

Skördetid för genomforskningen

Det humana genomprojektet, som kartlägger våra gener, har fört med sig att man också börjat samla total information om hur gener uttrycks som mRNA och proteiner. Utnyttjandet av den genetiska information som samlas in i databaser fyrfaldigas varje år. Värde av denna genetiska kunskap visar sig i att en rad genomföretag bildats, samtidigt som läkemedelsföretag lärt sig använda genomforskning. Också inom sjukvård börjar tillämpningar bli tydliga.

Det internationella genomprojektet, i Europa, ofta kallat HUGO-projektet, har nu varit i drift under ett decennium. Arbetet syftar i första hand till att fastställa hela informationsinnehållet i vår arvs massa, och det är i de flesta avseenden en stor framgång. Den storskaliga ansatsen har visat sig erbjuda påtagliga fördelar i fråga om ekonomi och på grund av den kompletta information som blir tillgänglig. Detta har motiverat ett arbete som inriktas på att också insamla total information om hur gener uttrycks som mRNA och som proteiner.

Den insamlade kunskapsgrunden utgör en oundgänglig resurs för biologisk och medicinsk forskning, och de forskningsmetoder som utvecklats gör det nu möjligt att snabbt studera ett stort antal genetiska egenskaper. Ett åskådligt tecken på det värde genomforskningen tillmätts är att en rad genomföretag snabbt har vuxit upp, samtidigt som etablerade läkemedelsföretag också har lärt sig utnyttja genomforskning. Även inom sjukvården blir tillämpningar tydliga, om än i långsammare takt än

inom grundforskning och läkemedelsindustri.

Nya läkemedel med farmakogenomik

De mängder genetisk information som ackumuleras vid genomforskning, liksom de metoder som utvecklats för ändamålet, har fått viktiga konsekvenser för läkemedelsindustrin i form av det som kallas farmakogenomik. Det handlar här ofta om att hitta nya »drug targets», det vill säga proteiner mot vilka det kan löna sig att utveckla nya läkemedel. Än så länge är bara cirka 500 av kroppens proteiner föremål för läkemedelsbehandling, vilket betyder att vi saknar mediciner för att modulera funktionen av de flesta av våra cirka 100 000 gener.

Läkemedelsindustrin utnyttjar också metoder hämtade från genomforskningen för att snabbare utvärdera nya farmaka, till exempel för att jämföra dem med etablerade läkemedel vad gäller effekter på gennuttryck. På det viset kan man få en bra bild av läkemedlets effekter och toxiska egenskaper.

Det blir också allt viktigare att undersöka i vilken mån genetisk variation bland patienter kan förklara deras olika svar på behandling. Denna mer klassiska farmakogenetiska forskning är numera inte begränsad till variation i gener som styr hur läkemedel omsätts. Man intresserar sig alltmer för att också undersöka genetisk variation i gener som kodar för de proteiner som läkemedlen skall verka på. Avsikten är att indela patienter i grupper med olika förväntade sätt att reagera på ett visst preparat, för att därigenom kunna effektivisera läkemedelsprovningar och skraddarsy behandling.

Parallella genetiska analyser

Det ökande utnyttjandet av genetiska analyser ställer höga krav på analysmetoderna. Det blir allt vanligare

Analys av DNA-sekvens.

att mycket stora mängder genetisk information insamlas från prov. Ett exempel är när genetiska varianter av många olika gener studeras i sökandet efter genetiska förklaringar till vanliga sjukdomar. För närvarande karaktäriseras mänsklighetens genetiska normalvariation i snabb takt, och det gäller såväl våra gener som våra DNA-sekvenser utan känd funktion. Den vanligaste typen av DNA-sekvensvariation består i utbyten av enstaka nukleotider, så kallade singel-nukleotidpolymorfismer, eller SNP.

Med kännedom om genetiska normalvarianter är det möjligt att söka efter förklaringar till ärftliga mekanismer vid de stora folksjukdomarna, antingen med hjälp av genetisk kopplingsanalys i familjer, eller genom att studera stora grupper av patienter och kontroller, för att söka efter association mellan speciella genetiska varianter och den sjukdom som studeras. Båda dessa typer av studier förutsätter tillgång till mycket omfattande, genetiskt och medicinskt

Författare

ULF LANDEGREN

professor, institutionerna för genetik och patologi, och för medicinska vetenskaper, Uppsala universitet.

FOTO: ANDY SACKSTON/STONE IMAGES

Begrepp inom genomforskningen

Genomforskningen har sin egen begrepps värld. Nedan följer en beskrivning av några termer som berörs i artikeln.

