

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ŠTUDIJ BIOTEHNOLOGIJE

Nuša KAPUŠIN

**BIOINFORMATSKA ANALIZA INTERAKTOMA
GENOV UDELEŽENIH V URAVNAVANJE
METABOLIZMA MAŠČOB PRI EVKARIONTIH**

MAGISTRSKO DELO

Magistrski študij – 2. stopnja

Ljubljana, 2015

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ŠTUDIJ BIOTEHNOLOGIJE

Nuša KAPUŠIN

**BIOINFORMATSKA ANALIZA INTERAKTOMA GENOV,
UDELEŽENIH V URAVNAVANJEMETABOLIZMA MAŠČOB PRI
EVKARIONTIH**

MAGISTRSKO DELO
Magistrski študij – 2. stopnja

**BIOINFORMATIC ANALYSIS OF INTERACTOME OF GENES
INVOLVED IN REGULATION OF LIPID METABOLISM IN
EUCARIONTS**

M. SC. THESIS
Master Study Programmes

Ljubljana, 2015

Magistrsko delo je zaključek Magistrskega študijskega programa 2. stopnje Biotehnologije.

Komisija za študij 1. in 2. stopnje je za mentorja magistrskega dela imenovala prof. dr. Uroša Petroviča, za somentorja prof. dr. Simona Horvata in za recenzentko izr. prof. dr. Tanjo Kunej.

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednica: prof. dr. Branka JAVORNIK
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

Član: prof. dr. Uroš PETROVIČ
Inštitut Jožef Štefan, Odsek za molekularne in biomedicinske znanosti

Član: prof. dr. Simon HORVAT
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko

Recenzentka: izr. prof. dr. Tanja KUNEJ
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko

Datum zagovora:

Podpisani izjavljam, da je naloga rezultat lastnega raziskovalnega dela. Izjavljam, da je elektronski izvod identičen tiskanemu. Na univerzo neodplačno, neizključno, prostorsko in časovno neomejeno prenašam pravici shranitve avtorskega dela v elektronski obliki in reproduciranja ter pravico omogočanja javnega dostopa do avtorskega dela na svetovnem spletu preko Digitalne knjižnice Biotehniške fakultete.

Nuša Kapušin

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

ŠD Du2
DK UDK 601.2:576.34:575.112(043.2)
KG bioinformatska analiza/evolucijska ohranjenost/metabolizem maščob/genetika debelosti/ interakcijske mreže
AV KAPUŠIN Nuša
SA PETROVIČ, Uroš (mentor)/HORVAT, Simon (somentor)
KZ SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Študij biotehnologije
LI 2015
IN BIOINFORMATSKA ANALIZA INTERAKTOMA GENOV, UDELEŽENIH V URAVNAVANJEMETABOLIZMA MAŠČOB PRI EVKARIONTIH
TD Magistrsko delo (Magistrski študij – 2. stopnja)
OP XVI, 61, [37] str., 15 sl., 22 pril., 104 vir.
IJ Sl
JI sl/en
AI Prekomerna telesna masa oziroma debelost je kompleksno stanje, združeno z resnimi socialnimi in psihološkimi obremenitvami, ki lahko prizadenejo ljudi vseh starosti in socioekonomskih ravni. Pri posamezniku s prekomerno telesno maso se lahko pojavijo spremljajoče bolezni, debelost pa lahko predstavlja tudi psihosocialno stisko za človeka. Porast debelosti v sodobni družbi ima velik pritisk tudi na socialno zdravstvo. S povečevanjem števila znanstvenih raziskav na področju genetike debelosti in odkrivanju novih načinov njenega zdravljenja so se razvili tudi številni živalski modeli in podatkovne zbirke, ki nam kot orodje služijo pri raziskovanju debelosti. S pomočjo obstoječe podatkovne zbirke Genski atlas za debelost pri sesalcih (angl. *Obesity gene atlas in mammals*), bioinformatskega orodja GeneMANIA ter drugih podatkovnih zbirk in orodij smo preučevali evolucijsko ohranjenost interaktoma genov, udeleženih v uravnavanje metabolizma maščob pri evkarijotih, natančneje pri kvasovki, miši, podgani in človeku. Po posodobitvi Genskega atlasa za debelost pri sesalcih smo na podlagi genov, ki so zbrani v zbirki, s pomočjo orodja GeneMANIA izrisali interakcijske mreže genov, ki so domnevno vpleteni v razvoj debelosti oz. metabolizem lipidov. Mreže smo analizirali, gene, ki so imeli v interakcijskih mrežah centralno pozicijo, ki nakazuje domnevno visoko vpletjenost pri razvoju debelosti oz. metabolizmu lipidov, pa smo tudi laboratorijsko preverili, vendar rezultati niso statistično značilni. Z laboratorijsko analizo z uporabo barvila Nile Red smo v izbranih delecijskih mutantih genov *YLR446W*, *GLK1*, *IZH2*, *HXK1*, *HXK2*, *NPP2*, *EMI2*, *FAT1* in *NPP1* preverili vsebnost lipidov v celicah. Rezultati preostalih analiz nakazujejo, da so geni, ki so vpleteni v razvoj debelosti oz. metabolizem maščob, pri preučevanih organizmih evolucijsko ohranjeni, za natančnejše rezultate pa bi bilo treba opraviti dodatne raziskave.

KEY WORDS DOCUMENTATION

DN Du2
DC UDC 601.2:576.34:575.112(043.2)
CX bioinformatic analysis/ evolutionary conservation/ lipid metabolism/ obesity genetics/ interaction networks
AU KAPUŠIN Nuša
AA PETROVIČ, Uroš (supervisor)/HORVAT, Simon (co-advisor)
PP SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
PB University of Ljubljana, Biotechnical faculty, Academic Study Programme in Biotechnology
PY 2015
TI BIOINFORMATIC ANALYSIS OF INTERACTOME OF GENES INVOLVED IN REGULATION OF LIPID METABOLISM IN EUCARIONTS
DT M.Sc. Thesis (Master Study Programmes)
NO XVI, 61, [37] p., 15 fig., 22 ann., 104 ref.
LA Sl
AL sl/en
AB Overweight or obesity is a complex trait, accompanied by serious social and psychological burdens that can affect individuals of all ages and from all socio-economic levels. In addition to secondary diseases, which usually occur in overweight individuals, obesity can also cause psychosocial distress. The increase in obesity in modern society also puts great pressure on the social healthcare system. To increase scientific research efforts in the field of genetics of obesity and discover new treatment methods a number of animal models and databases have been developed to be used as a tool for studying obesity. By using existing Obesity gene atlas in mammals database and GeneMANIA bioinformatic tool as well as other databases and tools we have studied evolutionary conservation of interactome of genes involved in regulation of lipid metabolism in eukaryotes, specifically in yeast, mice, rats and humans. After having updated the Obesity gene atlas in mammals, we have built, using the GeneMANIA tool, interaction networks of genes that were implicated to affect obesity and lipid metabolism. Networks were analyzed and genes with a central position in the interaction networks, which presumably indicated a major role in regulating obesity or lipid metabolism, were verified experimentally, but results are not statistically significant. Using the method of Nile Red staining we examined the lipid content in cells in selected deletion mutant strains in genes *YLR446W*, *GLK1*, *IZH2*, *HXK1*, *HXK2*, *NPP2*, *EMI2*, *FAT1* and *NPP1*. Results of additional analysis suggest that genes that are involved in the development of obesity or lipid metabolism in the organisms studied are evolutionarily conserved. Further research is required to validate our results and elucidate mechanism of action.

KAZALO VSEBINE

	Str.
KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA	III
KEY WORDS DOCUMENTATION	IV
KAZALO VSEBINE	V
KAZALO SLIK	VII
KAZALO PRILOG	IX
OKRAJŠAVE IN SIMBOLI	XII
1 UVOD	1
2 PREGLED OBJAV	3
2.1 DEJAVNIKI, KI VPLIVAJO NA RAZVOJ DEBELOSTI	3
2.1.1 Genetska predispozicija	3
2.1.2 Cirkadiani ritmi	3
2.1.3 Nevropeptidi	4
2.1.4 Regulacija biokemijskih poti v perifernih organih oz. tkivih	4
2.1.5 Oksidativni stres	5
2.1.6 Mikrobiom	5
2.1.7 Življenjski slog	6
2.2 GENETIKA DEBELOSTI	6
2.2.1 Študije dvojčkov in posvojencev	6
2.2.2 Metoda identifikacije kandidatnih genov	7
2.2.3 Genomske povezovalne študije	7
2.3 ŽIVALSKI MODELI PRI RAZISKAVAH DEBELOSTI	8
2.3.1 Monogeni modeli	9
2.3.1.1 Spontane mutante	9
2.3.1.2 Transgeni modeli	10
2.3.2 Poligeni modeli, inducirani z dieto	10
2.3.3 Ostali živalski modeli	12
3 MATERIALI IN METODE	13
3.1 MATERIALI	13
3.1.1 Podatkovne zbirke in bioinformacijska orodja	13
3.1.2 Sevi kvasovke in pogoji rasti	14
3.1.2.1 Sevi	14
3.1.2.2 Pogoji rasti	14
3.1.3 Ostali materiali	15
3.2 METODE	15
3.2.1 Posodobitev podatkovne zbirke Genski atlas za debelost pri sesalcih	15
3.2.2 Identifikacija ortolognih genov med kvasovko, človekom, podgano in Mišjo	16

3.2.3	Identifikacija dodanih genov in njihovih ortologov z orodjem GeneMANIA	16
3.2.4	Laboratorijska analiza z uporabo barvila Nile Red	17
4	REZULTATI	19
4.1	POSODOBITEV PODATKOVNE ZBIRKE GENSKI ATLAS ZA DEBELOST	19
4.2	IDENTIFIKACIJA ORTOLOGNIH GENOV, KI SODELUJEJO PRI RAZVOJU DEBELOSTI MED KVASOVKO, ČLOVEKOM, PODGANO IN MIŠJO	22
4.3	IDENTIFIKACIJA ORTOLOGNIH GENOV, KI SO VPLETENI V METABOLIZEM LIPIDOV MED KVASOVKO IN ČLOVEKOM	23
4.4	IDENTIFIKACIJA DODANIH GENOV IN NJIHOVIH ORTOLOGOV Z ORODJEM GENEMANIA	23
4.4.1	Identifikacija dodanih genov, ki sodelujejo pri razvoju debelosti in njihovih ortologov med kvasovko, človekom, podgano in mišjo	24
4.4.1.1	Kvasovka	24
4.4.1.2	Miš	26
4.4.1.3	Podgana	28
4.4.1.4	Človek	30
4.4.2	Identifikacija dodanih genov in njihovih ortologov, ki so vpleteni v metabolizem lipidov med kvasovko in človekom	34
4.4.2.1	Kvasovka	34
4.4.2.2	Človek	36
4.5	LABORATORIJSKA ANALIZA Z UPORABO BARVILA NILE RED	40
5	RAZPRAVA	42
6	SKLEPI	49
7	POVZETEK	50
8	VIRI	52
	ZAHVALA	
	PRILOGE	

KAZALO SLIK

Slika 1: Načrt postavitve različnih delecijskih mutant v mikrotitrski plošči. Legenda: 1: <i>ylr446w</i> Δ, 2: <i>glk1</i> Δ, 3: <i>izh2</i> Δ, 4: <i>hxk1</i> Δ, 5: <i>hxk2</i> Δ, 6: <i>npp2</i> Δ, 7: <i>emi2</i> Δ, 8: <i>fat1</i> Δ, 9: <i>npp1</i> Δ, A: <i>awri1632</i> Δ his 39: Nat, B: <i>y7092</i> Δ18
Slika 2: Grafični prikaz 10 statistično najbolj značilnih bioloških procesov, v katerih sodelujejo novo identificirani geni človeka, miši in podgane, ki sodelujejo pri razvoju debelosti. Številke v grafu na sliki prikazujejo število tistih genov iz nabora novo identificiranih genov, ki imajo anotacijo za izbran biološki proces.20
Slika 3: Grafični prikaz 10 statistično najbolj značilnih molekularnih funkcij, v katerih sodelujejo novo identificirani geni človeka, miši in podgane, ki sodelujejo pri razvoju debelosti. Številke v grafu na sliki prikazujejo število tistih genov iz nabora novo identificiranih genov, ki imajo anotacijo za izbrano molekularno funkcijo.21
Slika 4: Grafični prikaz 10 statistično najbolj značilnih celičnih komponent, v katerih se izražajo novo identificirani geni človeka, miši in podgane, ki sodelujejo pri razvoju debelosti. Številke v grafu na sliki prikazujejo število tistih genov iz nabora novo identificiranih genov, ki imajo anotacijo za izbrano celično komponento.22
Slika 5: Interakcijska mreža genov kvasovke, ki imajo ortologne gene pri človeku, miši in podgani in so vpletene v razvoj debelosti, z desetimi dodanimi geni. Obkroženi so vsi geni, ki imajo homologne gene pri človeku, miši in podgani. Z zeleno barvo je označen ortolog genov <i>HKDC1</i> in <i>HK1</i> , z rdečo ortologi gena <i>ADIPOR2</i> , z oranžno barvo je obkrožen ortolog gena <i>GFPT2</i> , z vijolično pa ortolog gena <i>QRS1</i> . Omenjeni geni in njihovi ortologi so podrobneje opisani v besedilu.25
Slika 6: Interakcijska mreža genov miši, ki imajo ortologne gene pri kvasovki in so vpletene v razvoj debelosti, in deset dodanih genov. Obkroženi so vsi geni, ki imajo ortologa pri kvasovki. Z zeleno barvo je obkrožen gen <i>Hkdc1</i> , z rdečo gen <i>Adipor2</i> , z vijolično gen <i>Qrs1</i> ter z oranžno gen <i>Gfpt2</i> . Omenjeni geni in njihovi ortologi so podrobneje opisani v besedilu.27
Slika 7: Interakcijska mreža genov podgane, ki so vpletene v razvoj debelosti in imajo ortologne gene pri kvasovki, in deset dodanih genov. Obkroženi so vsi geni, ki imajo ortologa pri kvasovki. Z zeleno barvo je obkrožen gen <i>Hk1</i> , z rdečo gen <i>Adipor2</i> , z vijolično gen <i>Qrs1</i> ter z oranžno gen <i>Gfpt2</i> . Omenjeni geni in njihovi ortologi so podrobneje opisani v besedilu.29

