
→ odgovara onomu što danas zovemo **gen**

Trait	VARIANTS	
Flower color	 Purple	 White
Flower position	 Axial	 Terminal
Seed color	 Yellow	 Green
Seed shape	 Round	 Wrinkled
Pod shape	 Inflated	 Constricted
Pod color	 Green	 Yellow
Height	 Tall	 Dwarf



Molekula DNA predstavlja materijalnu osnovu genetičke informacije.

Strukturu su na osnovu podataka Rosalind Franklin i Maurice Wilkins prvi deducirali Francis Crick i James Watson, 1953. godine.



4 baze (A, G, T, C) → komplementarno se sparuju u dvostrukoj uzvojnici:
Uvijek $A = T$; $G \equiv C$ (crtice ovdje označuju vodikove veze!)

5'....GTGCAATGCTTAAA3'

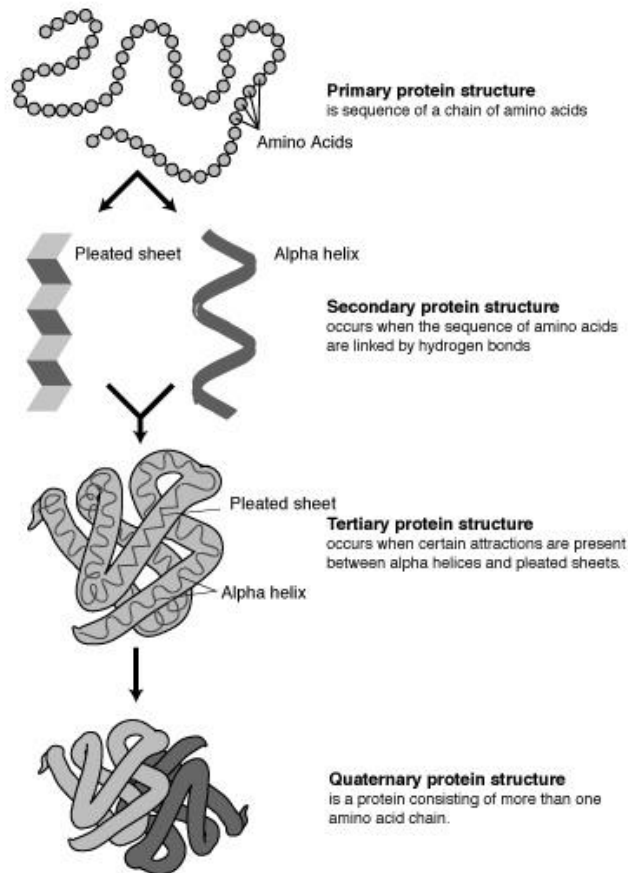
3'....CACGTTACGAATTT5'

Molekula DNA sadrži informaciju i predstavlja „nacrt” koji opisuje neki organizam.

Svojstva organizma (stanica) u velikoj mjeri ovise o proteinima (bjelančevinama) koje su u njemu sintetizirane: to su **“radne” molekule svakog organizma.**

Bjelančevine su lančaste molekule izgrađene od 20 gradivnih elemenata, aminokiselina

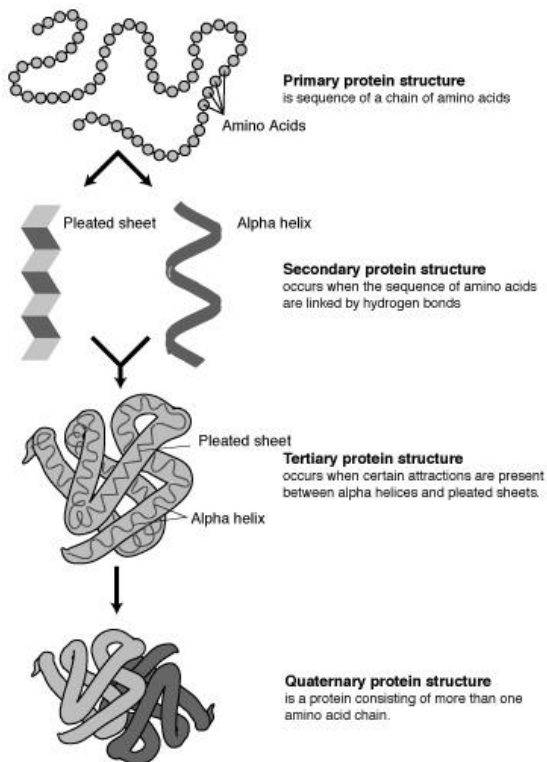
Bjelančevine su : strukturne molekule
kontraktilne (npr. miozin)
hormoni (npr. inzulin)
enzimi (npr. DNA polimeraza)



Kako se prevodi „nacrt” sadržan u DNA u „proizvod” (tj. cijeli organizam)?

4 baze (A, G, T, C) → 20 aminokiselina

slijed baza definira aminokiselinski slijed u proteinima (minimalno jednoznačno određivanje moguće je ako svaku aminokiselinu predstavljaju 3 baze ($4 \times 4 \times 4 = 64$ kombinacije) → **genetički kod: univerzalan za sve!**



TTT	AAG	CTT	GCC	DNA Sequence
Phe	Lys	Leu	Ala	Protein Sequence

Gen je segment molekule DNA koji određuje građu proteina.



prosječan gen je duljine 1000 -2000 baza

Pitanja, koncepti i ... nedoumice, problemi i zablude

Opća teorija sustava (1968), Ludwig von Bertalanffy:

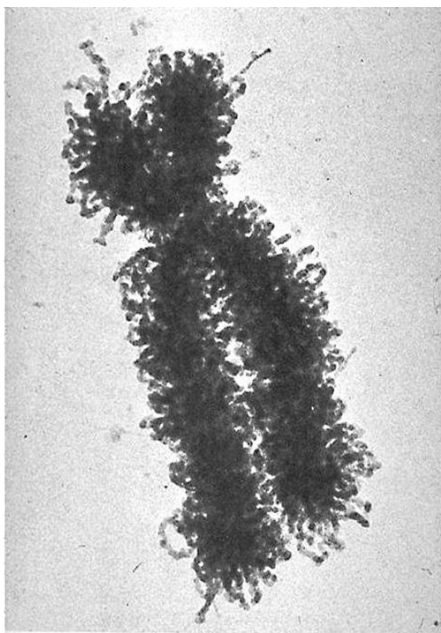
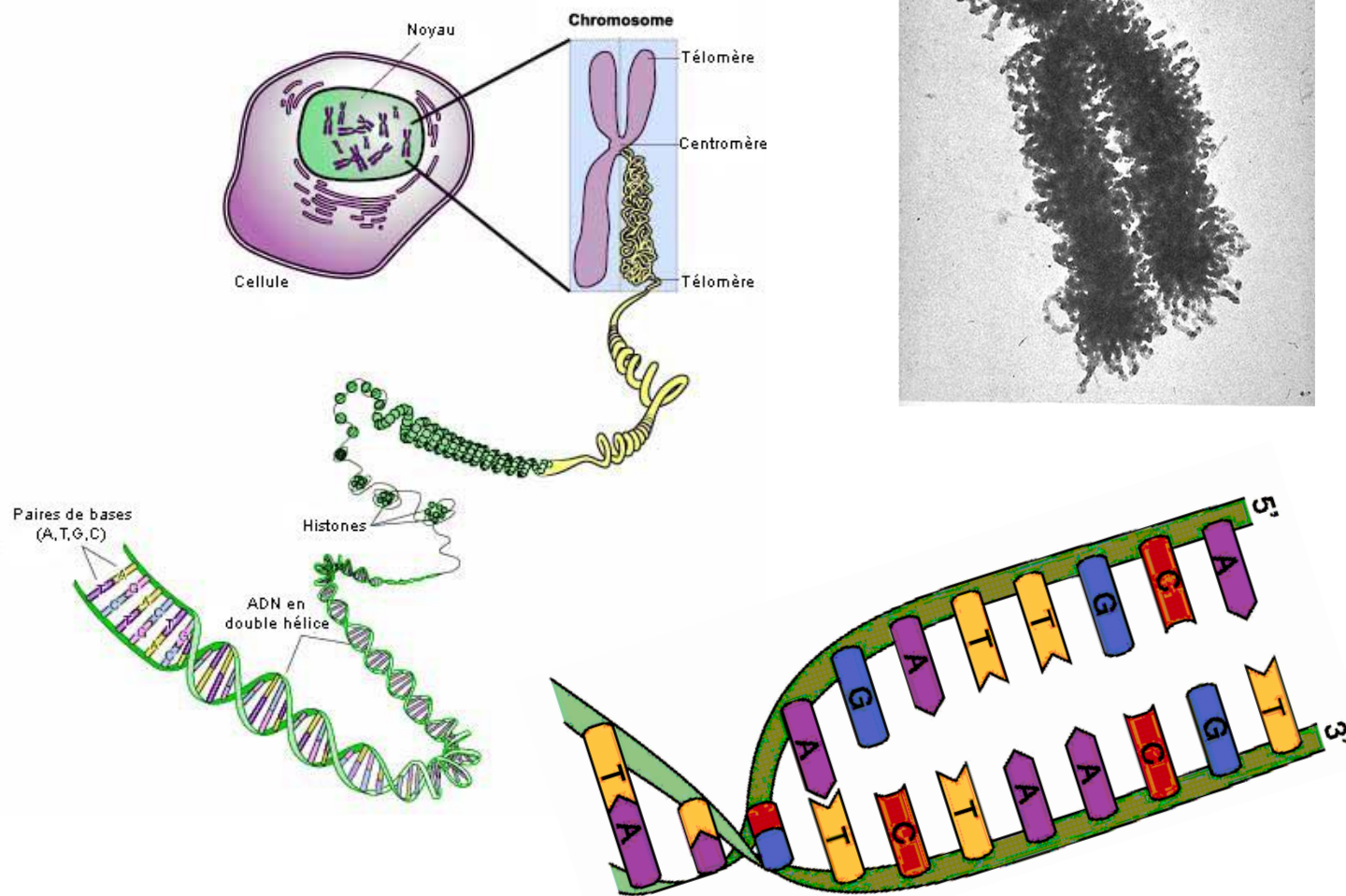
„Mendelovi zakoni bili su korijeni genetike, ali – nasljednost, križna razmjena, učinak položaja koda i još mnogo toga – bio je to samo **mali dio genetičkog iskustva koje se može opisati klasičnim zakonima.**”

OTS, str. 166

„...**genom kao cjelina proizvodi organizam kao cjelinu.** Određeni geni, međutim, u prvom redu određuju smjer razvoja određenih značajki – tj. djeluju kao ‘glavni dijelovi’. To se očituje u mišljenju da je svako nasljedno svojstvo suodređeno mnogim, možda i svim genima, i da svaki gen utječe ne samo na jedno svojstvo nego vjerojatno i na cijeli organizam.”

OTS, Str. 63

Genom: sveukupna DNA u stanici



Struktura kromosoma omogućava pravilno pakiranje i razdjeljivanje DNA u jezgri i tijekom stanične diobe.
Promjer jezgre je 5-20 μm .

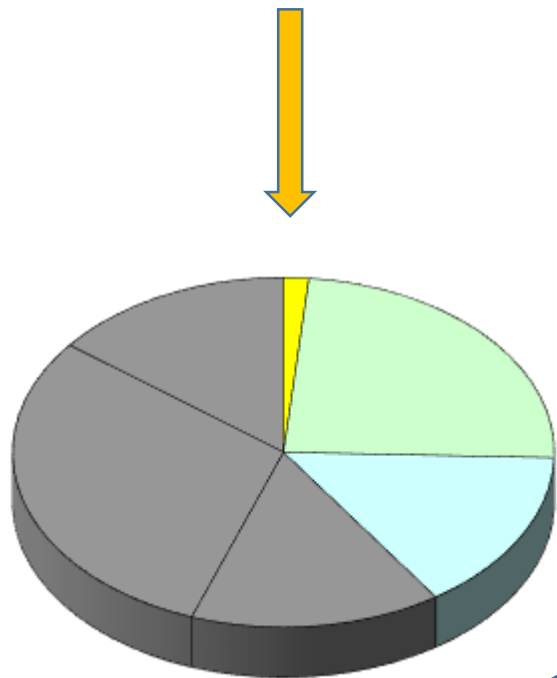
Čovjek: somatske stanice sadrže 6,27 Gpb, odnosno oko 2 m DNA, raspodijeljene u $2n = 46$ kromosoma (22 para autosoma + par spolnih)

prosječan gen je duljine 1000 -2000 pb

Genom je puno veći nego što je potrebno za same gene

Mali broj gena u genomima, < 2%

1940-tih J.B.S. Haldane, i Nobelovac Hermann Muller predviđaju da samo **mali % ljudskog genoma sadrži „funkcionalne elemente DNA” (gene)** koji mogu biti pogođeni mutacijama



Intuitivno nejasna uloga, „višak”, velike razlike među vrstama, a ne slijede kompleksnost organizma

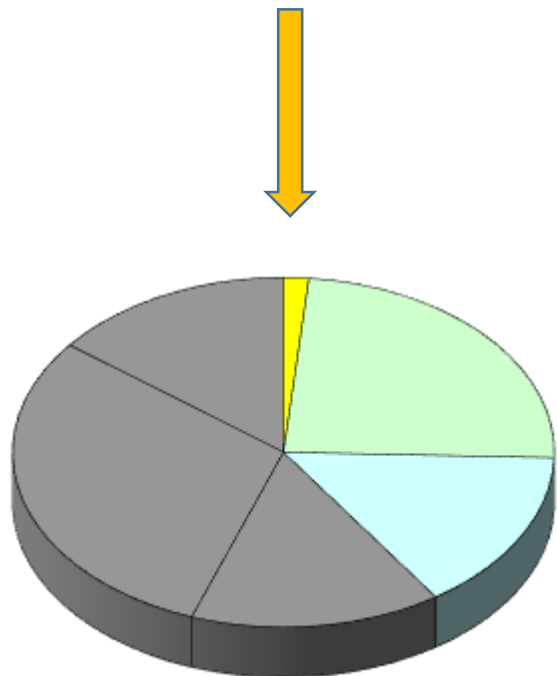
Junk DNA, selfish DNA, itd. npr.
Orgel LE, Crick FHC (1980)
Selfish DNA: the ultimate parasite. Nature 284:604–607

Zaključak: ne treba previše gubiti vrijeme istražujući „**Genome dark matter**”