Genomik avser studier av det totala informationsinnehållet i en arts eller en individs arvs massa – dess **genom**.

I avvaktan på att den totala sekvensen för människans genom blir tillgänglig, inom bara något år, så har det varit viktigt att ha vägmärken i arvs massan för att kunna orientera sig översiktligt. **STS** uttyds »sequence tagged sites» och utgör DNA-sekvenser på några hundra nukleotider, vilkas placering utefter kromosomerna är känd, och som enkelt kan påvisas, till exempel med hjälp av polymeras-kedjereaktion (PCR). **EST**, eller »expressed sequence tags», är på liknande sätt korta DNA-sekvenser som utgör delar av gener, vilka uttrycks som mRNA i olika vävnader.

Vid genetiska studier är det av uppenbart intresse att känna till vilka genetiska skillnader som finns mellan olika individer. Den vanligaste typen av genetisk variation betingas av utbyten av enstaka nukleotider, så kallade singel-nukleotid-polymorfismer, eller **SNP**. Det är vanligt att sådana genetiska skillnader är be-

lägna i de delar av arvs massan som inte uttrycks som gener, men för de flesta mänskliga gener verkar det finnas ett antal normalvarianter, som gör att också proteiner skiljer sig åt mellan olika individer.

Den totala mängden DNA-sekvenser som transkriberas till mRNA någonstans i kroppen under något utvecklingsstadium kallas **transkriptomet**. I analogi med detta begrepp avser **proteomet** totaliteten av olika proteiner i kroppen. **Proteomik** är alltså studiet av alla dessa proteiner, utan särskilt fokus på något speciellt protein.

Farmakogenomik avser utnyttjande av genomisk information och metodik för att hitta nya läkemedel, eller för att utvärdera dessa. **Farmakogenetik** går ut på att undersöka hur genetisk variation mellan individer påverkar deras svar på läkemedelsbehandling.

DNA-mikroarrayer kallas ibland också DNA-chips. Dessa undersökningsredskap består av uppsättningar av DNA-prober som är placerade i definierade positioner på en yta. DNA- eller RNA-prov som sätts till sådana arrayer kan undersökas med avseende på många olika målsekvenser på en gång genom att man

studerar vilka av de utplacerade proberna provet reagerat med. DNA-mikroarrayer utnyttjas både för att leta efter sekvensvarianter och för att mäta antalet kopior av olika DNA- eller RNA-sekvenser.

Funktionell genomik avser övergripande studier av hur gener fungerar i celler eller i organismer.

Mycken viktig information om enstaka gener och om hela genom kan man få genom **komparativ genomik**, där man jämför arvs massan hos olika organismer. Komparativa genomstudier kan utnyttjas för att påvisa vilka DNA-sekvenser som tenderat att bevaras i evolutionen, och som därför kan anses särskilt viktiga, och de gör det också möjligt att snabbt tillämpa genomkunskaper om en art vid studier av andra arter.

Bioinformatik avser å ena sidan insamlande och arkiverande av genomisk eller annan biologisk information, å andra sidan analys av sådan information för att öka biologisk kunskap. På grund av den stora mängd information som finns lagrad i databaser så kan alltmer biomedicinsk forskning utföras genom att man modellerar processer eller letar efter molekyler »in silico» i stället för med biologiska experiment.

vilkaraktäriserade patientgrupper, vilket exemplifieras av att hela Islands befolkning rekryterats som ett slags genetiska försökspersoner av företaget DeCode Genetics.

Ett annat exempel på parallella genetiska analyser gäller studier av i vilken utsträckning individuella gener transkriberas till mRNA i olika vävnader. Genom att mäta nivåer av mRNA-uttryck från tusentals olika gener får man ett känsligt mått på vävnadens funktionstillstånd, i analogi med hur man genom sänkingsreaktionen mäter nivå av serumproteiner som återspeglar inflammation. Studier av det som ibland kallas människans transkriptom ger inblickar i vilka gener som regleras på likartade sätt, och undersökningen kan få stort värde, både för att påvisa sjukdomstillstånd och för att följa upp behandlingsresultat.