Slika 8: Interakcijska mreža genov človeka, ki so vpleteni v razvoj debelosti in imajo ortologne gene pri kvasovki, in deset dodanih genov. Obkroženi so vsi geni, ki imajo ortologa pri kvasovki. Z zeleno barvo je obkrožen gen <i>HKDC1</i> , z rdečo gen <i>ADIPOR2</i> , z vijolično gen <i>QRSL1</i> ter z oranžno gen <i>GFPT2</i> . Omenjeni geni in njihovi ortologi so podrobneje opisani v besedilu.	31
Slika 9: Prikaz deleža genov kvasovke, ki imajo ortologni gen pri človeku, miši in podgani, glede na število dodanih prikazanih v genskih mrežah, pridobljenih z orodjem GeneMANIA.	33
Slika 10: Prikaz deleža ortologov kvasovke v genskih mrežah, pridobljenih z orodjem GeneMANIA, pri podgani, človeku in miši v odstotkih glede na število dodanih prikazanih genov.	34
Slika 11: Interakcijska mreža genov kvasovke, ki so vpleteni v metabolizem lipidov in imajo ortologne gene pri človeku, in deset dodanih genov. Obkroženi so vsi geni, ki imajo pri človeku ortologa. Z zeleno barvo je obkrožen ortolog človeškega gena <i>ACAA1</i> , z rdečo ortolog gena <i>SRD5A3</i> , z vijolično je obkrožen ortolog gena <i>ZMPSTE24</i> , ter z oranžno barvo je obkrožen ortolog gena <i>MSMO1</i> . Omenjeni geni in njihovi ortologi so podrobneje opisani v besedilu.	35
Slika 12: Interakcijska mreža genov človeka, ki sodelujejo pri metabolizmu lipidov in imajo ortologne gene pri kvasovki in deset dodanih genov. Obkroženi so vsi geni, ki imajo homologni gen pri kvasovki. Z rdečo barvo je obkrožen gen <i>SRD5A3</i> , z vijolično pa <i>ZMPSTE24</i> . Omenjeni geni in njihovi ortologi so podrobneje opisani v besedilu.	37
Slika 13: Prikaz deleža ortolognih genov, ki sodelujejo pri metabolizmu lipidov, glede na število dodanih prikazanih genov v genskih mrežah, ki nam jih poda orodje GeneMANIA.	39
Slika 14: Prikaz deleža kvasnih ortologov pri človeku in kvasovki, glede na število dodanih prikaznih genov v interakcijskih mrežah, ki nam jih poda orodje GeneMANIA.	40
Slika 15: Grafični prikaz fluorescence celice pri različnih izbranih sevih <i>S. cerevisiae</i> in pri treh različnih valovnih dolžinah. Legenda: 1: <i>ylr446w</i> Δ , 2: <i>glk1</i> Δ , 3: <i>izh2</i> Δ , 4: <i>hxk1</i> Δ , 5: <i>hxk2</i> Δ , 6: <i>npp2</i> Δ , 7: <i>emi2</i> Δ , 8: <i>fat1</i> Δ , 9: <i>npp1</i> Δ , A: <i>awri1632</i> Δ his 39: Nat, Y: <i>y7092</i> Δ	41

KAZALO PRILOG

Priloga A: Triinpetdeset genov, s katerimi smo posodobili podatkovno zbirkko, ki so vpletene v razvoj debelosti pri človeku, podgani in miši. Prikaz simbola gena, imena oziroma funkcije, pripadajočega organizma in lokacije na kromosomu.

Priloga B: Rezultat iskanja ortolognih genov med človekom in kvasovko z orodjem Ensembl. Slika prikazuje dva možna ortologa kvasovke (*Are1* in *Are2*) za človeški gen *DGAT1*.

Priloga C: Simbol, opis in lokacija na kromosomu genov, ki sodelujejo pri razvoju debelosti in so skupni človeku, miši in podgani, ter njihovi kvasni ortologi.

Priloga D: Simbol, opis in lokacija na kromosomu genov, ki so vpletene v metabolizem lipidov ter njihovi kvasni ortologi.

Priloga E: Interakcijska mreža genov kvasovke, ki so vpletene v razvoj debelosti in imajo ortologne gene pri človeku, miši in podgani in dvajset dodanih genov. Obkroženi so vsi geni, ki imajo homologne gene pri človeku, miši in podgani. Z zeleno barvo je označen ortolog genov *HKDC1* in *HK1*, z rdečo ortologi gena *ADIPOR2*, z oranžno barvo je obkrožen ortolog gena *GFPT2*, z vijolično pa ortolog gena *QRS1L*. Omenjeni geni in njihovi ortologi so podrobnejše opisani v besedilu.

Priloga F: Interakcijska mreža genov kvasovke, ki so vpletene v razvoj debelosti in imajo ortologne gene pri človeku, miši in podgani in petdeset dodanih genov. Obkroženi so vsi geni, ki imajo homologne gene pri človeku, miši in podgani. Z zeleno barvo je označen ortolog genov *HKDC1* in *HK1*, z rdečo ortologi gena *ADIPOR2*, z oranžno barvo je obkrožen ortolog gena *GFPT2*, z vijolično pa ortolog gena *QRS1L*. Omenjeni geni in njihovi ortologi so podrobnejše opisani v besedilu.

Priloga G: Interakcijska mreža genov kvasovke, ki so vpletene v razvoj debelosti in imajo ortologne gene pri človeku, miši in podgani in sto dodanih genov. Obkroženi so vsi geni, ki imajo homologne gene pri človeku, miši in podgani. Z zeleno barvo je označen ortolog genov *HKDC1* in *HK1*, z rdečo ortologi gena *ADIPOR2*, z oranžno barvo je obkrožen ortolog gena *GFPT2*, z vijolično pa ortolog gena *QRS1L*. Omenjeni geni in njihovi ortologi so podrobnejše opisani v besedilu.

Priloga H: Interakcijska mreža genov miši, ki so vpletene v razvoj debelosti in imajo ortologne gene pri kvasovki in dvajset dodanih genov. Obkroženi so vsi geni, ki imajo ortologa pri kvasovki. Z zeleno barvo je obkrožen gen *Hkdc1*, z rdečo gen *Adipor2*, z vijolično gen *Qrs1l* ter z oranžno gen *Gfpt2*. Omenjeni geni so podrobnejše opisani v besedilu.

Priloga I: Interakcijska mreža genov miši, ki so vpletene v razvoj debelosti in imajo ortologne gene pri kvasovki in petdeset dodanih genov. Obkroženi so vsi geni, ki imajo ortologa pri kvasovki. Z zeleno barvo je obkrožen gen *Hkdc1*, z rdečo gen *Adipor2*, z vijolično gen *Qrsl1* ter z oranžno gen *Gfpt2*. Omenjeni geni so podrobneje opisani v besedilu.

Priloga J: Interakcijska mreža genov miši, ki so vpletene v razvoj debelosti in imajo ortologne gene pri kvasovki in sto dodanih genov. Obkroženi so vsi geni, ki imajo ortologa pri kvasovki. Z zeleno barvo je obkrožen gen *Hkdc1*, z rdečo gen *Adipor2*, z vijolično gen *Qrsl1* ter z oranžno gen *Gfpt2*. Omenjeni geni so podrobneje opisani v besedilu.

Priloga K: Interakcijska mreža genov podgane, ki so vpletene v razvoj debelosti in imajo ortologne gene pri kvasovki in dvajset dodanih genov. Obkroženi so vsi geni, ki imajo ortologa pri kvasovki. Z zeleno barvo je obkrožen gen *Hk1*, z rdečo gen *Adipor2*, z vijolično gen *Qrsl1* ter z oranžno gen *Gfpt2*. Omenjeni geni so podrobneje opisani v besedilu.

Priloga L: Interakcijska mreža genov podgane, ki so vpletene v razvoj debelosti in imajo ortologne gene pri kvasovki in petdeset dodanih genov. Obkroženi so vsi geni, ki imajo ortologa pri kvasovki. Z zeleno barvo je obkrožen gen *Hk1*, z rdečo gen *Adipor2*, z vijolično gen *Qrsl1* ter z oranžno gen *Gfpt2*. Omenjeni geni so podrobneje opisani v besedilu.

Priloga M: Interakcijska mreža genov podgane, ki so vpletene v razvoj debelosti in imajo ortologne gene pri kvasovki in sto dodanih genov. Obkroženi so vsi geni, ki imajo ortologa pri kvasovki. Z zeleno barvo je obkrožen gen *Hk1*, z rdečo gen *Adipor2*, z vijolično gen *Qrsl1* ter z oranžno gen *Gfpt2*. Omenjeni geni so podrobneje opisani v besedilu.

Priloga N: Interakcijska mreža genov človeka, ki so vpletene v razvoj debelosti in imajo ortologne gene pri kvasovki in dvajset dodanih genov. Obkroženi so vsi geni, ki imajo ortologa pri kvasovki. Z zeleno barvo je obkrožen gen *HKDC1*, z rdečo gen *ADIPOR2*, z vijolično gen *QRSL1* ter z oranžno gen *GFPT2*. Omenjeni geni so podrobneje opisani v besedilu.

Priloga O: Interakcijska mreža genov človeka, ki so vpletene v razvoj debelosti in imajo ortologne gene pri kvasovki in petdeset dodanih genov. Obkroženi so vsi geni, ki imajo ortologa pri kvasovki. Z zeleno barvo je obkrožen gen *HKDC1*, z rdečo gen *ADIPOR2*, z vijolično gen *QRSL1* ter z oranžno gen *GFPT2*. Omenjeni geni so podrobneje opisani v besedilu.

Priloga P: Interakcijska mreža genov človeka, ki so vpletene v razvoj debelosti in imajo ortologne gene pri kvasovki in sto dodanih genov. Obkroženi so vsi geni, ki imajo ortologa pri kvasovki. Z zeleno barvo je obkrožen gen *HKDC1*, z rdečo gen *ADIPOR2*, z vijolično gen *QRSL1* ter z oranžno gen *GFPT2*. Omenjeni geni so podrobneje opisani v besedilu.

Priloga R: Interakcijska mreža genov kvasovke, ki sodelujejo v metabolizmu lipidov in imajo ortologne gene pri človeku in dvajset dodanih genov. Obkroženi so vsi geni, ki imajo pri človeku ortologa. Z zeleno barvo je obkrožen gen *POT1*, z rdečo gen *DFG10*, z vijolično je obkrožen gen *STE24*, ter z oranžno gen *SUR2*. Omenjeni geni so podrobneje opisani v besedilu.

Priloga S: Interakcijska mreža genov kvasovke, ki sodelujejo v metabolizmu lipidov in imajo ortologne gene pri človeku in petdeset dodanih genov. Obkroženi so vsi geni, ki imajo pri človeku ortologa. Z zeleno barvo je obkrožen gen *POT1*, z rdečo gen *DFG10*, z vijolično je obkrožen gen *STE24*, ter z oranžno gen *SUR2*. Omenjeni geni so podrobneje opisani v besedilu.

Priloga T: Interakcijska mreža genov kvasovke, ki sodelujejo pri metabolizmu lipidov in imajo ortologne gene pri človeku in sto dodanih genov. Obkroženi so vsi geni, ki imajo pri človeku ortologa. Z zeleno barvo je obkrožen gen *POT1*, z rdečo gen *DFG10*, z vijolično je obkrožen gen *STE24*, ter z oranžno gen *SUR2*. Omenjeni geni so podrobneje opisani v besedilu.

Priloga U: Interakcijska mreža genov človeka, ki sodelujejo pri metabolizmu lipidov in imajo ortologne gene pri človeku in dvajset dodanih genov. Obkroženi so vsi geni, ki imajo homologni gen pri kvasovki. Z rdečo barvo je obkrožen gen *SRD5A3*, z vijolično gen *ZMPSTE24* ter z oranžno barvo gen *MSMO1*. Omenjeni geni so podrobneje opisani v besedilu.