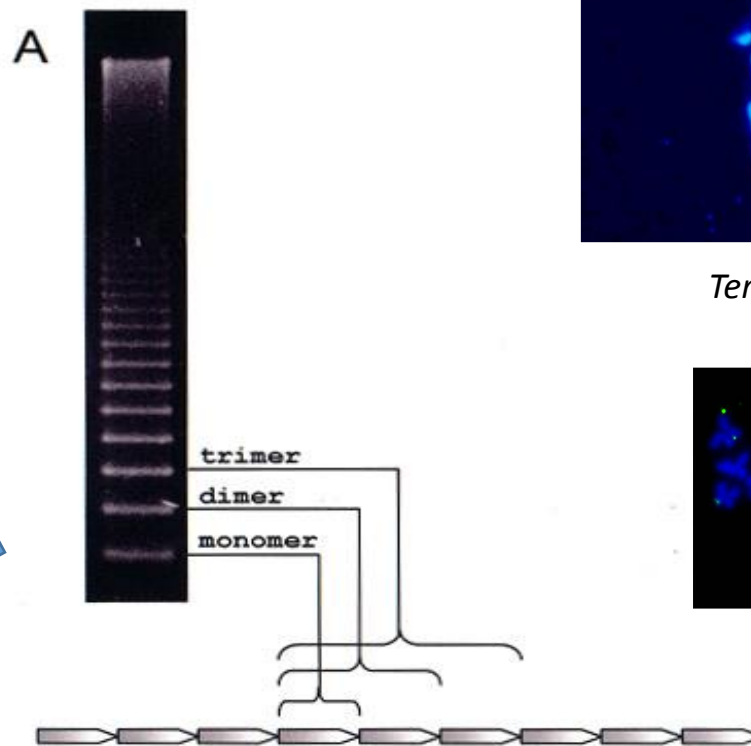
Ostatak: nekodirajuće sekvence DNA, često segmenti DNA ponovljeni u velikom broju kopija;
uzastopno i raspršeno ponovljene sekvence

Genom je puno veći nego što je potrebno za same gene

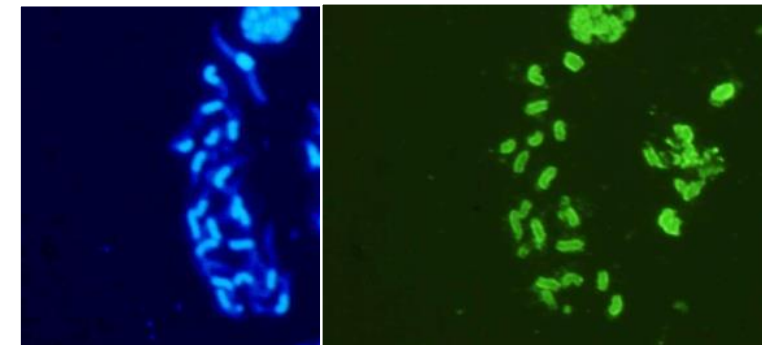
Mali broj gena u genomima, < 2%



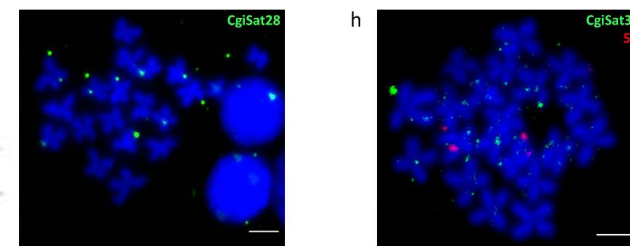
Ostatak: nekodirajuće sekvence DNA, često segmenti DNA ponovljeni u velikom broju kopija;
uzastopno i raspršeno ponovljene sekvence



Uzastopno ponovljene
(satelitne) DNA; čovjek
Oko 30%



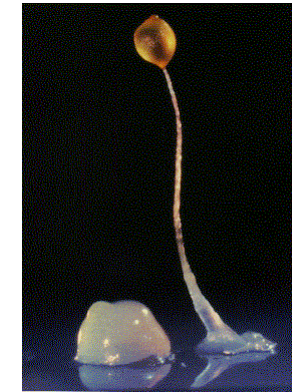
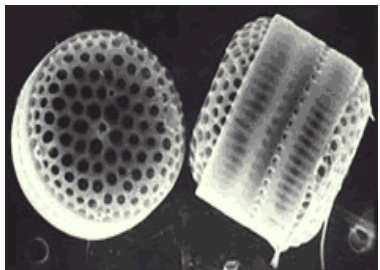
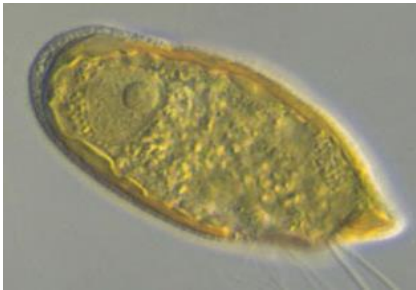
Tenebrio molitor, 142 bp; >30%



Crassostrea gigas – up to 1-2% makes
total of 52 different satellite DNAs

Rješenje: **Genomski projekti** - odrediti sekvence DNA cjelokupnog genoma

Središnje pitanje: “Koja je biološka uloga svakog pojedinog i svih gena zajedno?”



Cilj: **rekonstrukcija nukleotidnog slijeda DNA u kontinuitetu, onako kako je na kromosomima**



Human Genome Project

➤ projekt pokrenut 1990. godine s ciljem određivanja nukleotidnog slijeda koji čini ljudsku DNA (humani genom)

- prva verzija sekvence DNA čovjeka: Nature, početkom 2001.

Koliko ljudski genom sadrži gena?

1970. Sci. Amer. Oct. 19/1 The human genome consists of perhaps as many as 10 million genes. (???)

1990. godine ~ 110 000 – 150 000 gena

2001. godine ~ 30 000 – 35 000 gena

2004. godine ~ 20 000 – 25 000 gena

2006. godine ~ 22 000 gena

Gen je segment molekule DNA koji određuje građu proteina.



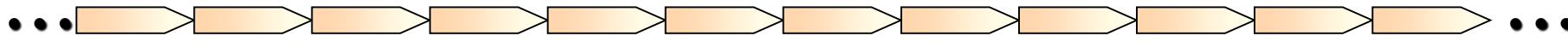
Danas: **Procijenjen broj gena čovjeka i svih sisavaca je podjednak, oko 22 000**

ALI IPAK: postoje i različiti geni, razlike u organizacije genomskih segmenata i nekodirajućih DNA

“Despite all the celebrations associated with the sequencing of the human genome, and the genomes of other model organisms, our abilities to interpret genome sequences are quite limited. E. g., we cannot understand the orchestrated activity of many thousands genes in any given cell just on the basis of DNA sequences, such as promoter and enhancer elements. How are the profound differences in gene activities established and maintained in a large number of cell types to ensure the development and functioning of a complex multicellular organism?”