Så kallade DNA-mikroarrayer är en viktig teknologi som kan användas vid dessa omfattande genetiska analyser. Man låter då DNA- eller mRNA-prov reagera med uppsättningar av tusentals olika DNA-prober som placerats i ett mikroskopiskt ruttmönster på en glas- eller kiselyta, för att sedan undersöka vilka av proberna som har bundit specifikt till molekyler i patientprovet. För närvarande utnyttjas mest så kallade hybridiseringsprober vid dessa undersökningar, men nästa generations DNA-mikroarrayer kommer att ha betydligt bättre förmåga att analysera

DNA- eller RNA-sekvenser genom att utnyttja andra molekylära principer, såsom enzymatiska polymeriserings- och ligeringsreaktioner. Detta är för övrigt ett område som min egen forskningsgrupp arbetar med.

Studier av det mänskliga proteomet

Framgångar med övergripande studier av både genom och transkriptom har inspirerat till motsvarande undersökningar på proteinnivå, så kallade proteomstudier. De flesta av de tusentals gener som uttrycks i ett givet cellslag kan översättas till många distinkta proteinvarianter, och dessa kan ha delvis olika funktioner. De olika formerna skiljer sig åt bland annat genom att de representerar olika splitsningsvarianter av generna och därigenom att proteiner modifierats på olika sätt, till exempel genom att fosforyleras och glykosyleras.

Även på proteomområdet är det därför av uppenbar vikt att samtidigt kunna undersöka mycket stora antal specifiteteter i ett prov. Detta har lett till ett förnyat intresse för tvådimensionell proteingelelektrofores som undersökningsmetod. Tekniken kombineras nu med bland annat masspektrometri (MS). Det är möjligt att utläsa vilken genprodukt en fläck på en gel motsvarar genom masspektrometri, tack vare databaser som förtecknar förväntade analysresultat för kända gensekvenser. Nu

knyts det förhoppningar till protein-mikroarrayer, som motsvarar DNA-mikroarrayer och som kan möjliggöra samtidig kvantifiering av stora antal proteiner i individuella prov. Här har teknologin inte kommit så långt, men framtida effektiva metoder har förutsättningar att få stort genomslag inom såväl forskning som klinisk rutin.

Funktionell och komparativ genomik

Studier av gener och av deras mRNA- och proteinprodukter aktualiserar behov att också undersöka dessa gener funktionellt, för att se hur deras produkter samverkar vid normala cellulära processer eller vid sjukdom. Här tillämpas det storskaliga genomtänkandet i form av det som kallas funktionell genomik. Ett exempel på detta är att företaget som Lexicon Genetics nu erbjuder omfattande paneler av prefabricerade, genmodifierade embryonala stamcell-linjer som kan användas för att snabbare framställa musstammar med mutationer i gener av intresse.

Vidare har de slutförda genomprojekten för jäst och för rundmasken *Caenorhabditis elegans* fått stor betydelse för funktionella och komparativa genomiska studier, eftersom viktiga cellbiologiska mekanismer ofta är likartade även hos radikalt olika organismer. Läkemedelsföretag med intresse att hitta nya angreppsvägar vid sjukdomar kan därför med fördel studera de

aktuella processerna hos rundmasken, eller den än så länge ofullständigt sekvensanalyserade bananflugan, innan man griper sig an med att utveckla läkemedel för mänskligt bruk. Bland annat utnyttjar företaget Exelixis dessa två organismers välutvecklade genetik och utvecklingsbiologi för att söka efter och karaktärisera »drug targets».

Bioinformatik och genomföretagsamhet

Utvecklingen inom DNA-sekvensning och detektion av genetiska varianter, liksom av transkript och proteiner, gör att data nu insamlas i hastigt ökande takt och till kraftigt reducerade styckepriser. Den samlade genetiska informationen i databaser fördubblas för närvarande var nionde till tolfte månad, och av ännu större vikt är att utnyttjandet av dessa databaser nu fyrfaldigas för varje år.

Företag som lever på att generera och tillhandahålla genetisk information avsätter en mycket stor del av sina resurser för att framställa programvaror som underlättar för deras kunder att tolka de mängder av genetiska data de bjuder ut. I ökande utsträckning blir det på detta vis möjligt att utföra biomedicinsk forskning »in silico», det vill säga utan laboratorieexperiment eller kliniska undersökningar. Individer med bioinformatisk kompetens att effektivt vaska fram förklaringar till viktiga biologiska problem i de enorma dataflödena har blivit en bristvara.

Ett problem av annat slag är att mycket av den insamlade informationen får begränsad tillgänglighet genom att den patenteras, bevaras som industrihemligheter eller endast erbjuds till mycket kapitalstarka intressenter, framförallt då läkemedelsbolag. Detta exemplifieras av hur DNA-sekvenser på några hundra nukleotider i form av så kallade STS- eller EST-markörer, eller genetiska polymorfismer, som SNP-markörer, nu patenteras för den händelse att de kommer att visa sig vara viktiga diagnostiska redskap.