Priloga V: Interakcijska mreža genov človeka, ki sodelujejo pri metabolizmu lipidov in imajo ortologne gene pri kvasovki in petdeset dodanih genov. Obkroženi so vsi geni, ki imajo homologni gen pri kvasovki. Z rdečo barvo je obkrožen gen *SRD5A3*, z vijolično gen *ZMPSTE24*, z oranžno barvo gen *MSMO1* ter z zeleno barvo je označen gen *ACAA1*. Omenjeni geni so podrobneje opisani v besedilu.

Priloga Z: Interakcijska mreža genov človeka, ki so vpletene v metabolizem lipidov in imajo ortologne gene pri kvasovki in sto dodanih genov. Obkroženi so vsi geni, ki imajo homologni gen pri kvasovki. Z rdečo barvo je obkrožen gen *SRD5A3*, z vijolično gen *ZMPSTE24*, z oranžno barvo gen *MSMO1* ter z zeleno barvo je označen gen *ACAA1*. Omenjeni geni so podrobneje opisani v besedilu.

OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

<i>ACAA1</i>	gen za acetil koencim A aciltransferazo 1 (angl. <i>acetyl-CoA acyltransferase 1</i>)
Acetil-CoA	acetil koencim A
<i>ADIPOR1</i>	gen za adiponektinski receptor 1 (angl. <i>adiponectin receptor 1</i>)
<i>ADIPOR2</i>	gen za adiponektinski receptor 2 (angl. <i>adiponectin receptor 2</i>)
<i>ADRB3</i>	gen za adrenoreceptor $\beta 3$ (angl. <i>adrenoreceptor $\beta 3$</i>)
<i>Atrn</i>	gen za atraktin (angl. <i>Actractin</i>)
AWRI1632 <i>his3Δ</i> : Nat	sev kvasovke AWRI1632, delecijska mutanta z delecijo gena <i>HIS3</i> , avksotrofna na histidin
A^y	linija miši Agouti rumene (angl. <i>Agouti yellow</i>)
<i>BDNF</i>	gen za <i>BDNF</i> (angl. <i>brain-derived neurotrophic factor</i>)
<i>BFM</i>	linija miši Berlinska debela miš (angl. <i>Berlin fat mouse</i> , kr. <i>BFM</i>)
BLAST	bioinformacijsko orodje BLAST, angl. <i>Basic Local Alignment Search Tool</i>
<i>CART</i>	gen za transkript za uravnavanje kokaina in amfetamina (angl. <i>cocaine and amphetamine regulated transcript</i>)
<i>CART</i>	gen za CART prepropeptid (angl. <i>CART prepropeptide</i>)
<i>CNR1</i>	gen za kanabinoidni receptor 1 (angl. <i>cannabinoid receptor 1</i>)
<i>Cpe</i>	gen za karboksipeptidazo E (angl. <i>carboxypeptidase E</i>)
<i>DFG10</i>	gen za <i>DFG10</i> (angl. <i>defective for filamentous growth</i>)
<i>DGAT1</i>	gen za diacilglicerol O-aciltransferazo 1 (angl. <i>diacylglycerol O-acyltransferase 1</i>)
DIO	z dieto inducirana debela podgana (angl. <i>diet-induced obese</i>)
<i>DIP2B</i>	gen za <i>DIP2B</i> (angl. <i>disco-interacting protein homolog 2</i>)
DMSO	dimetil sulfoksid

DR	na dieto rezistentna podgana (angl. <i>diet-resistant</i>)
<i>EMI2</i>	gen za protein zgodnje mejotske delitve (angl. <i>early meiotic reduction</i>)
<i>emi2Δ</i>	kvasna delecijska mutanta gena za protein zgodnje mejotske redukcije (angl. <i>early meiotic reduction</i>)
<i>FAT1</i>	gen za prenašalca maščobnih kislin (angl. <i>fatty acid transporter</i>)
<i>fat1Δ</i>	kvasna delecijska mutanta gena prenašalca maščobnih kislin (angl. <i>fatty acid transporter</i>)
<i>FTO</i>	gen povezan z maščobno maso in debelostjo (angl. <i>fat mass and obesity associated gene</i>)
<i>GFPT2</i>	gen za glutamin-fruktoza-6-fosfat transaminazo 2 (angl. <i>glutamine-fructose-6-phosphate transaminase 2</i>)
<i>GLK1</i>	gen za glukokinazo 1 (angl. <i>glukokinase1</i>)
<i>glk1Δ</i>	kvasna delecijska mutanta gena <i>GLK1</i>
GO	podatkovna zbirkna Gene Ontology
GWAS	genomska asociacijska študija (angl. <i>Genome Wide Association Study</i>)
<i>HER2</i>	gen za <i>HER2</i> (angl. <i>Hmg2p ER Remodeling</i>)
HFD	dieta z visoko vsebnostjo maščob (angl. <i>high-fat diet</i>)
<i>HKDC1</i>	gen za heksokinazno domeno vsebujoči gen 1 (angl. <i>hexokinase containing domain 1</i>)
<i>Hk1</i>	gen za heksokinazo 1 (angl. <i>hexokinase 1</i>)
<i>HXK1</i>	gen za heksokinazo 1 (angl. <i>hexokinase 1</i>)
<i>hxk1Δ</i>	kvasna delecijska mutanta gena <i>HXK1</i>
<i>HXK2</i>	gen za heksokinazo 2 (angl. <i>hexokinase 2</i>)
<i>hxk2Δ</i>	kvasna delecijska mutanta gena <i>HXK2</i>
<i>ILVBL</i>	gen za <i>ILVBL</i> (angl. <i>ilvB (bacterial acetolactate synthase)-like</i>)
ITM	indeks telesne mase

<i>IZH1</i>	gen za <i>IZH1</i> (angl. <i>implicated in zinc homeostasis 1</i>)
<i>IZH2</i>	gen za <i>IZH2</i> (angl. <i>implicated in zinc homeostasis 2</i>)
<i>izh2Δ</i>	kvasna delecijska mutanta gena <i>IZH2</i>
<i>IZH3</i>	gen za <i>IZH3</i> (angl. <i>implicated in zinc homeostasis 3</i>)
<i>IZH4</i>	gen za <i>IZH4</i> (angl. <i>implicated in zinc homeostasis 4</i>)
<i>K7_YEL020C</i>	gen za <i>K7_YEL020C</i>
<i>Lep</i> ^{db} / <i>Lep</i> ^{db}	modelni organizem »diabetična« miš (angl. » <i>diabetic mouse</i>)
<i>Lep</i> ^{ob} / <i>Lep</i> ^{ob}	modelni organizem »debela« miš (angl. » <i>obese mouse</i> «), znana tudi kot miš <i>ob/ob</i>
<i>Lgsn</i>	gen za lengsin (angl. <i>Lengsin</i>)
<i>MC4R</i>	gen za melanokortin receptor 4 (angl. <i>melanocortin receptor 4</i>)
MES	2-(N-morfolino) etansulfonična kislina (angl. <i>2-(N-morpholino) ethanesulfonic acid</i>)
miRNA	micro RNA (angl. <i>microRNA</i>)
MM	minimalno gojišče (angl. <i>minimum medium</i>)
<i>MSMO1</i>	gen za metilsterol monooksigenazo 1 (angl. <i>methylsterol monooxygenase 1</i>)
NCBI	Nacionalni center za informacijsko biotehnologijo (angl. <i>National Center for Biotechnology Informatics</i>)
NGS	sekvenciranje naslednje generacije (angl. <i>next-generation sequencing</i>)
<i>NPP1</i>	gen za ekto-nukleotid pirofosfatazo/fosfodiesterazo (angl. <i>ecto-nucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase</i>)
<i>npp1Δ</i>	kvasna delecijska mutanta gena ekto-nukleotid pirofosfataza/fosfodiesteraza (angl. <i>ecto-nucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase</i>)
<i>NPP2</i>	gen za ekto-nukleotid pirofosfatazo/fosfodiesterazo (angl. <i>ecto-nucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase</i>)

<i>npp2Δ</i>	kvasna delecijska mutanta gena ekto-nukleotid pirofosfataza/fosfodiesteraza (angl. <i>ecto-nucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase</i>)
<i>OLETF</i>	modelni organizem podgana Otsuka Long Evans Tokushima Fatty
<i>PCSK1</i>	gen za <i>PCSK1</i> (angl. <i>proprotein convertase subtilisin/kexin type1</i>)
<i>POMC</i>	gen za pro-opiomelanokortin (angl. <i>proopiomelanocortin</i>)
<i>POT1</i>	gen za peroksisomalno oksoacil tiolazo (angl. <i>peroxisomal oxoacyl thiolase</i>)
<i>QRSL1</i>	gen za glutamil-tRNA sintazo (angl. <i>glutaminyl-tRNA synthase (glutamine-hydrolyzing)-like 1</i>)
<i>RED1</i>	gen za reduksijsko delitev (angl. <i>reductional division</i>)
SD	modelni organizem podgana Sprague-Dawley
<i>SRD5A3</i>	gen za steroid 5 alfa reduktazo 3 (angl. <i>steroid 5 alpha reductase 3</i>)
<i>Stat3</i>	gen za signalni transducer in aktivator (angl. <i>signal transducer and activator of transcription 3</i>)
<i>STE24</i>	gen za <i>STE24</i> (angl. <i>sterile</i>)
<i>SUR2</i>	gen za zaviralca mutacij rvs161 in rvs 167 (angl. <i>supressor of rvs161 and rvs167 mutations</i>)
<i>Tub</i>	gen za <i>tubby</i> (angl. <i>Tubby</i>)
<i>UAF30</i>	gen za <i>UAF30</i> (angl. <i>upstream activation subunit</i>)
QTL	kvantitativni lokus (angl. <i>quantitative trait locus</i> , kr. <i>QTL</i>)
WHO	Svetovna Zdravstvena Organizacija (angl. <i>World Health Organization</i>)
Y7092	sev kvasovke Y7092
<i>YLR446W</i>	gen za <i>YLR446W</i>
<i>ylr446wΔ</i>	kvasna delecijska mutanta gena <i>YLR446W</i>

<i>YMR084W</i>	gen za <i>YMR084W</i>
<i>YMR085W</i>	gen za <i>YMR085W</i>
<i>YNB</i>	dušikova osnova za sintetično gojišče za kvasovke (angl. <i>yeast nitrogen base</i>)
<i>YOR093C</i>	gen za <i>YOR093C</i>
<i>ZDF</i>	modelni organizem podgana Zucker Diabetic Fatty
<i>ZMPSTE24</i>	gen za cinkovo metalopeptidazo STE24 (angl. <i>zinc metallopeptidase STE24</i>)
α -MSH	alfa-melanocite stimulativni hormon (angl. <i>α-melanocyte stimulating hormone</i>)

1 UVOD

Prekomerna telesna masa in debelost sta definirana kot nenormalna ali prekomerna akumulacija maščobe, ki predstavlja tveganje za zdravje (Svetovna zdravstvena organizacija, angl. *World Health Organization*, kr. *WHO*). V grobem debelost merimo z indeksom telesne mase (kr. *ITM*), ki je kvocient med človekovo telesno maso merjeno v kilogramih in njegovo višino merjeno v metrih. Če je izračunani ITM 30 ali več, se osebo smatra kot debelo. Če je izračunani ITM med 25 in do 30, je to oseba s prekomerno telesno maso (Obesity ..., 2015).

Prekomerna telesna masa oziroma debelost sta eden izmed pomembnejših dejavnikov pri razvoju večjega števila kroničnih bolezni, med njimi tudi diabetesa, kardiovaskularnih obolenj ter nekaterih vrst raka. Nekoč je bila problematika prekomerne telesne mase in debelosti omejena le na države razvitega sveta, medtem ko je v današnjem času debelost dramatično narasla tudi v nerazvitih državah in državah v razvoju.

Debelost je kompleksno stanje, združeno z resnimi socialnimi in psihološkimi obremenitvami, ki prizadenejo ljudi vseh starosti in socialnoekonomskih ravni. Leta 1995 je bilo ocenjeno, da je na svetu približno dvesto milijonov debelih ljudi in osemajst milijonov otrok, mlajših od pet let, ki so debeli. V petih letih, do leta 2000 je število naraslo in preseglo tristo milijonov. Na splošno imajo moški večjo dovzetnost, da postanejo klasificirani kot posamezniki s prekomerno telesno maso, med tem ko je več žensk debelih. Zaradi vse večje razsežnosti debelosti je Svetovna zdravstvena organizacija leta 1990 sprožila številna strokovna srečanja in kampanije za ozaveščanje javnosti (Controlling ..., 2015). Poleg tega je Ameriška Medicinska Organizacija (angl. *American Medical Association*, kr. *AMA*) leta 2013 proglašila in priznala debelost kot bolezen (Pollack, 2013).

Na razvoj debelosti vplivajo tako okoljski kot genetski vzroki, kjer v kombinaciji s prevelikim vnosom energijske vrednosti in nezadostno porabo le-te pride do debelosti. K okoljskim dejavnikom štejemo predvsem prehranske navade posameznikov, njihove preference pri izbiri hrane, povečano vlogo hrane v vsakdanjiku, sedeči način življenja in pomanjkanje gibanja (Myles in Kral, 2006).

Z debelostjo so povezani tudi različni genetsko pogojeni sindromi, kot so na primer sindrom Prader-Willi, sindrom Bardet-Biedl in sindrom Cohen (Gunay-Aygun in sod., 1997).