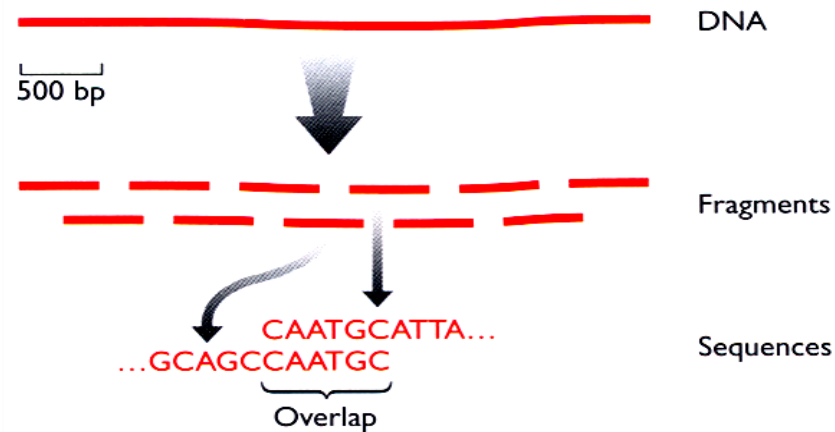
Cremer and Cremer, Nature Genetics 2, 2001, 292-301

Genomic projects often omit large segments of repetitive DNAs (dark matter; 98%!)



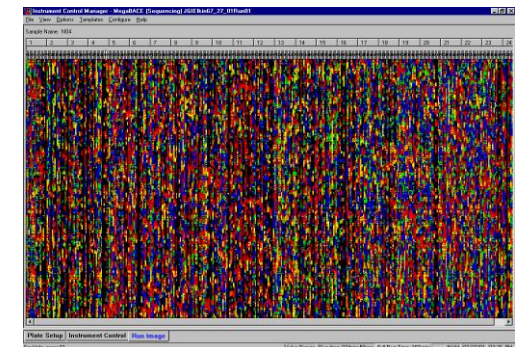
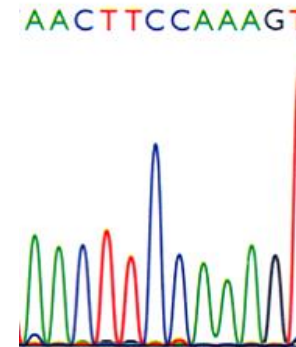
Monomers: e.g. 160 bp long repeated in large numbers, usually differ <5% in the nucleotide sequence

E.g. insect *Tribolium castaneum*: major satellite DNA makes up about 17% of the genome (based on restriction analysis and cloning), in the genome assembly (Nature 2008.) is <0,5%



Sequenced fragments is often difficult to overlap due to the high similarity of repetitive units

Automatizacija, kapilarni sekvenatori, baze podataka, informatička analiza itd...



Next Generation Sequencing, NGS (Illumina): short reads, high throughput, low cost

Specialized bioinformatics tools: **Assembly-free strategies** for repetitive DNA analyses

Since ~ 2010 on: How many satDNAs are in a genome? **satellitome, repeatome**

Cluster	Genome Proportion [%]	Genome Proportion Adjusted [%]	Size real	Satellite probability	Consensus length	Consensus	Graph layout	
1	CL1	9.300	32.000	13887	0.0416	166	AGCCGTAAGTGGAGAAATAAATAAAATCAAAATTTATAAAAGTAAAAATAGTTCATAATTCAAAACTATTAGGAA TACTGCGATTTTTTTGACTTCAATCGATTGCGCTGGATCATTTTGCATCGGCAAGGTCCAATAGTTCCTACTGTTTCGAA TAGTAT	
2	CL2	4.100	4.100	6177	0.0331	225	TATTATTAATTCGAAGAAACGGCTATTTCGAACGATTCCTAGCTTCGAACCGCAAAAGCTTTACAAACATACCTGAA AACGCTTTATCTCGCTCAAAAGAACGATTGATGCAATAATTTGGAGCAAGGGCAATTTTGAAGATTTTTTGTGCTTA GAATCCAGTAAACTTATATAATCAGACGAAACGCTCTAGTTCGCTTCAAAAAAGCGATATA	
4	CL4	1.400	1.400	2147	0.2700	1110	CTTAHAATCGAAGCTAGTGACTCTTTTCTACTTTTAAACACTCTAGAGGGTTGTATAGCATAGAAATGTCCATAAAC TTTGATAGAGTGAGTAAAAAAATTAATTTTTTCAATTTTGTGAAGGTAGTTCCTGACCAATTAATTTTTAGCA AAAAATTTCAAAATTTTAAATCTCATGAAAGTTAATAATACGTAGAATGAGCGCGAGAATTCACCTGGAACAAACGGT TTTGCTCTACGACTTTTGAATTTTAAAGTTATGAATTTTTTGTAGTTTAAACTTTAAATGCTCTGTACCCGGAACCGTG CCCGAGGCGGCTCCGGGTTTTGACGAGAAAATAGATAATTTTAAAGCGCTATCCGATGCTTTATGAAATTTGCTCTAAGT CTTATAGTTTCCGAGAAAAAGCGAAAAAGGTTGCAATTTTCACTTTTCTAATTTTTTAAACGCGGATTACGGCGAAA CTATAGAGTTTGAAGAAAAAGCGAAAAAGGTTAGAGCGGTATAAAAAGCTTACAAACTGGCATAGGTTTCAAGGCG ATATCTCGCAAAAAATTTTCAATTTTCAACGCTGATTACGGCAAACTAAAGAGCTAGAGAAAAAGCGTTTACCTCCA TTGTAAGAGACCATCAAAATCTATAGATAGGATGGGTTGAATGATTTTGAACACTTTAAAAATGGCCATTTTAA AGGGGGGGGTTTAAACAAATTTTCAATTTTTTATTCTCTATTACGGCTAAACTATTCGAAAAAGTGGCACTATT AATCTTACCTATGCAAAATGATCCGGGAATCGATTGGGCTGAGAAAAATCGCCAAATTCCTAATAGTTTTTGTAGTTAT GAATTTTTTAAATTTGACCTACTTTTGTGATTTTTTCAAAATTTCTCGAAAACTATAAGTCGGAGAACATAATCTTTT TTGAAAAAGATAGACATTAAGAGAGCTTTTCAACGATAATAAATCTTATGGGGTTATCTCTAATAGTTCGCGAGTATT GCTGATAAATGTTCCGGGATCCGAAATCGCAAACTGGCAAAATGAAAAATCAAAAT	
33	CL33	0.081	0.081	122	0.0884	112	GAGTTTATTCGAGCAATCTTTGCTTGAATGAACAACTCTATAAACTCACTGAAAGGCTTAATCTCTCTCGA AAGAAGATTTTTTTTACAGTTTGGATGAAA	

species	number of satDNAs	% of the genome	most abundant satDNA (%)
<i>Xyleus discoideus angulatus</i>	18	2.32	0.62
<i>Ronderosia bergii</i>	53	2.44	0.43
<i>Vandiemena viatica</i>	129	-	1.48
<i>Ostrinia nubilalis</i>	4	0.27	0.15
<i>Cydalima perspectalis</i>	1	0.14	0.14
<i>Diatraea postlineella</i>	2	0.06	0.04
<i>Diatraea saccharalis</i>	14	0.215	0.057
<i>Hippodamia variegata</i>	30	14.93	9.37
<i>Rhodnius prolixus</i>	39	8	2.13
<i>Rhynchophorus ferrugineus</i>	112	25	20.4
<i>Spodoptera frugiperda</i>	7	0.65	0.23
<i>Crassostrea gigas</i>	52	6.33	1.29
<i>Pontastacus leptodactylus</i>	258	27.57	10.91

Insects

Other inv.