Vidare avser både företaget Incyte och det nystartade Celera att på kommersiella villkor sekvensbestämma det mänskliga genomet före de offentligt finansierade programmen, för att bli först med att kunna utnyttja speciellt lukrativa fynd. Dessa utmaningar har dock tagits upp av stora genomforsknings-sponsorer, som USAs National Institutes of Health och Englands Wellcome Foundation. De satsar ökade resurser för att se till att så mycken information som möjligt snabbt blir offentligt tillgänglig, både när det gäller DNA-sekvensinformation och genetisk variation.

På en nationell nivå har Sverige ett

mer blygsamt och hårt fokuserat genomforskningsprogram, understött av Strategiska Stiftelsen, men det är glädjande att se att det också finns en viss genomforskning i landet inom ramen för andra projekt, och att läkemedelsindustrin inom landet visar ett ökande intresse för genomforskning. Vidare lever Sveriges traditionellt starka metodologiska kompetens vidare, och har också avsatt spår i form av nystartade företag med intressen i genombranschen, som Uppsalaföretagen Eureka och Pyrosequencing. Kombinationen avancerad teknologi och en relativt homogen, medicinskt välundersökt befolkning kan ge intressanta möjligheter när det gäller att studera genetiska sjukdomsmekanismer.

Genanalys kommer till kliniken

Vid sidan av de resultat som blir tillgängliga genom bland annat farmakogenomisk forskning så får genomiken också direkta tillämpningar inom sjukvården. Än så länge används dess resultat och metoder huvudsakligen vid diagnostik av klassiska genetiska sjukdomar. Dagens genomdatabaser är framförallt inriktade på att erbjuda stöd för forskningstillämpningar, men kataloger över kända mutationer, kombinerade med information om deras kliniska konsekvenser, finns tillgängliga på Internet för ett ökande antal mänskliga gener, och kan vara till hjälp vid bedömningen av påvisade genetiska förändringar hos enskilda patienter. Detta är en utveckling som kommer att fortsätta i ökande takt.

Allt eftersom genetiska mekanismer klarläggs vid våra vanligare sjukdomar, och analysmetoderna effektiviseras, blir genetiska analyser allt viktigare redskap för att förklara sjukdomar, välja terapi och följa behandlingsförlopp.

Tre former av genetiska undersökningar som därmed får ökad betydelse kliniskt är: resekvensning, det vill säga sekvensanalys i syfte att påvisa eventuella förändringar i gener som är kända för att vara inblandade i specifika sjukdomar, till exempel vid tumörsjukdom; typning av kända genetiska varianter för att undersöka sjukdomsrisker eller för att välja individualiserad terapi; studier av i vilken grad olika gener uttrycks i en vävnad för att bedöma sjukdomsprocesser eller behandlings-svar. Samtliga dessa analyser kan komma att utföras med hjälp av DNA-mikroarrayer, men för dagen konkurrerar en mängd olika testutföranden, och analyserna utnyttjas i mycket begränsad omfattning.

En fjärde form av genetisk undersökning som ökar i betydelse är den där distributionen av gener och deras tran-

skript undersöks i celler, eller längs kromosomer, genom in situ-hybridisering.

Det som avgör hur snart genetiska analyser etableras som verkliga rutinedskap i kliniken är naturligtvis vilket värde analyserna får för handläggning av patienter, och detta är en fråga om hur enkla och säkra testerna blir, hur konkklusiva resultaten är, samt vilka behandlingar som finns att ta till, antingen bland dagens metoder eller med utnyttjande av helt nya principer. De närmaste åren kommer att bjuda på en spännande utveckling!

Summary

Harvest time for genomics research

Ulf Landegren

Läkartidningen 1999; 96: 3426-8

The article consists in a review of the human genome project, launched a decade ago to characterise the entire human genome. The project has proved highly successful, due both to the economy of so large scale an endeavour and to the value of gaining access to such an abundance of biological information. Accordingly, similar approaches have also been adopted in efforts to characterise the entire range of genes expressed as mRNA and as protein. Genomic information has become an invaluable asset to biomedical research, and both the information obtained and the methodology developed are now important adjuncts of pharmaceutical research. Applications in clinical medicine follow, albeit at a slower rate.

Correspondence: Professor Ulf Landegren, Departments of Genetics and Pathology, and of Medical Sciences, Uppsala University, SE-751 23 Uppsala, Sweden.