Natančni molekularni mehanizmi, ki sodelujejo pri razvoju debelosti in bolezni, ki jo spremljajo, trenutno še niso popolnoma znani. Za boljše razumevanje patologije in mehanizma nastanka debelosti so nam v pomoč različni živalski modeli. Pri raziskavah genetike debelosti uporabljamo tako glodalske kot neglodalske živalske modele, med

katere sodijo podgane, miši, primati razen človeka in drugi živalski modeli. Le-ti niso pomembni le za raziskovanje debelosti in drugih bolezni, pač pa tudi za testiranje novih terapevtskih pristopov za zdravljenje proučevanih bolezni (Kanasaki in Koya, 2010). Pomemben modelni organizem je tudi kvasovka *Saccharomyces cerevisiae*.

Že pred objavo zaporedja genoma kvasovke (Goffeau in sod, 1996) je bilo znano, da obstajajo pri človeku in kvasovki geni, ki kodirajo zelo podobne proteine. Botstein in sodelavci so leta 1997 objavili podatek, da ima kvasovka od svojih skoraj 6000 genov približno 31 % protein-kodirajočih genov, katerim je mogoče najti homologne gene tudi pri človeku. Pri tem je od teh 31 % približno tretjina genov, katerih funkcija ni poznana. Zaradi verjetnosti, da ima na novo odkrit človeški gen homologa pri kvasovki, ki nam lahko poda vsaj nekaj informacij o njegovi funkciji, ter zaradi enostavnejše manipulacije, je kvasovka postala modelni organizem za proučevanje številnih metabolnih poti, bolezni in različnih stanj, med katerimi je tudi debelost (Botstein in sod., 1997).

V opisani magistrski nalogi smo se posvetili odkrivanju evolucijske ohranjenosti genov, ki vplivajo na metabolizem lipidov in razvoj debelosti ter ohranjenosti arhitekture genetskih mrež le-teh med kvasovko, mišjo, podgano in človekom.

2 PREGLED OBJAV

2.1 DEJAVNIKI, KI VPLIVAJO NA RAZVOJ DEBELOSTI

Na pojav debelosti vpliva mnogo različnih dejavnikov, ki v medsebojnem sodelovanju vodijo v debelost. Med njimi je genetska predispozicija, cirkadiani ritmi, nevropeptidi pri uravnavanju apetita, uravnavanje biokemijskih poti v perifernih organih oz. tkivih, oksidativni stres, mikrobiom ter življenjski slog.

2.1.1 Genetska predispozicija

O povezavah med nastankom debelosti in genetskimi dejavniki je pisal že James V. Neel leta 1962, ko je objavil hipotezo o t.i. varčnih genih (angl. *thrifty genes hypothesis*), v kateri opisuje vlogo genov pri preživetju človeka v času, ko hrane ni bilo v izobilju. Ti geni naj bi omogočali hitro pretvorbo zaužite hrane v maščobo, katera je služila kot zaloga energije za obdobja, ko je hrane primanjkovalo. V sodobnem svetu pa do obdobjij primanjkovanja hrane običajno ne pride, zato pa prihaja do vedno večjega števila debelih ljudi (Neel, 1962). Znanstveniki so skozi zgodovino raziskovanja debelosti preučevali fiziološke osnove prebave, absorbcijske in metabolizma ter način, kako se različna hranila po zaužitju razvrstijo in absorbirajo v različne organe in tkiva človeškega telesa. Čeprav velik delež k razvoju debelosti prispevajo okoljski dejavniki, je pri razvoju debelosti pomembna tudi genetska predispozicija. Ocenjeno je, da so genetski dejavniki odgovorni za več kot 40 % pojavov debelosti (Stunkard in sod., 1986a), pojasnjениh pa jih je manj kot 2 % (Loos, 2009).

2.1.2 Cirkadiani ritmi

Do odkritja hormona leptina smo bili mnenja, da je adipozno tkivo inertno, metabolno večinoma neaktivno. Leta 1994 so Zhang in sodelavci objavili članek, v katerem so objavili odkritje leptina, njegovo izločanje iz maščobnih celic ter povezavo med leptinom in uravnavanjem apetita. Leta 2009 so Wozniak in sodelavci ugotovili, da je maščobno tkivo sposobno produkcije proteinov z avtokrinim, parakrinim in endokrinim delovanjem. Nadaljnje raziskave so pokazale, da se različni adipokini, kot je na primer adiponektin, sintetizirajo v adipoznem tkivu in so vpleteni v patofiziologijo debelosti (Wozniak in sod., 2009). Adipozno tkivo, predvsem različni geni, prisotni v njem, odgovarjajo na cirkadiane ritme, oziroma na spremembe v le-teh (Aoyagi in sod., 2005). V študiji so Ptitsyn in sodelavci leta 2006 ugotovili, da se izražanje od 7 do 21 % genov, ki so aktivni v belem in rjavem adipoznem tkivu pri človeku in miši, odziva na cirkadiani ritem (Ptitsyn in sod., 2006).

2.1.3 Nevropeptidi

Centralni živčni sistem s hipotalamusom, ki uravnava občutek sitosti in lakote, ima pomembno vlogo pri razvoju debelosti. Hipotalamus uravnava občutek lakote in sitosti s produkcijo pro-opiomelanokortina (angl. *proopiomelanocortin*, kr. *POMC*). Pri ljudeh hormon, ki se sintetizira v adipoznem tkivu, leptin, stimulira pretvorbo POMC v alfa-melanocite stimulativni hormon (angl. *α-melanocyte stimulating hormone*, kr. *MSH*), kateri se nato veže na receptor melanokortin receptor 4 (angl. *melanocortin receptor 4*, kr. *MC4R*), ki je ključni receptor pri uravnavanju apetita in energijske homeostaze (Huszar in sod., 1997). Mutacije v genu *MC4R* so bile odkrite pri 5,8 % odraslih ljudeh, pri katerih se je debelost razvila že v otroštvu (Farooqi in sod., 2003). Prav tako pomembna nevropeptida pri razvoju debelosti sta nevropeptid CART prepropeptid (angl. *CART prepropeptide*, kr. *CARTPT*) in »transkript za uravnavanje kokaina in amfetamina« (angl. *cocaine and amphetamine regulated transcript*, kr. *CART*), ki se izraža sočasno s POMC in ima vlogo pri uravnavanju apetita. V študiji so Wierup in sodelavci pri miših z delecijo gena *CARTPT* v primerjavi z divjim tipom izmerili povišan indeks telesne mase (Wierup in sod., 2005). Nevropeptida POMC in CARTPT sta nevropeptida s tako imenovanim anoreksigenim (angl. *anorexigenic*) učinkom, saj stimulirata porabo energije in zavirata vnos hrane pri človeku, med tem ko nevropeptida agouti-vsebujoči protein (angl. *agouti-related protein*, kr. *AGRP*) in nevropeptid Y (angl. *neuropeptide Y*, kr. *NPY*) spadata med nevropeotide z oreksigenim (angl. *orexigenic*) učinkom, torej stimulirata vnos hrane in zavirata porabo energije (Bell in sod., 2005).

2.1.4 Regulacija biokemijskih poti v perifernih organih oz. tkivih

Prva študija, v kateri so s pomočjo analize izražanja genov z DNA mikromrežami testirali preko 6500 mišjih genov in njihov vpliv na debelost, je bila objavljena leta 2000. Pri tem so uporabili mišje gene iz adipoznega tkiva *ob/ob* miši, katere imajo okvarjen gen za zapis hormona leptina, zaradi česar je produkcija leptina preprečena, pri miših pa se pojavi debelost. Omenjene miši so primerjali z geni adipoznega tkiva divjega tipa miši (Soukas in sod., 2000). Kim in Park (2010) sta v svoji študiji ugotovila, da so nekateri geni, ki so vpleteni v vnetne odzive, imunski odziv in metabolizem lipidov prekomerno izraženi v belem adipoznem tkivu, med tem ko je prekomerno izražanje genov, ki so vpleteni v metabolizem lipidov, diferenciacijo adipocitov, obrambnega mehanizma ter stresnega odziva, značilna za jetrno tkivo pri miši (Kim in Park, 2010). Izražanje jetrnih genov nakazuje na dejstvo, da so jetra pri debelih glodavcih, pod pogojih, ki so povezani z debelostjo, oskrbljena z velikimi količinami maščobnih kislin, kar kaže na povečano biosintezo ali zmanjšano oksidacijo le-teh (Cheung in Mao, 2011). Tudi protein BDNF (angl. *brain-derived neurotrophic factor*) ima vlogo pri uravnavanju telesne mase in energijske homeostaze, ne le v centralnem metabolizmu, temveč tudi v perifernih organih,

kot so skeletne mišice in trebušna slinavka (Yamanaka in sod., 2006). Tudi nevropeptid CART se izraža v perifernih organih kot sta nadledvična žleza in trebušna slinavka (Mao, 2011).

2.1.5 Oksidativni stres

Znano je, da je oksidativni stres povezan z nastankom številnih kroničnih nevrodegenerativnih bolezni, med njimi tudi z demenco in Alzheimerjevo boleznijo (Lin in Beal, 2006). Povezan pa je tudi z nastankom debelosti in metabolnih težav, saj odkritja kažejo na dejstvo, da oksidativni stres vpliva na povečanje oksidativnih poškodb ter, da je pomanjkanje obrambnih mehanizmov proti oksidativnemu stresu povezano z metabolnimi boleznimi. Te spremembe so lahko neposredno povezane s kopičenjem maščobe ter posledično tudi z debelostjo. Zdravljenje z antioksidanti lahko znatno pripomore k izboljšanju odpornosti proti oksidativnemu stresu pri laboratorijskih živalih (Styskal in sod., 2012).

2.1.6 Mikrobiom

Raziskave in iskanje povezav med človeško mikrofloro v prebavnem sistemu, načinom prehranjevanja in zdravstvenim stanjem posameznika segajo v prejšnje stoletje. Prve raziskave mikrobioma so bile usmerjene predvsem v raziskave regulacije imunskega odziva, vendar se je predmet raziskav kmalu razširil in zajel tudi proučevanje mikrobioma v povezavi z nastankom debelosti. Vlogo mikroorganizmov v prebavnem sistemu je potrdil poskus, kjer so hranili miši, ki v svojem prebavnem sistemu niso imele mikroorganizmov in miši, katerim so prebavni sistem inokulirali z bakterijami prebavnega sistema konvencionalno vzrejenih miši ter miši, ki so bile vzrejene konvencionalno. Miši, ki v svojem prebavnem sistemu niso imele mikroorganizmov, so, čeprav so bile hranjene z večjo količino hrane kot ostali dve skupini miši, imele v telesu manj maščobnega tkiva kot ostale. Miši z inokulirano črevesno mikrofloro in konvencionalno vzrejene miši so pri dieti s predhodno avtoklavirano hrano imele več maščobnega tkiva kot miši brez črevesne mikroflore. Znanstveniki predpostavljajo, da mikroorganizmi v črevesju vplivajo na zmožnost privzema in skladiščenja energijske vrednosti zaužite hrane (Harley in Karp, 2012). Mikrobiom ima pomembno vlogo pri primarni zaščiti proti patogenim mikroorganizmom, razvoju črevesnih viljev in razgradnji polisaharidov. Mikroorganizmi v črevesju delujejo kot pregrada med črevesnim lumnom in črevesnim epitelijem, porušenje te pregrade pa povzroči neravnovesje v simbiozi med človekom in črevesno mikrofloro, kar vodi spremembo signalnih poti in posledično spremembo v metabolizmu glukoze in lipidov (Everard in Cani, 2013). Mikrobiom omogoča človeku presnovo in razgradnjo sicer neprebavljivih sestavin, ki jih zaužijemo, kar vpliva na zaužito energijsko vrednost. Pri tem so Turnbaugh in sod. leta 2006 raziskali vlogo predvsem bakteriodet (angl. *Bacteriodes*) in firmikut (angl. *Firmicutes*) v mišjem prebavnem sistemu in

njihovo vlogo pri razgradnji oz. kopičenju maščob. Pri tem so poudarili pomen transplantacijskih poskusov, kjer se poslužujemo prenosa mikrobioma donorja v gnotobiotskega prejemnika, v katerih preučujemo pomen metagenoma na presnovo hranil in posledično patofiziologijo debelosti. V drugi študiji so Turnbaugh in sod. (2009) preučevali črevesno mikrofloro pri enojajčnih dvojčkih, ki so bili bodisi vitki bodisi debeli, in njihovih materah. Pri tem so ugotovili, da se mikrobiom prenaša s staršev na potomce, vendar se pri vsakem posamezniku razvijejo specifični bakterijski sevi, ki vplivajo na presnovo zaužitih hranil. Pri tem so prikazali vlogo raznolikosti človeške mikroflore, ki ima pomembno vlogo na funkcionalni ravni presnove hranil. Variacije mikroflore, ki se izoblikujejo pri posamezniku in jih predstavljajo specifične bakterijski rodovi pa so lahko povezane s fiziološkimi stanji kot sta debelost in vitkost.

2.1.7 Življenjski slog

Genska predispozicija in do sedaj odkriti geni, ki vplivajo na razvoj debelosti pojasnijo le majhen delež pojavov debelosti. Zaradi sedečega načina življenja je število debelih ljudi poskočilo in doseglo visoko raven. Pomanjkanje fizične aktivnosti in/ali povečanje sedečega načina življenja, kot je gledanje televizije, je povezano z etiologijo debelosti. Reilly in McDowell (2003) sta povezala zdravljenje debelosti in preprečitev njenega nastanka s fizično aktivnostjo pri otrocih.