Satellitomics, comparative satellitomics

Combined by FISH, and improved genome sequencing

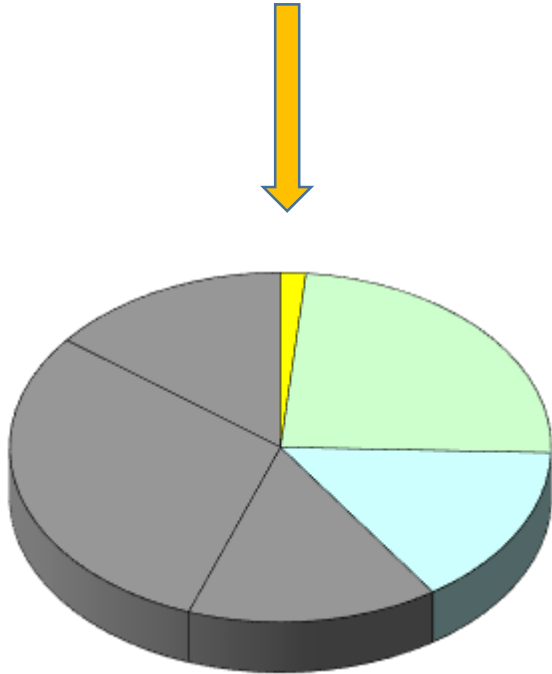
Šatović-Vukšić, Plohl 2023

<https://doi.org/10.3390/genes14030742>

„Mendelovi zakoni bili su korijeni genetike, ali – nasljednost, križna razmjena, učinak položaja koda i još mnogo toga – bio je to samo **mali dio genetičkog iskustva koje se može opisati klasičnim zakonima.**”

OTS, str. 166

Mali broj gena u genomima, < 2%



To do is to be -To be is to do

Socrates, Aristotle, Plato, Kant, Nietzsche, Sartre, Descartes, Voltaire

Ključne za funkcioniranje gena i genoma u cjelini, evoluciju genoma i interakciju s okolišem

- functional elements of the centromere and telomere
- chromosome pairing and segregation
- condensation of heterochromatin
- transcription, protein binding
- regulation of gene expression
- structure of interphase nucleus (CT-IC model)
- sites of insertion of other sequences
- reproductive isolation and speciation
- stress response, recovery, aging
- genome reorganizations and evolution
- link environment and genome
- other structures / processes...

Third Generation (long-Read) Sequencing (PacBio and Oxford Nanopore): reads > 100 000 bp; read and assembly of large repetitive regions, e.g. Centromeres (> Mb) (extensive use 2015 – on)

Possible nearly gap-free end-to-end chromosome reconstruction

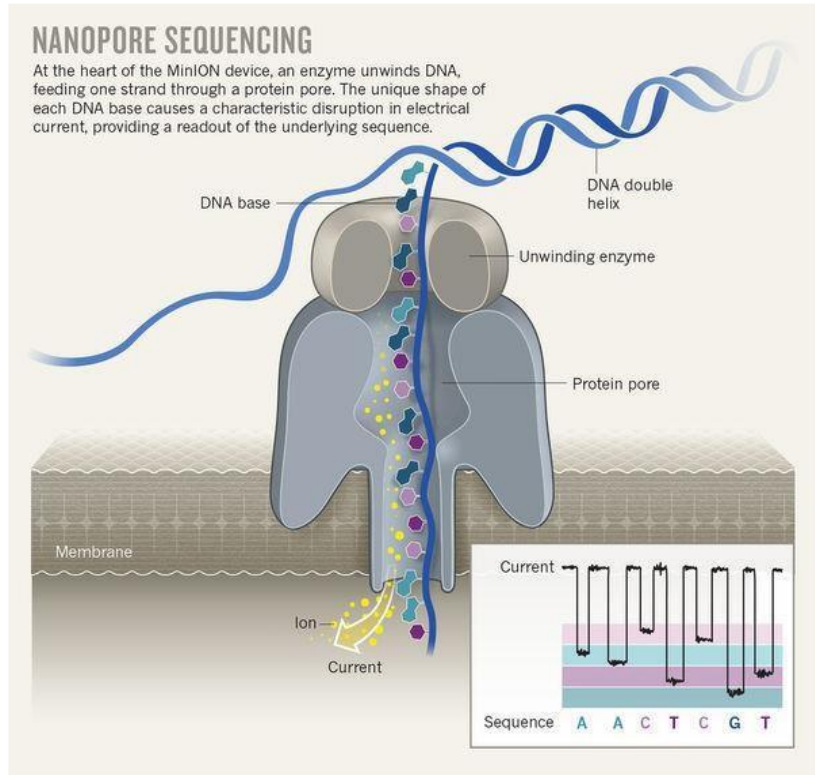
The complete sequence of a human genome. Science 2022

Nanopore technology

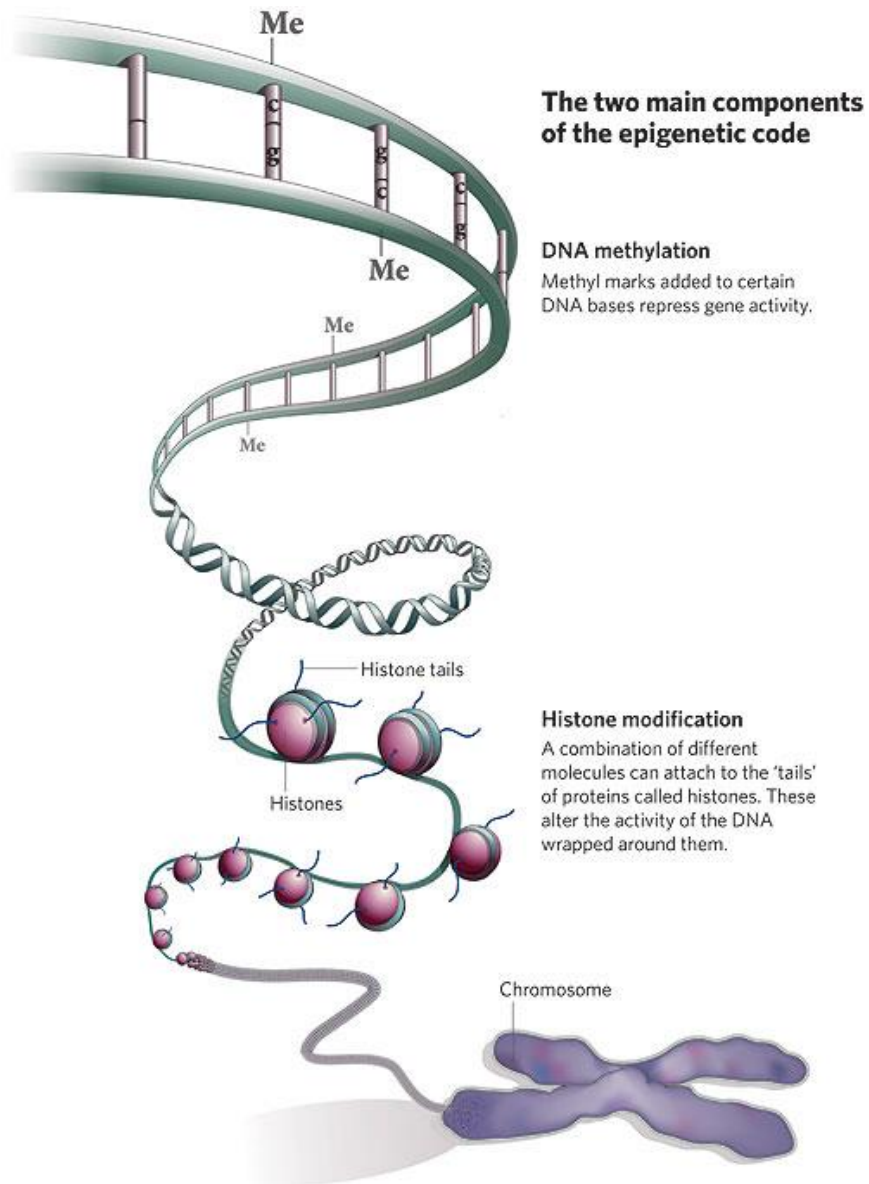
Telomere to telomere assembly - T2T consortium

21 years after the first presentation of „completed” human genome!