2.2 GENETIKA DEBELOSTI

Leta 1962 je Neel objavil hipotezo o varčnih genih, z namenom, da bi objasnil porast števila obolelih za diabetesom tipa 2. Predpostavil je, da je omenjeni genotip z varčnimi geni, ki vplivajo na uravnavanje sproščanja inzulina in shranjevanja glukoze, pripomogel k preživitvenim sposobnostim človeka lovca-nabiralca. Ta genotip je našim prednikom omogočil prilagajanje med obdobji lakote in izobilja z velikimi nihanji v stopnji inzulina, posledično jim je omogočil, da so učinkovito shranili odvečno energijo in tako preživel v obdobjih lakote. V sodobnem svetu do obdobjij lakote ne prihaja, genotip z varčnimi geni pa je še prisoten, zato prihaja do porasta pojavnosti debelosti (Neel, 1962).

2.2.1 Študije dvojčkov in posvojencev

Prve študije ugotavljanja vpletenenosti genetike v razvoj debelosti so bile izvedene na študijah dvojčkov in posvojencev. Študije na dvojčkih so pokazale, da genetski faktorji vplivajo na debelost v več kot 40 % primerov (Stunkard in sod., 1986a). V študiji debelosti posvojenih otrok so primerjali ITM med posvojenci, njihovimi biološkimi starši in posvojitelji, kjer so kandidate razvrstili v štiri skupine glede na težnostni razred. Med posvojitelji in posvojenci niso ugotovili statistične podobnosti med ITM in težnostnim

razredom, med tem ko so med posvojenci in njegovimi biološkimi starši ugotovili statistično podobnost med omenjenima parametroma (Stunkard in sod., 1986b).

Čeprav dednost prispeva velik del k razvoju debelosti, je mnogo genetskih vzrokov za njen razvoj še neodkritih. V zadnjem času se za odkrivanje le-teh poslužujemo predvsem dveh načinov odkrivanja novih genetskih dejavnikov; to so metode odkrivanja kandidatnih genov in genomske povezovalne študije (angl. *genome-wide linkage methods*).

2.2.2 Metoda identifikacije kandidatnih genov

Metoda odkrivanja kandidatnih genov je pristop, ki temelji na hipotetični povezavi med genom in boleznijo pri človeku, fenotip določene bolezni pa je že znan in potrjen pri izbranih živalskih modelih. Pri študijah te vrste se poslužujemo živalskih modelov z izbrisanim dotednim genom in transgenih pristopov, kjer s pomočjo izbrane celične linije preučujemo metabolne poti. Koncept študij take vrste temelji na identifikaciji povezave med mutacijo v izbranem kandidatnem genom ali v njegovi bližini ter izbrano boleznijo, v našem primeru debelostjo (Cheung in Mao, 2011).

Velik napredek v ugotavljanju vloge genetike pri razvoju debelosti je leta 1994 doprineslo odkritje Zhanga in sodelavcev, ko so uspeli prikazati, da ima leptin - hormon, ki se sintetizira v adipoznem tkivu - ključno vlogo pri uravnavanju vnosa in porabe energije, vključujuč uravnavanje apetita in metabolizma (Zhang in sod., 1994). Od leta 1994 je število študij na področju odkrivanja genetskih vzrokov za razvoj debelosti poraslo. Rezultati nekaterih obsežnih študij nakazujejo, da je debelost tesno povezana z mutacijami v genih *MC4R*, adrenergični receptor $\beta 3$ (angl. *adrenergic receptor $\beta 3$* , kr. *ADRB3*), mutacijo v genu *PCSK1* (angl. *proprotein convertase subtilisin/kexin type 1*, kr. *PCSK1*), genom *BDNF* in kanabinoidnim receptorjem 1 (angl. *cannabinoid receptor 1*, kr. *CNR1*) (Vimaleswaran in Loos, 2010). Leptin po sintezi v adipoznem tkivu signalizira leptinski receptor v hipotalamu, kjer se signal prenese preko melacitnega hormona α na MC4R in tako omogoča zaviranje apetita in povečanje porabe energije. Motnje delovanja te signalne poti oz. prekinitev le-te vodi do najbolj močnih oblik debelosti pri otrocih (Perrone in sod., 2010).

2.2.3 Genomske povezovalne študije

Genomske povezovalne študije prav tako temeljijo na hipotetičnih genih, ki so vpleteni v razvoj določenega fenotipa, poiščemo pa jih s sekvenciranjem genoma osebkov, ki jih povezujejo sorodstvene vezi. Te študije temeljijo na sorodstvenih vezeh in pri njih ugotavljamo ali določen fenotip sovpada glede na določeno kromosomsko regijo (Cheung in Mao, 2011). Pri študiji takšnega tipa se uporablja od 400 do 600 visoko polimorfnih označevalcev, ki definirajo široke intervale na genomskej regiji, katera potrebuje dodatne

raziskave za identifikacijo vzročnega gena. Prva študija takšnega tipa je bila izvedena leta 1997, od takrat je število lokusov, povezanih z nastankom debelosti, naraslo. Vendar Saunders in sodelavci (2007) s pomočjo do takrat objavljenih 37 študij z računalniškimi algoritmi niso uspeli priti do rezultata, katerega bi lahko neposredno povezali z nastankom debelosti. To nakazuje na dejstvo, da tak tip študije ni najboljši način za odkrivanje genetskih variant, ki so povezane z debelostjo (Saunders in sod., 2007).

Uveljavitev novih metod sekvenciranja, ki so cenejše in hitrejše, t.i. sekvenciranje naslednje generacije (angl. *next-generation sequencing*, kr. *NGS*) so v zadnjem času obnovile zanimanje za genomske povezovalne študije, ki temeljijo na analizi družin z več obolelimi osebki. Tovrstne študije imajo v primerjavi s populacijskimi študijami nekaj ključnih prednosti, saj z njimi omejimo problematiko populacijske stratifikacije, lažje prepoznamo tehnične artefakte v zbranih podatkih, saj so posamezniki v teh družinah običajno nosilci redkih patoloških genetskih variant (Ionita-Laza in sod., 2013). S takšnimi študijami so že bile odkrite nekatere redke genetske variante pri multifaktorskih bolezni, ko je bipolarna motnja (Cruceanu in sod., 2013) in volče žrelo (Bureau A. in sod., 2014).

Genomske asociacijske študije (angl. *Genome Wide Association Study*, kr. *GWAS*), so prav tako kot povezovalne študije na celotnem genomu, le da pri njih izbiramo osebke naključno, brez sorodstvenih vezi. Te študije so v primerjavi s povezovalnimi bolj natančne, saj ne temeljijo na predpostavkah, identifikacija pozitivnega signala pa potrebuje v primerjavi s povezovalnimi študijami manj dodatnih raziskav za identifikacijo posameznega pozitivno zaznanega gena, zato so jih z leti popolnoma nadomestile (Vimaleswaran in Loos, 2010). V času razvoja GWAS so preko treh valov različnih obsežnih študij odkrili veliko število odkritij na področju genetike debelosti. Najmočnejšo povezavo med odkritimi geni in debelostjo beležijo z genom *FTO* (angl. *fat-mass and obesity associated gene*). Povezave so odkrili tudi med geni, ki imajo vsi vlogo v živčnem sistemu, kar dodatno povezuje vlogo živčnega sistema pri razvoju debelosti (McCarthy, 2010).

Zavedati se moramo, da imajo dedni dejavniki v kombinaciji z okoljskimi in ostalimi dejavniki pomembno vlogo pri možnostih nastanka debelosti, vendar genetski dejavniki, ki so bili odkriti do sedaj, pojasnijo le majhen delež pojavov debelosti. Potencial, ki ga ima odkrivanje genetskih dejavnikov, ki so povezani z nastankom debelosti, vzpodbuja znanstvenike, da še naprej raziskujejo in iščejo nove genetske variante ter s tem pripomorejo k ciljanemu in učinkovitejšemu zdravljenju debelosti, predvsem pa k preprečevanju njenega nastanka.

2.3 ŽIVALSKI MODELI PRI RAZISKAVAH DEBELOSTI

Živalske modele pri raziskavah debelosti lahko delimo na dve veliki skupini; živalske modele za študije debelosti, ki so genetsko spremenjene in tiste, ki so genetsko intaktne ter

izpostavljeni dejavnikom, ki inducira debelost, kot so na primer diete z visoko vsebnostjo maščob (angl. *high-fat diet*, kr. *HFD*). Kot smo že omenili, na debelost vplivajo tudi dejavniki, ki regulirajo vnos hrane, apetit in občutek sitosti oz. lakote, kot sta leptin ali leptinski receptor.

Večina živalskih modelov, ki služijo za raziskovanje debelosti so majhni glodavci, kot sta miš in podgana, vendar se moramo zavedati, da večina sesalcev, ki živi v izobilju hrane, kot so na primer živali v živalskih vrtovih, razvije debelost (Lutz in Woods, 2012).

2.3.1 Monogeni modeli

2.3.1.1. Spontane mutante

Nekaj dobro opisanih spontanih monogenih glodalskih modelov, ki se uporabljam za proučevanje debelosti je znanih že preko petdeset let. Med njimi so t.i. agouti rumena (angl. *Agouti yellow*) miš, mahagoni miš (angl. *mahogany*), miš z mutacijo v genu karboksipeptidaza E (angl. *fat mouse*), »debela« miš in »diabetična« miš (Chen in Garg, 1999) ter t.i. tubby miš (Robinson in sod., 2000).

Najbolj pogosto izbran živalski model za proučevanje debelosti je miš, ki nosi v genu za zapis hormona leptina mutacijo, ki vodi do blokade v produkciji leptina, to je miš Lep^{ob}/Lep^{ob} . Znana je tudi pod imeni miš *ob/ob* in »debela« miš (angl. »*obese*« *mouse*). Znanost je bila predstavljena v petdesetih letih 20. stoletja, njena vsespolna uporaba pri proučevanju debelosti pa je narasla v devetdesetih letih istega stoletja (Lutz in Woods, 2012). V veliki večini primerov otroške debelosti, kjer je sum na sindromski ali monogeni vzrok razvoja debelosti ovržen, sumimo na poligene vzroke razvoja debelosti. Splošno so monogeni vzroki razvoja debelosti redki, znanih je nekaj mutacij v genih, kateri so ključni dejavniki pri razvoju debelosti v otroštvu. Večina teh genov je vpletene v uravnavanje občutka sitosti in lakote preko centralnega živčnega sistema. Od znanih monogenih oblik debelosti pri ljudeh je mutacija v genu za zapis hormona leptina edina dedna oblika monogene debelosti (Funcke in sod., 2014).

Mišji živalski model, ki ima prav tako mutacijo v signalni poti leptina, je t.i. »diabetična« miš (angl. »*diabetic*« *mouse*) ali miš *db/db* oz. miš Lep^{db}/Lep^{db} . Zanje je značilno, da sicer proizvaja leptin, vendar nima leptinskih receptorjev, ki bi signal sprejeli in prenesli na POMC. Ta mutacija rezistence na leptin je spontana mutacija, ki se pojavlja tudi pri ljudeh, vendar je zelo redka (Lutz in Woods, 2012). Poznana je tudi miš, ki ima inducirano mutacijo in je prav tako odporna na leptin, imenuje se miš *s/s*, saj ima mutacijo v genu signalni transducer in aktivator 3 (angl. *signal transducer and activator of transcription 3*, kr. *Stat3*), ki je ključnega pomena v leptinski signalni poti.

Model aguti rumena miš ali krajše miš A^y je prepoznavna po rumenoobarvanem kožuhu in debelem fenotipu, katerega povzroči mutacija v genu *agouti*. Omenjeni gen deluje kot

antagonist receptorja MC4R (Robinson in sod., 2000). Miši z opisano mutacijo imajo poleg značilnega rumenega kožuha tudi druge lastnosti kot so hiperfagija, debelost, hiperinzulinemija ter neplodnost (Chen in Garg, 1999).

Za model miši mahagoni je značilna spontana mutacija v genu *mahogany*, ki kodira zapis za transmembransko obliko proteina atraktina (angl. *attractin*, kr. *Atrn*). Homozigotne mutacije v genu *Atrn* zavirajo fenotipe, ki so značilni za aguti rumeno miš, takšne miši imajo v primerjavi z divjim tipom normalno telesno maso, njihove ravni inzulina in leptina so prav tako primerljive z vrednostmi pri divjem tipu (Robinson in sod., 2000).

Miši z mutacijo v genu *tubby* (kr. *Tub*) pozno razvijejo debelost, za njih je značilno, da ne razvijejo diabetesa, s časom pa postanejo gluhe, pojavi se tudi degradacija mrežnice. Gen *tubby* je del družine *tubby-like* podobnih genov (angl. *Tubby-like*), katerih funkcija še ni popolnoma raziskana (Chen in Garg, 1999).

Miš z mutacijo v genu karboksipeptidaza E (angl. *carboxypeptidase E*, kr. *Cpe*) je znana pod imenom »fat« miš. Za njih je značilno, da pozno po rojstvu razvijejo debelost ter hiperproinzulinemijo, hiperglikemijo pa razvijejo le samci. Mutacija v genu *Cpe* povzroči neaktivnost encima karboksipeptidaze E, ki je eden izmed dejavnikov v *Pomc* signalni poti (Chen in Garg, 1999).

Poznamo tudi podgane, ki v svojih celicah ne izražajo leptinskih receptorjev, to so podgane Zucker, Koletsky in Zucker Diabetic Fatty (kr. *ZDF*) in so analogne mišim *Lep^{db}/Lep^{db}*. Vse tri vrste podgan imajo zmanjšano število vezavnih mest za leptin, zaradi česar prihaja do motenj v leptinski signalni poti in do debelega fenotipa (Lutz in Woods, 2012). Miš z izničenim genom *Fto* prav tako razvije debelost (Church in sod., 2009).

2.3.1.2 Transgeni modeli

Poleg zgoraj naštetih živalskih modelov, kateri so nastali s spontano mutacijo, poznamo tudi mnoge druge modele, kateri so bili razviti posebej za preučevanje debelosti. To so mišji in podganji modeli z izničenim specifičnim genom. En izmed takšnih mišjih modelov je miš z izničenim genom *Pomc* (angl. *Pomc knockout mouse*). Poznamo še miš z izničenim genom *Mc4r* (angl. *Mc4r knockout mouse*) podgana Otsuka Long Evans Tokushima Fatty rat (kr. *OLETF*) in mnoge druge (Lutz in Woods, 2012).

2.3.2 Poligeni modeli, inducirani z dieto

Poligeni modeli za raziskave debelosti so v primerjavi z monogenimi modeli bolj primerni za raziskave debelosti, saj je večina pojavov debelosti pri človeku povezana s številnimi geni in dejavniki, med drugim tudi povečanim vnosom zaužite hrane. Nekaj odstotkov primerov debelosti predstavljajo tudi monogene mutacije, kot je na primer okvara

leptinskega receptorja ali pomanjkanje leptina, za raziskovanje takšnih oblik debelosti so monogeni živalski modeli bolj primerni (Nilsson in sod., 2012).

Poligeni živalski modeli za debelost, ki jih induciramo z visoko kalorično krmo so se razvili iz poskusa na podaganah Sprague-Dawley (kr. *SD*), kjer poznamo dve podskupini *SD* podgan; z dieto inducirane debele podgane (angl. *diet-induced obese*, kr. *DIO*) in na dieto rezistentne podgane (angl. *diet-resistant*, kr. *DR*) (Lutz in Woods, 2012).

Ob izpostavljenosti dieti, ki vsebuje živila z visoko energijsko vrednostjo, so nekatere podgane *SD* razvile debelost, druge pa so obdržale enako telesno maso kot kontrolna skupina podgan. Ti dve skupini so nato skozi generacije parili selektivno in tako sta se razvila dva nova poligena živalska modela; podgane *DIO* in podgane *DR*. Podgane *DIO* bolje opomašajo razvoj človeške debelosti kot večina genetsko spremenjenih monogenih živalskih modelov, vendar so slednje bolj primerne za raziskave tarčnih zdravil proti debelosti (Lutz in Woods, 2012).

Poleg diete HFD poznamo še dieto, ki opomaša zahodni način prehranjevanja ljudi (angl. *cafeteria diet*), pri živalskih modelih pa Novozelandsko debelo miš (angl. *New Zealand obese mouse*), ki ima poleg debelosti še hujšo obliko diabetesa tipa 2.

Linija miši M16 je bila vzrejena z namenom odkrivanja in proučevanja genov in metabolnih poti, ki uravnavajo poligene oblike debelosti in diabetesa tipa 2, ki se razvijeta kmalu po rojstvu. Za miši iz omenjene linije je značilno, da zgodaj po rojstvu razvijejo debelost in diabetes tipa 2, pojavi se tudi hiperglikemija, hiperinzulinemija in hiperholisterolemija, kar lahko primerjamo tudi z razvojem podobnega fenotipa pri človeku (Allan in sod., 2004).

Linija miši Berlinska debela miš (angl. *Berlin fat mouse*, kr. *BFM*) je bila razvita iz osnovne heterogene populacije miši z namenom, da bi identificirali posamezne gene, ki so vpleteni v razvoj debelosti. Za linijo je značilno, da imajo v telesu visok odstotek maščobnega tkiva ter nizek odstotek vsebnosti proteinov (Wagener in sod., 2005).

Debela linija *F* (angl. *fat*) in vitka linija (angl. *lean*) sta bili razviti na univerzi v Edinburghu, kjer so za njun razvoj z dvosmerno selekcijo križali kar šestdeset generacij miši, selekcionirali pa so jih na podlagi vsebnosti maščobnega tkiva v telesu (Bünger in Hill, 1999). Horvat in sodelavci (2000) so s kvantitativno analizo lokusov (angl. *quantitative trait locus*, kr. *QTL*) pri križancih med obema linijama miši identificirali štiri kromosomske regije, ki vsebujejo gene, ki imajo velik vpliv na delež maščobe v telesu. Lokusi se nahajajo na kromosomih 2, 12, 15 in kromosому X.

2.3.3 Ostali živalski modeli

Poleg monogenih in poligenih živalskih modelov, ki služijo za raziskovanje debelosti, je znanih mnogo drugih modelov, kot so modeli, ki imajo operativno ali kemijsko inducirano debelost. Pri operativnih ali kemijskih indukcijah se poslužujemo odstranitve ali kemijskega tretiranja ventromedialnega hipotalamus, paraventrikularnega mukleusa in drugih predelov v hipotalamusu, ki uravnavajo apetit in raven inzulina. Operativno ali kemijsko lahko induciramo tudi menopavzo, tak model pa nam služi za raziskovanje debelosti, ki se pojavi pri ženskah v menopavzi. Za preučevanje debelosti se uporabljam tudi lipodistrofične miši, ki nimajo maščobnega tkiva, zaradi rezistence na inzulin in diabetesa tipa 2, hiperfagije (požrešnosti) pa razvijejo debelost (Lutz in Woods, 2012).

3 MATERIALI IN METODE

V tem poglavju bomo predstavili materiale in metode, ki smo jih uporabili pri izdelavi magistrskega dela.

3.1 MATERIALI

3.1.1 Podatkovne zbirke in bioinformacijska orodja

Genski atlas za debelost je podatkovna zbirka v kateri je izbrano 1736 lokusov, ki so povezani z debelostjo. Od tega je 1515 protein-kodirajočih genov in 221 zaporedij mikro-ribonukleinske kisline (kr. *mikroRNA*), zbranih od štirih sesalskih organizmov: človeka, goveda, podgane in miši. Identificiranim genom so bili določeni ortologi za človeka, govedo in miš, ki so kot kandidatni geni dostopni v podatkovni zbirki (Kunej in sod., 2013).

Ensembl je podatkovna zbirka, ustanovljena leta 1999. Cilj ustanovitve zbirke je vzpostavitev avtomatiziranega načina anotacije človeškega genoma, njegove integracije z drugimi dostopnimi biološkimi informacijami ter omogočiti prost dostop do zbirke (Birney in sod., 2004).

Orodje BioMart je del podatkovne zbirke Ensembl in omogoča dostop do mednarodne znanstvene skupnosti z namenom, da bi povečal sodelovanje med znanstveniki in s tem omogočil znanstveni napredek. Povezan je s 46 podatkovnimi zbirkami na štirih celinah (Kasprzyk, 2011). Podatkovna zbirka vključuje podatke s področja proteomike, genomike, podatke s področja rakavih obolenj, modelnih organizmov in mnogo drugih. Na portalu www.biomart.org je med drugim možno na podlagi homologije med seboj elektronsko primerjati različne organizme ter poiskati genetske variante (Smedley in sod., 2015)

QuickGO browser je dostopen na spletni strani www.ebi.ac.uk/QuickGO/ in je brskalnik v sklopu podatkovne zbirke Gene Ontology (kr. *GO*). Iskalcu s pomočjo številnih nastavljivih filtrov omogoča napredno brskanje po podatkovni zbirki. Je edini spletni brskalnik, ki omogoča iskanje anotacij pri skoraj 190.000 vrstah tako elektronsko kot ročno (Huntley in sod., 2009).

GeneMANIA je bioinformacijsko orodje, ki uporabniku omogoča, da lahko predpostavi funkcijo izbranega gena ter identificira druge gene, ki so povezani z izbranim genom ali setom genov. Temelji na predhodno identificiranih obstoječih interakcijah, ki so objavljene v strokovni literaturi in jih s pomočjo programa lahko razberemo. GeneMANIA zajema proteinske in genetske interakcije, genetske poti, sočasno izražanje in lokalizacijo ter podobnost proteinske domene (Warde-Farley in sod., 2010).

GO Enrichment Analysis je orodje, ki deluje v sklopu podatkovne zbirke GO. Njegova funkcija je analiza posameznih naborov genov. Iskalec lahko, ko določi nabor genov, ki jih

želi analizirati, izbira med različnimi organizmi, kot so človek, miš, podgana in kvasovka ter drugi. S pomočjo orodja lahko genom določi biološke procese v katere so geni vključeni, molekularne funkcije, ki jih opravlja in celično komponento v kateri se izražajo (GO Enrichment ..., 2015)

Bioinformacijsko orodje BLAST (angl. *Basic Local Alignment Search Tool*) temelji na algoritmu, ki omogoča primerjavo zaporedij med različnimi organizmi. Primerjamo lahko aminokislinsko ali nukleotidno zaporedje (Madden, 2008).

3.1.2 Sevi kvasovke in pogoji rasti

3.1.2.1 Sevi

Sevi, ki smo jih izbrali v tej magistrski nalogi so delecijske mutante *Saccharomyces cerevisiae* BY. Uporabili smo seve *ylr446wΔ*, *glk1Δ*, *izh2Δ*, *hxk1Δ*, *hxk2Δ*, *npp2Δ*, *emi2Δ*, *fat1Δ*, *npp1Δ*, *awri1632Δ* his 39: Nat in *y7092Δ*. Njihova vloga v metabolizmu kvasovke je podrobneje opisana v poglavju Rezultati.

3.1.2.2 Pogoji rasti

Seve kvasovke smo gojili na minimalnem gojišču, kateremu smo dodali aminokislinsko mešanico, 24 ur pri 30 °C.

Minimalno gojišče (angl. *minimum medium*, kr. *MM*):

- Glukoza, Fluka, 4000 mg
- Kvasna dušikova baza (angl. *yeast nitrogen base*, kr. *YNB*), Formedium, 1340 mg
- 2-(N-morfolino) etansulfonična kislina (angl. *2-(N-morpholino) ethanesulfonic acid*, kr. *MES*), 2 ml založne raztopine s koncentracijo 1 M
- Aminokislinska mešanica, 400 mg
- Inozitol, myo-inositol, Fluka 0,1 ml založne raztopine s koncentracijo 8 mg/l
- Histidin, L-histidine, non-animal source, SIGMA, China, 70 mg

Aminokislinska mešanica

- Adenin, adenin hemisulfate salt, SIGMA, China, 3 g
- Alanin, SERVA, FEINBIOCHEMICA HEIDELBERG/NEW YORK, 2 g
- Asparagin, L-asparagine monohydrate, SIGMA, USA, 2 g
- Asparaginska kislina, L-aspartic acid, non-animal source, SIGMA, China, 2 g
- Cistein, l-cysteine, non-animal source, SIGMA, Japan, 2 g
- Glutamin, L-glutamin, SERVA, Heidelberg, 2 g
- Glutaminska kislina, L-glutamic acid, SIGMA, USA, 2 g
- Glicin, SERVA, Heidelberg, 2 g
- Inositol, Myo-inositol, Fluka, Japan, 2 g

- Izolevcin, L-isoleucine, non-animal source, SIGMA, USA, 2 g
- Levcin, Bios laboratories Inc., USA, 10 g
- Metonin, L-methionine, SERVA, Heidelberg, 2 g
- Fenilalanin, L-phenylalanine, SERVA, Heidelberg, 2 g
- Prolin, L-proline, MERCH, Germany, 2 g
- Serin, L-serine, SIGMA, USA, 2 g
- Treonin, L-threonine, SERVA, Heidelberg, 2 g
- Triptofan, L-tryptophan, FLUKA, Germany, 2 g
- Tirozin, L-tyrosine, SERVA, Heidelberg, 2 g
- Uracil, SERVA, Heidelberg, 2 g
- Valin, L-valine, FLUKA, Germany, 2 g

3.1.3 Ostali materiali

- Pipete z nastavki
- Gorilnik
- Tehtnica in tehtalne ladjice
- Mikrotitrskie ploščice s 96 luknjicami (angl. *96-well plate*)
- Membrane»Easy Breath«
- Barvilo »Nile Red«
- Dimetil sulfoksid (kr. *DMSO*)
- Čitalec mikrotitrskih ploščic (Tecan)

3.2 METODE

3.2.1 Posodobitev podatkovne zbirke Genski atlas za debelost pri sesalcih

Genski atlas za debelost pri sesalcih (angl. *Obesity gene atlas in mammals*), avtorjev Kunej in sodelavcev (2013) je podatkovna zbirka, dostopna na spletnem naslovu http://www.integratomics-time.com/fat_deposition, ki smo jo posodobili, podatke, ki jih vključuje, pa smo dodatno analizirali. Članke, na podlagi katerih smo posodobili podatkovno zbirko, smo izbrali s podatkovnim rudarjenjem strokovne literature (angl. »literature mining«), ki na podlagi ključne besede poda ustrezne strokovne članke. Gesla za podatkovno rudarjenje so bila: »adipogenesis«, »obesity«, »fat deposition«. Gene smo selekcionirali tako, da smo izbrali le tiste, ki neposredno vplivajo na debelost pri človeku. Tako smo izključili vse tiste, ki na debelost vplivajo posredno, čeprav pri tem pride do nalaganja maščob. Prav tako nismo upoštevali genov, pri katerih ni bila dokazana vpletjenost v kopiranje maščob, pač pa je bil podan le sum. Pri tem smo izključili članke, kjer so gene povezali z debelostjo preko asociacijskih študij GWAS. Izločili smo tudi gene, ki povzročajo različne sindrome, kot je na primer sindrom Prader-Willi, katerega posledica je lahko tudi debelost.