T2T sequences of other genomes are on the way...



Ali to nije sve...



Epigenetika i epigenomika

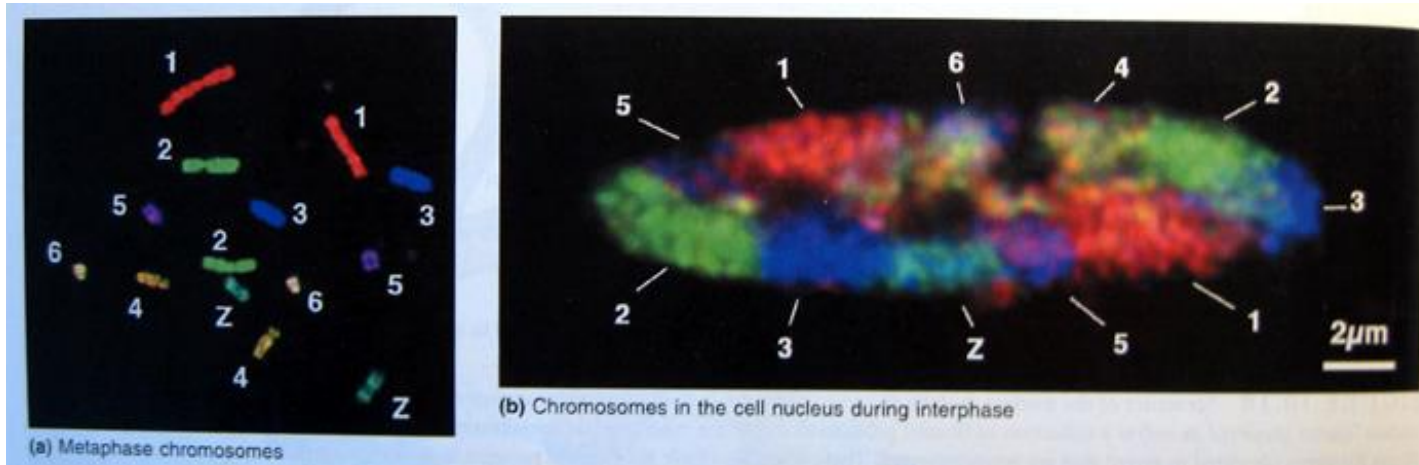
Epigenetika: kemijske modifikacije DNA i proteina s kojima je u asocijaciji: metilacija, fosforilacija, acetilacija i druge

Mogu biti stečene, nasljeđivati se, ali i uklanjati se bez mijenjanja slijeda parova baza u DNA

Adaptacija genoma kao odgovor i veza s uvjetima života (stres, starenje, patološka stanja itd.)

promjene u metilaciji DNA bi mogle biti važne u etiologiji šizofrenije

Procesi vezani uz formiranje i održavanje kondenzacije kromatina



Pravilan raspored kromosoma u interfaznoj jezgri, značaj u regulaciji genske ekspresije

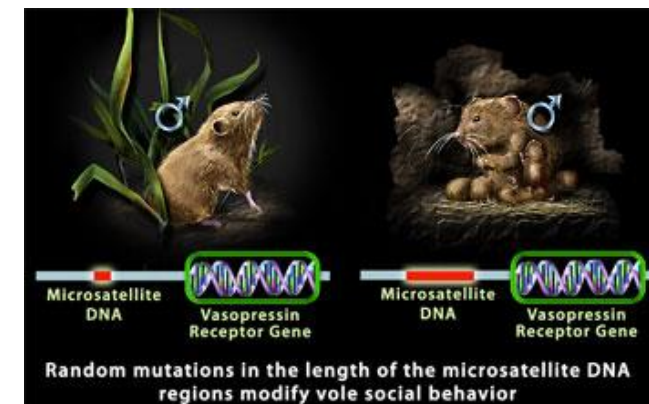
Složeni raspored genskih i negenskih sekvenci doprinosi pravilnom razmještanju pojedinih genskih sklopova u jezgri i pravilnoj ekspresiji velikih genskih sklopova u vremenu i prostoru.

Potrebna su još brojna detaljna istraživanja da bi se shvatilo kako genom i organizam funkcioniraju u cjelosti.

Utjecaj mikrosatelita na socijalno ponašanje južnoameričke voluharice (rod *Microtus*)



unutarvrсна varijabilnost utječe na gensku ekspresiju



The Role of Human Satellite III (1q12) Copy Number Variation in the Adaptive Response during Aging, Stress, and Pathology:

A Pendulum Model. Genes 2021

<https://doi.org/10.3390/genes12101524>

gen FOXP2: “gen za govor”

točkasta mutacija uzrokuje razvojni poremećaj sposobnosti govora

inaktivacija jednog homologa dovodi do značajnih poremećaja u govornim sposobnostima

minimalna promjena: dvije mutacije kod čovjeka mijenjaju dvije AK



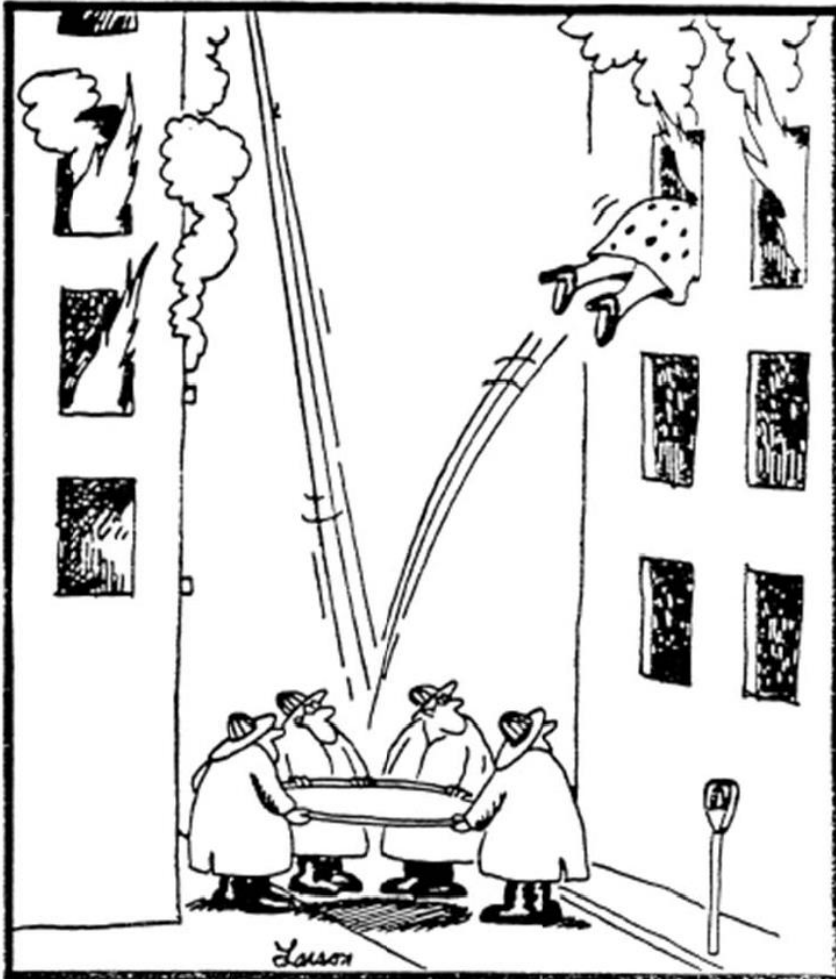
Opća teorija sustava – osnove, razvoj, primjene (1968.)