3.2.2 Identifikacija ortognih genov med kvasovko, človekom, podgano in mišjo

Za iskanje kvasnih ortologov genom, ki so zbrani v genskem atlasu za debelost, smo uporabili orodje BioMart, ki je dostopen na spletnem naslovu <http://www.ensembl.org/biomart>. Pri tem smo uporabili avtomatiziran način, kjer smo uporabili filter, ki omeji iskanje samo v človeškem (mišjem, podganjem) genomu, glede na lastnosti (angl. *attributes*). Iskanje smo omejili na homologne gene, natančneje ortologe kvasovke *Saccharomyces cerevisiae*, ki smo jih iskali z uradnimi simboli in sinonimi. Bazo in orodja Ensembl (dostopen na spletnem naslovu <http://www.ensembl.org/index.html>) smo uporabili tudi za ročno iskanje ortognih genov, ki je služilo za preverjanje rezultatov in identifikacijo kvasnih ortologov, ki smo jih dobili z avtomatiziranim načinom iskanja, kjer smo v okno »išči« vpisali človeški gen, za katerega predvidevamo, da ima kvasnega ortologa. Nato smo v možnosti prikaza izbrali »comparative genomics/orthologs« in omejili prikaz na *S. cerevisiae*.

Gene, ki so vpletene v metabolizem lipidov, smo pridobili z orodjem QuickGO browser, kateri je dostopen na spletnem naslovu <http://www.ebi.ac.uk/QuickGO/>. Njihove ortogene kvasovke smo identificirali na enak način, le da smo iskanje omejili s filtrom, ki omogoča iskanje le med določenim metabolnim procesom (angl. *GO Term Accession: lipid metabolic process*).

3.2.3 Identifikacija dodanih genov in njihovih ortologov z orodjem GeneMANIA

Glede na identificirane ortologe med izbranimi organizmi in kvasovko smo izbrali tiste, ki so skupni vsem trem preiskovanim organizmom (človek, miš, podgana). Izbrane gene smo vnesli v bioinformacijsko orodje GeneMANIA za izris in analizo genskih mrež, s katerim smo poiskali dodatne gene, ki so povezani z naborom izbranih genov preko različnih genskih povezav oz. interakcij. Pri analizi smo izbrali štiri tipe interakcij, ki so raziskane pri vseh organizmih; sočasno izražanje (angl. *co-expression*), kolokalizacija (angl. *co-localization*), računsko napovedane interakcije (angl. *predicted*) in skupne proteinske domene (angl. *shared protein domains*). Za uteževanje smo uporabili metodo uteževanja glede na nabor genov (angl. *assigned based on query genes*). Za izris različnih genetskih mrež smo spremenjali število prikaza dodanih genov (10, 20, 50 in 100) in pri tem spremeljali spremenjanje arhitekture le-teh. Pri genih za lipidni metabolizem smo spremeljali podobnost le med človekom in kvasovko.

Z orodjem BLAST, ki je del podatkovne zbirke Nacionalnega centra za informacijsko biotehnologijo (angl. *National Center for Biotechnology Information*, kr. *NCBI*) smo identificirali homologne gene človeka, miši in podgane, ki so se v orodju GeneMANIA pojavili kot dodani geni pri *S. cerevisiae*. Pri tem smo spremeljali, kolikšno število le-teh se pojavi kot dodani geni v orodju GeneMANIA in evolucijsko razdaljo med nastankom

kvasovke in izbranega organizma. Preverili smo tudi homogene gene med tistimi geni, ki se pri človeku, miši in podgani pojavijo kot dodani in predhodno niso bili identificirani kot homologi z geni kvasovke. Vse identificirane homologne gene smo ločili glede na evrednost algoritma BLAST. Mejno vrednost, ki je ločila med naključno podobnimi in tistimi, ki jih sprejmemo kot homologe, smo postavili pri 10^{-10} , ki je običajno uporabljena konzervativna meja za sklepanje o homologiji na podlagi podobnosti med zaporedjima.

3.2.4 Laboratorijska analiza z uporabo barvila Nile Red

Vlogo izbranih kvasnih ortologov v metabolizmu lipidov smo preverili tudi z laboratorijsko analizo, kjer smo preverjali vsebnost lipidov v celicah z uporabo barvila Nile Red. Pripravili smo MM gojišče, ki sestoji iz glukoze, YNB, MES, inozitola ter aminokislinske mešanice. Koncentracije sestavin so bile za glukozo 20 g/l, YNB 6,7 g/l, MES 20 mM, inozitol 8 mg/l ter aminokislinsko mešanico 2 g/l. Pripravili smo 200 ml MM gojišča tako, da smo v destilirani vodi zmešali 400 mg že pripravljene aminokislinske mešanice, 4000 mg glukoze, 1340 mg YNB. Gojišče smo razdelili v dve steklenički po 100 ml. Po avtoklaviranju smo dodali v 100 ml gojišča 0,1 ml filter sterilizirane založne raztopine inozitola s koncentracijo 8 mg/ml ter 2 ml 1 M založne raztopine MES. Pripravili smo založno raztopino histidina, ki smo ga morali dodati v gojišče, saj je BY sev avksotrofen. Založno raztopino s koncentracijo 3500 mg/l smo pripravili tako, da smo zatehtali 70 mg histidina in ga raztopili v 20 ml destilirane vode. Končna koncentracija raztopine v gojišču je bila 35 mg/l, zato smo v 100 ml gojišča dodali 1 ml založne raztopine histidina.

Ob gorilniku v sterilnem laboratoriju smo z multikanalno pipeto v mikrotitrsko ploščo s 96 vdolbinicami dodali 200 µl pripravljenega MM gojišča. V vsako vdolbinico smo s pipeto sterilnimi nastavki prenesli inokulum izbrane delecijske mutante po vzorcu iz slike 1. Ploščo smo prekrili z 'Easy Breath' membrano, ki zmanjša izhlapevanje, omogoča prenos kisika in zmanjša možnost kontaminacije. Inkubirali smo 24 ur pri 30 °C.

Po inkubaciji smo prenesli 180 µl MM gojišča v sterilno mikrotitrno ploščo s 96 vdolbinicami dodali 20 µl gojišča iz prekonočne kulture ter prekrili z 'Easy Breath' membrano, ki prepreči kontaminacijo, a omogoči izmenjavo plinov. Inkubirali smo 72 ur +/- 1 ura pri 30 °C.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B		1	6	2	7	Y	8	3	9	4	A	
C		2	7	Y	8	3	9	4	A	5	1	
D		Y	8	3	9	4	A	5	1	6	2	
E		3	9	4	A	5	1	6	2	7	Y	
F		4	A	5	1	6	2	7	Y	8	3	
G		5	1	6	2	7	Y	8	3	9	A	
H												

Slika 1: Načrt postavitve različnih delecijskih mutant v mikrotitrski plošči. Legenda: 1: *ylr446wΔ*, 2: *glk1Δ*, 3: *izh2Δ*, 4: *hxk1Δ*, 5: *hxk2Δ*, 6: *npp2Δ*, 7: *emi2Δ*, 8: *fat1Δ*, 9: *npp1Δ*, A: *awri1632Δ his 39*: Nat, Y: *y7092Δ*.

Po 72 urah inkubacije smo izmerili optično gostoto pri 595 nm in fluorescenco ozadja pri 488 in 510 nm. Štirikratno redčitev vzorcev smo pripravili tako, da smo v vsako vdolbinico v črni mikrotitrski plošči s 96 vdolbinicami s prosojnim dnom odpipetirali 150 µl destilirane vode in 50 µl vzorca, resuspendirali in izmerili optično gostoto in fluorescenco ozadja s čitalcem mikrotitrskih ploščic pri 595 nm.

Barvilo Nile Red smo pripravili tako, da smo razredčili 50 µl založne raztopine barvila s koncentracijo 2,1 mg/ml z 950 µl destilirane vode, da je bila končna koncentracija 0,105 mg/ml. V posamezno vdolbinico z 200 µl celične suspenzije na mikrotitrski plošči smo dodali 10 µl barvila in resuspendirali. Inkubirali smo v temi na sobni temperaturi 25 minut. S čitalcem mikrotitrskih ploščic smo izmerili fluorescenco pri 488 in 510 nm. Emitirano svetlobo smo merili pri treh različnih valovnih dolžinah; 560, 620 in 585 nm. Pri 560 nm smo z izbrano segregacijsko analizo merili količino triacilgliceridov (kr. TAG), pri 620 nm količino vseh lipidov v celici ter pri 585 nm količino TAG in del fosfolipidov, ki absorbirajo svetlobo pri tej valovni dolžini.

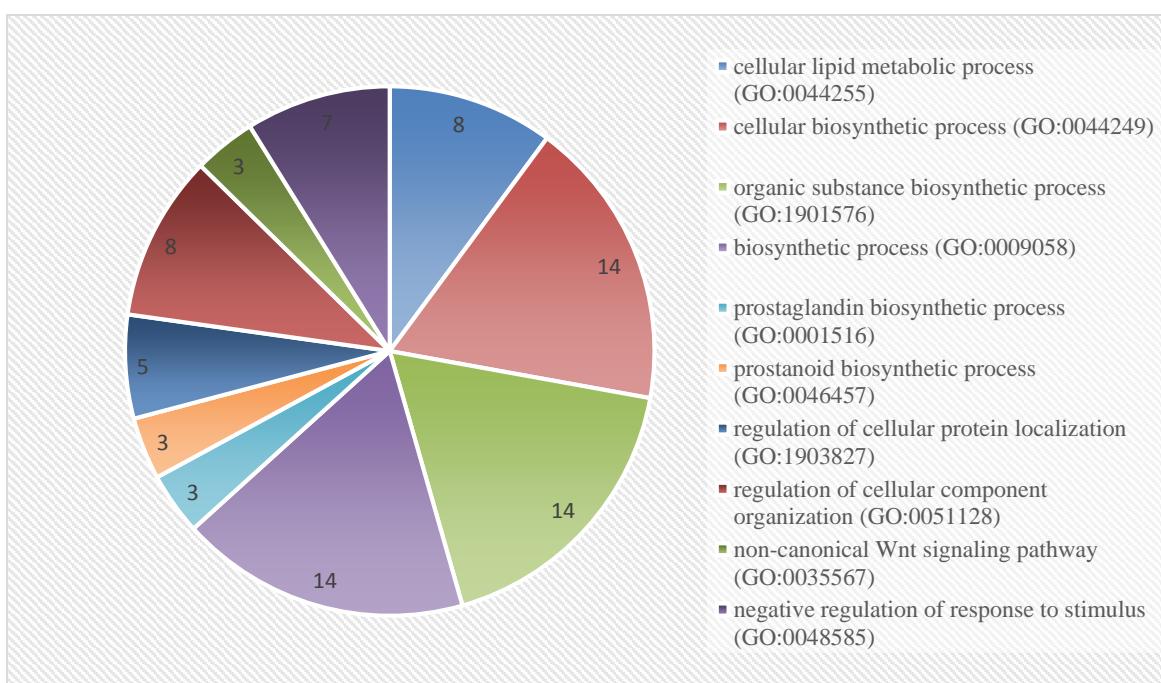
4 REZULTATI

4.1 POSODOBITEV PODATKOVNE ZBIRKE GENSKI ATLAS ZA DEBELOST

Podatkovno zbirko genski atlas za debelost pri sesalcih smo dopolnili s 53 novo identificiranimi geni, ki so prikazani v prilogi A. Zaradi boljše preglednosti smo navedli le angleška standardizirana imena oziroma funkcije. Od teh je 28 genov povezanih z debelostjo pri miši, 12 pri podgani in 13 pri človeku. Gene smo zbrali na podlagi člankov, pridobljenih s podatkovnim rudarjenjem strokovne literature in so vpleteni v razvoj debelosti.