„organizmička koncepcija osnova je moderne biologije. **Nužno je proučavati ne samo izolirane dijelove i procese nego i rješavati presudne probleme organizacije u cilju povezivanja dijelova.**”

OTS, str. 26

To do is to be -To be is to do

Socrates, Aristotle, Plato, Kant, Nietzsche, Sartre, Descartes, Voltaire



Artist:
Gary Larson

Lacking a Systems Perspective... the solution to one problem can easily lead to a new and bigger problem later on or somewhere else in the system



Kako povezati?

povijest

filozofija

tehnika

simpozij u spomen
na prof. dr. sc. Zvonka Benčića

biologija, molekularna genetika

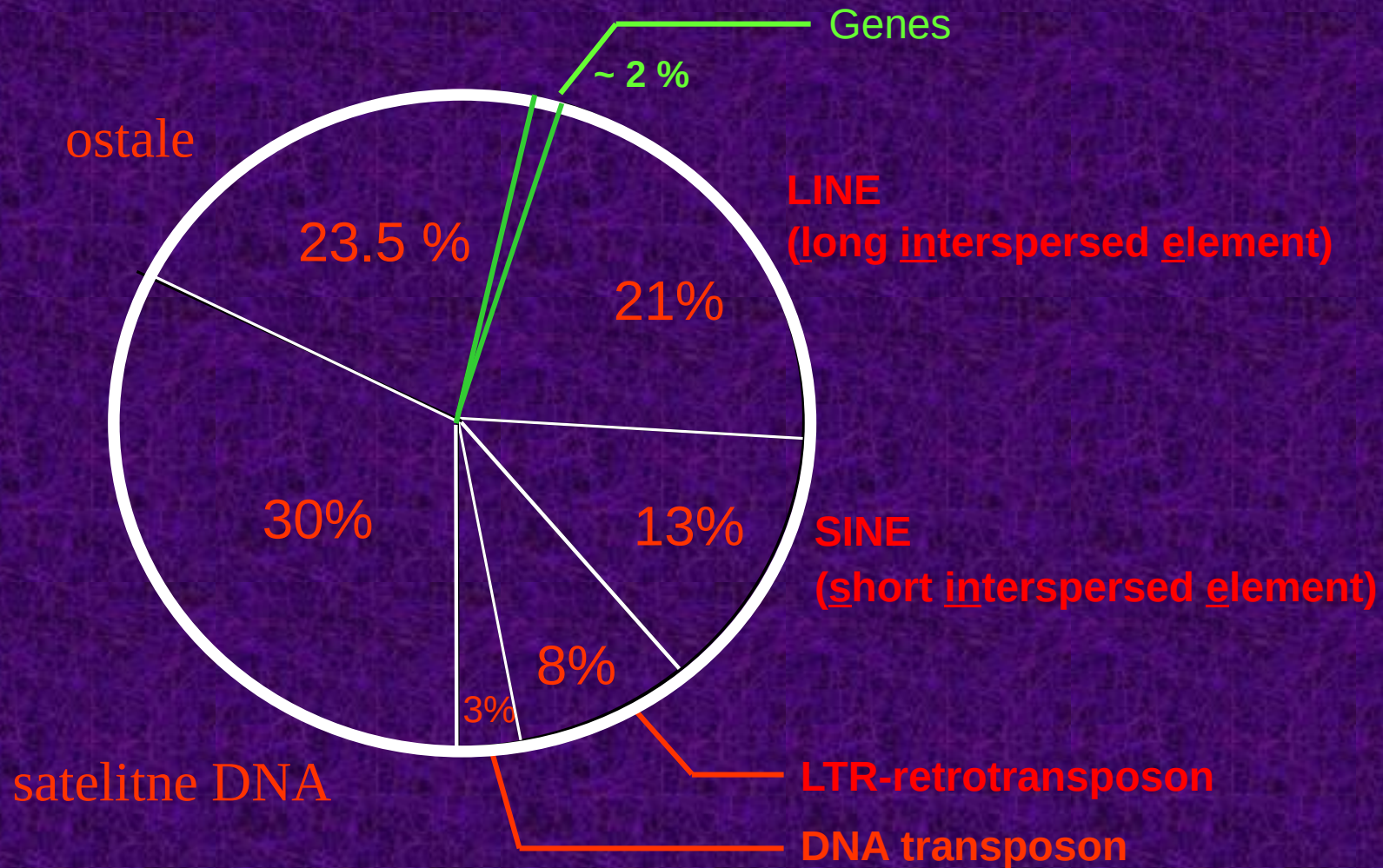
Kratki pregled istraživanja genoma
u svjetlu Opće teorije sustava

Prof. Miroslav Plohl, dr. sc.
Emeritus Instituta Ruđer Bošković



3. Gena ima relativno malo; što je ostatak?

ljudski genom

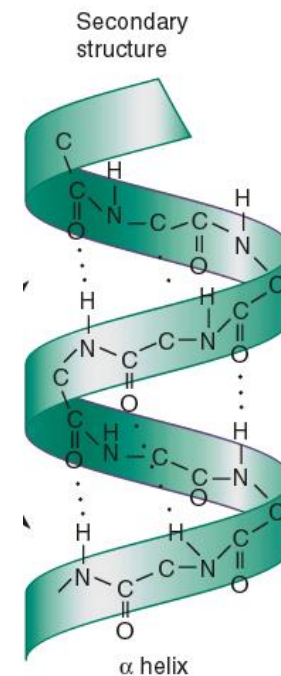


Put genetičke informacije



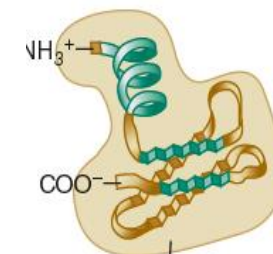
„središnja dogma molekularne genetike”

Geni koji kodiraju proteine čine oko 90% od ukupnog broja gena.



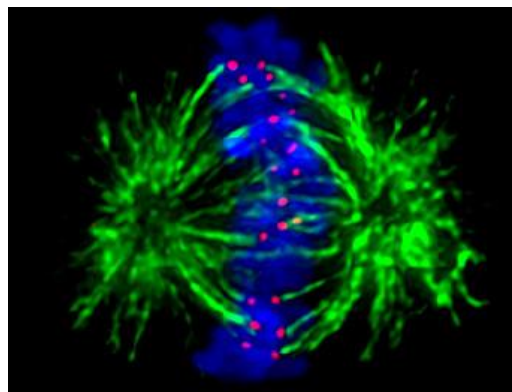
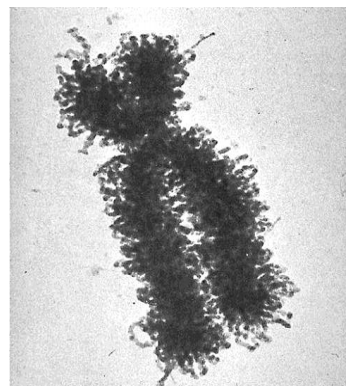
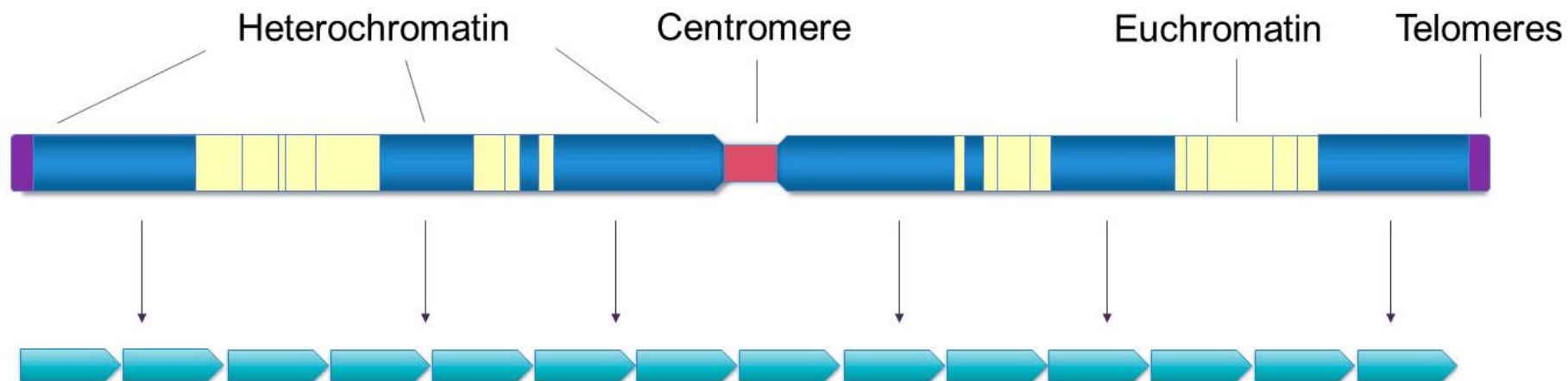
Polipeptidni lanac
(niz aminokiselina)

Tertiary structure



3D struktura: funkcionalni protein

„Klasičan” model rasporeda satelitnih DNA

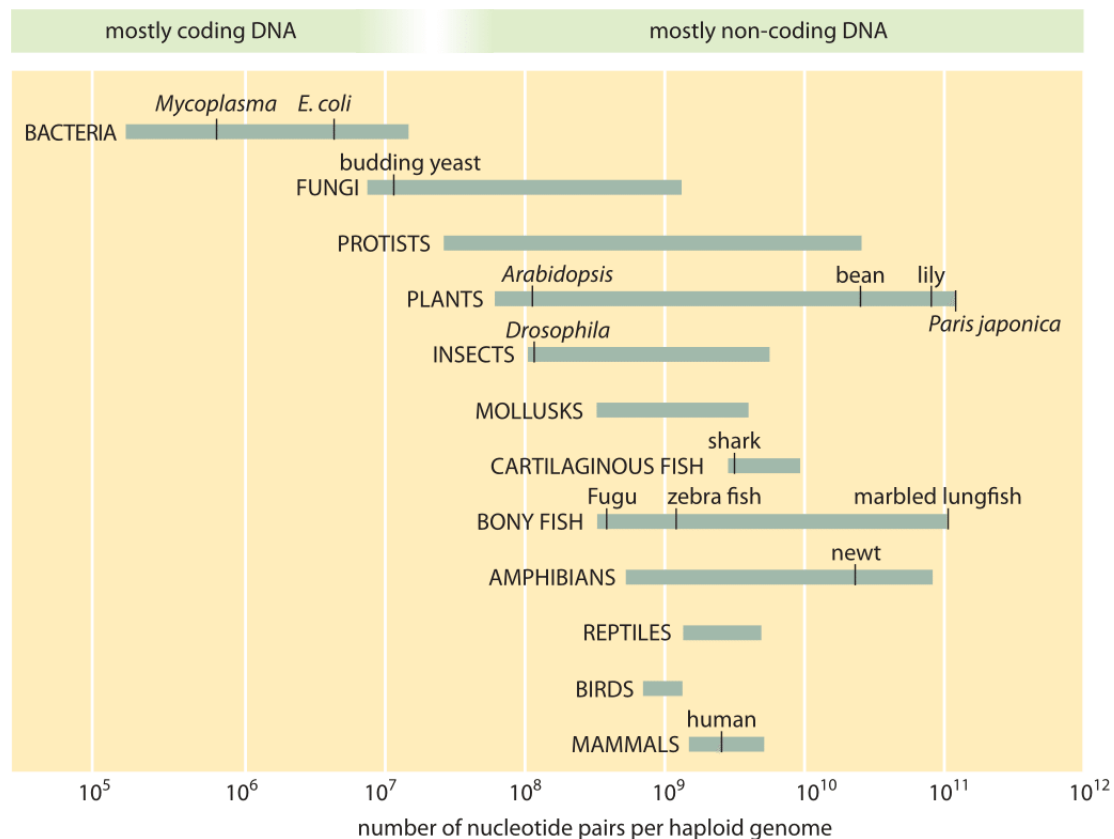


**Centromerna područja: ključna za diobu stanice,
tako da svaka dobije potpunu kopiju svih kromosoma.**

Genom je puno veći nego što je potrebno za same gene

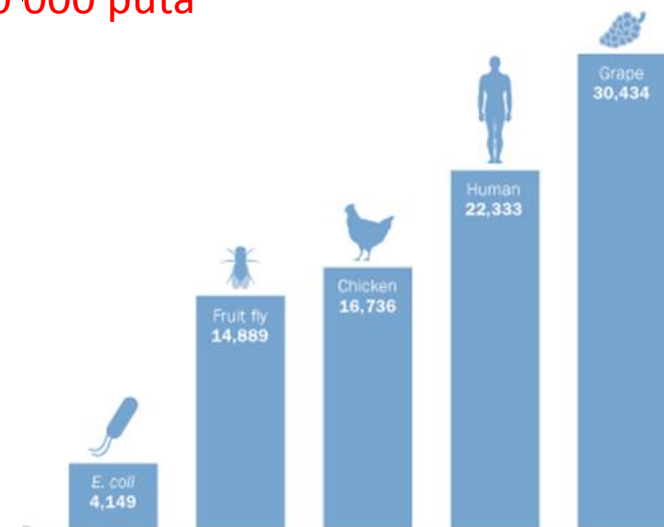
Velike razlike u veličini genoma uključivo blisko srodnih vrsta!

Genome Size Comparisons



„paradoks C-vrijednosti”

veličina genoma ne slijedi složenost organizma,
odnosno srodstvene odnose: ne računajući
bakterije, razlika je ~ 80 000 puta



razlika u broju gena ~ 15 puta