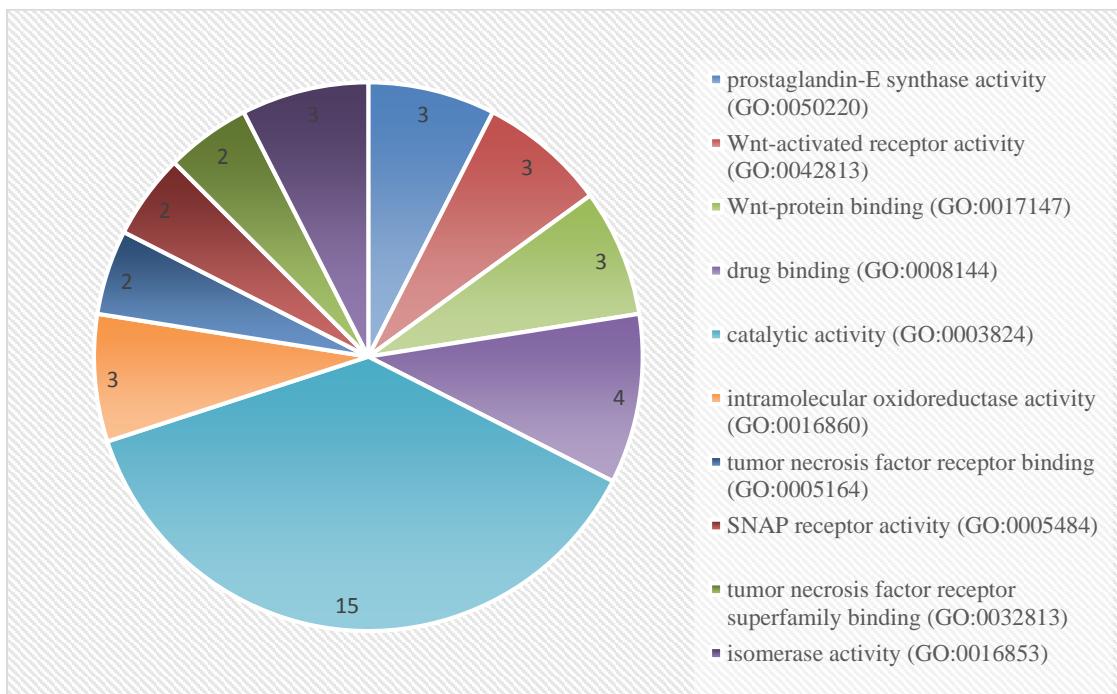
Genom, s katerimi smo dopolnili obstoječo zbirko smo s pomočjo orodja GO Enrichment Analysis določili biološki proces, v katerem sodelujejo, molekularno funkcijo in celično komponento. Orodje GO Enrichment Analysis poda število genov s posamezno anotacijo za vse biološke procese, molekularne funkcije in celične komponente za posamezni organizem, za katere je bil predhodno anotiran vsaj en gen iz zbirke Gene Ontology in rezultat poda kot frekvenco ozadja (angl. *Background frequency*). Izmed vseh anotacij za vsa Gene Ontology gesla (angl. *Term*) orodje prepozna število genov iz nabora, ki imajo anotacijo za posamezno geslo in rezultat prepozna kot frekvenco vzorca (angl. *Sample frequency*).

Zaradi boljše preglednosti in razumevanja smo pri analizi podatkov ohranili izvorno standardizirano angleško klasifikacijo. V sliki 2 je grafično prikazanih predstavljenih 10 statistično najbolj značilnih bioloških procesov, v katerih sodelujejo novo identificirani geni človeka, miši in podgane, ki sodelujejo pri razvoju debelosti. Številke v grafu na sliki prikazujejo število tistih genov iz nabora novo identificiranih genov, ki imajo anotacijo za izbran biološki proces (molekularno funkcijo ali celično komponento). Med prikazanimi biološkimi procesi nam orodje poda tudi druge biološke procese, kot je uravnavanje aktivnosti lipidne kinaze, transporta lipidov, uravnavanje metabolizma lipidov, katabolizem maščobnih kislin. Od več kot 13.000 bioloških procesov, katere orodje GO Enrichment Analysis prepozna, da so v njih vpleteni človeški geni, 13 novo identificiranih genov človeka sodeluje pri nekaj manj kot 1.200 bioloških procesih. Pri 13.165 bioloških procesih, v katere so vpleteni mišji geni in nam jih orodje poda, 28 novo identificiranih genov miši sodeluje pri 1.280 bioloških procesih. Od 13.374 bioloških procesov, pri katerih sodelujejo podganji geni in jih orodje prepozna, 12 novo identificiranih genov podgane sodeluje pri 775 procesih.



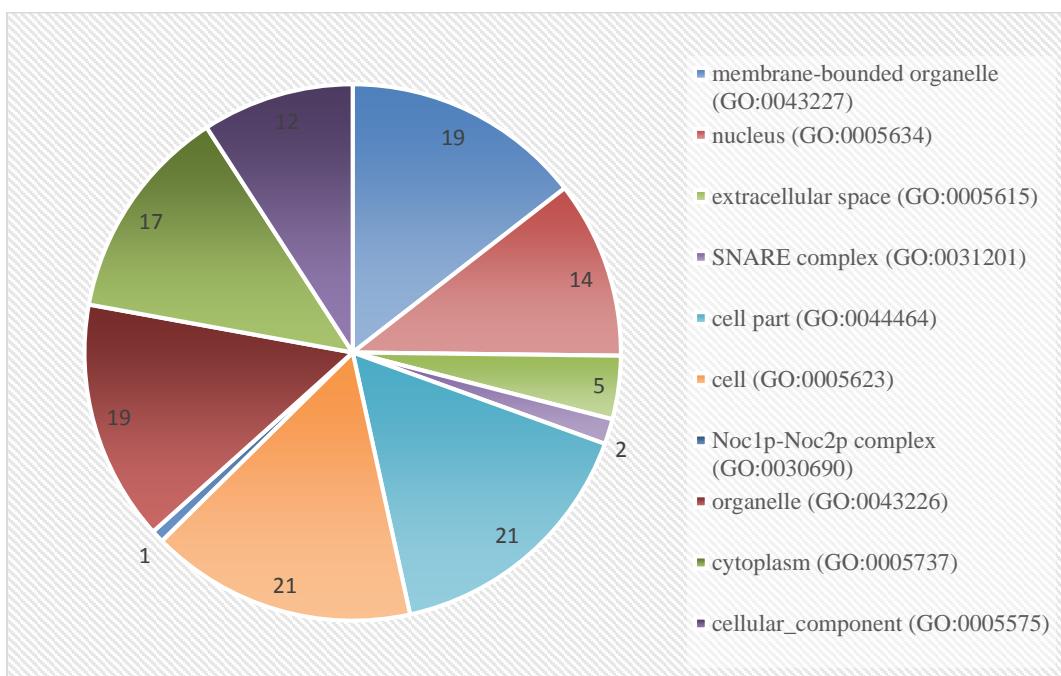
Slika 2: Grafični prikaz 10 statistično najbolj značilnih bioloških procesov, v katerih sodelujejo novo identificirani geni človeka, miši in podgane, ki sodelujejo pri razvoju debelosti. Številke v grafu na sliki prikazujejo število tistih genov iz nabora novo identificiranih genov, ki imajo anotacijo za izbran biološki proces.

Slika 3 grafično prikazuje 10 statistično najbolj značilnih molekularnih funkcij novo identificiranih genov človeka, miši in podgane, ki sodelujejo pri razvoju debelosti. Poleg prikazanih molekularnih funkcij v naboru najdemo tudi aktivnost lipidne fosfataze (angl. *lipid phosphatase activity*), aktivnost transporta glikolipidov, uravnavanje aktivnosti lipidne kinaze in druge molekularne funkcije. Od 4.162 molekularnih funkcij, pri katerih sodelujejo človeški geni in jih orodje GO Enrichment Analysis prepozna, na novo identificirani človeški geni sodelujejo pri 105 procesih. Od 4.658 molekularnih funkcij, pri katerih sodelujejo geni miši in jih orodje prepozna, na novo identificirani mišji geni sodelujejo pri 235 molekularnih funkcijah, ter od 4.057 molekularnih funkcij, ki jih orodje prepozna, na novo identificirani geni podgane sodelujejo pri 113.



Slika 3: Grafični prikaz 10 statistično najbolj značilnih molekularnih funkcij, v katerih sodelujejo novo identificirani geni človeka, miši in podgane, ki sodelujejo pri razvoju debelosti. Številke v grafu na sliki prikazujejo število tistih genov iz nabora novo identificiranih genov, ki imajo anotacijo za izbrano molekularno funkcijo.

Slika 4 grafično prikazuje 10 statistično najbolj značilnih celičnih komponent, v katerih se izražajo novo identificirani geni človeka, miši in podgane. Med celičnimi gradniki oziroma razdelki, v katerih se izražajo produkti novo identificiranih sesalskih genov, ki sodelujejo pri razvoju debelosti poleg spodaj prikazanih, nam orodje poda še proteinske komplekse, plazemsko membrano, jedro in druge celične komponente. Od 1.582 celičnih komponent, katere orodje prepozna kot tiste, v katerih se izražajo človeški geni, se novo identificirani človeški geni izražajo v 130. Novo identificirani mišji geni se izražajo v 146 celičnih komponentah od 1.529 celičnih komponent, za katere je znano, da so mesto izražanja mišjih genov in jih orodje GO Enrichment Analysis prepozna. Celičnih komponent, ki so mesto izražanja podganjih genov in jih orodje prepozna, je 1.533. Od tega je 85 takšnih, v katerih se izražajo novo identificirani podganji geni.



Slika 4: Grafični prikaz 10 statistično najbolj značilnih celičnih komponent, v katerih se izražajo novo identificirani geni človeka, miši in podgane, ki sodelujejo pri razvoju debelosti. Številke v grafu na sliki prikazujejo število tistih genov iz nabora novo identificiranih genov, ki imajo anotacijo za izbrano celično komponento.

4.2 IDENTIFIKACIJA ORTOLOGNIH GENOV, KI SODELUJEJO PRI RAZVOJU DEBELOSTI MED KVASOVKO, ČLOVEKOM, PODGANO IN MIŠJO

S samodejnim načinom iskanja homolognih genov z orodjem BioMart smo izmed predhodno pridobljenih genov iz zbirke genov, ki je objavljena v Genskem atlasu za debelost in 53 na novo identificiranih genov identificirali več ortolognih genov: 36 med mišjo in kvasovko, 34 med podgano in kvasovko, in 32 ortologov med človekom in kvasovko. Identificirali smo 26 genov, ki so skupni vsem trem organizmom, pri kvasovki pa se na račun šestih paralogov pojavi 32 njihovih ortolognih genov, ki smo jih pridobili z ročnim iskanjem, tj. identifikacijo ortolognih genov z orodjem Ensembl, pri čemer smo v

nastavivah iskanja izbrali iskanje ortologov v izbranem naboru genov (angl. *ID-list specified*), iskanje smo omejili na izbrani organizem, kvasovko. Primer rezultata iskanja ortolognih genov med človekom in kvasovko za človeški gen diacilglicerol O-aciltransferaza 1 (angl. *diacylglycerol O-acyltransferase*, kr. *DGAT1*) je v prikazan v prilogi B. Geni, ki so skupni človeku, miši in podgani ter njihovi kvasni ortologi so prikazani v prilogi C.

4.3 IDENTIFIKACIJA ORTOLOGNIH GENOV, KI SO VPLETENI V METABOLIZEM LIPIDOV MED KVASOVKO IN ČLOVEKOM

Z orodjem QuickGO browser smo pridobili 489 človeških genov, ki so udeleženi v procesu metabolizma lipidov. S samodejnim načinom iskanja homolognih genov smo med njimi identificirali 47 genov, ki ustrezajo 40 ortolognim genom pri kvasovki. Ortogni geni med človekom in kvasovko, ki so vpleteti v metabolizem lipidov pa so prikazani v prilogi D.

4.4 IDENTIFIKACIJA DODANIH GENOV IN NJIHOVIH ORTOLOGOV Z ORODJEM GENEMANIA

Genske mreže, temelječe na predhodno identificiranih (jedrnih) genih, ki imajo ortologe v vseh štirih preučevanih organizmih, smo analizirali s pomočjo bioinformacijskega orodja GeneMANIA. Mreže smo gradili tako, da smo jedrnim genom dodajali vedno večje število dodanih genov. GeneMANIA nabor izbranih jedrnih genov razširi z dodanimi geni, ki imajo enako ali podobno funkcijo, katero identificira s pomočjo anotacij, zbranih v različnih prosti dostopnih podatkovnih zbirkah. Glede na število povezav algoritom s pomočjo uteževanja določi stopnjo povezanosti določenega gena v interakcijsko mrežo. Tisti geni, ki imajo v interakcijski mreži osrednjo vlogo, se v interakcijski mreži nahajajo centralno. Glede na dejstvo, da so jedrni geni vpleteti v razvoj debelosti oziroma metabolizem maščob, sklepamo, da imajo tudi dodani geni v mrežah, predvsem tisti z osrednjimi vlogami in višje rangirani, vlogo pri razvoju debelosti oziroma v metabolizmu maščob. S pomočjo orodja GeneMANIA smo pripravili mreže za vse štiri preiskovane organizme in tako analizirali evolucijsko ohranjenost genov, udeleženih v teh procesih.

Predvidevali smo, da se bo s povečevanjem števila dodanih genov in s tem širjenjem genske mreže, manjšalo število ortolognih genov. Predvidevali smo, da bo podobnost med mišjo in kvasovko ter podgano in kvasovko enaka, saj sta miš in podgana izmed preučevanih organizmov evolucijsko najbolj sorodna.

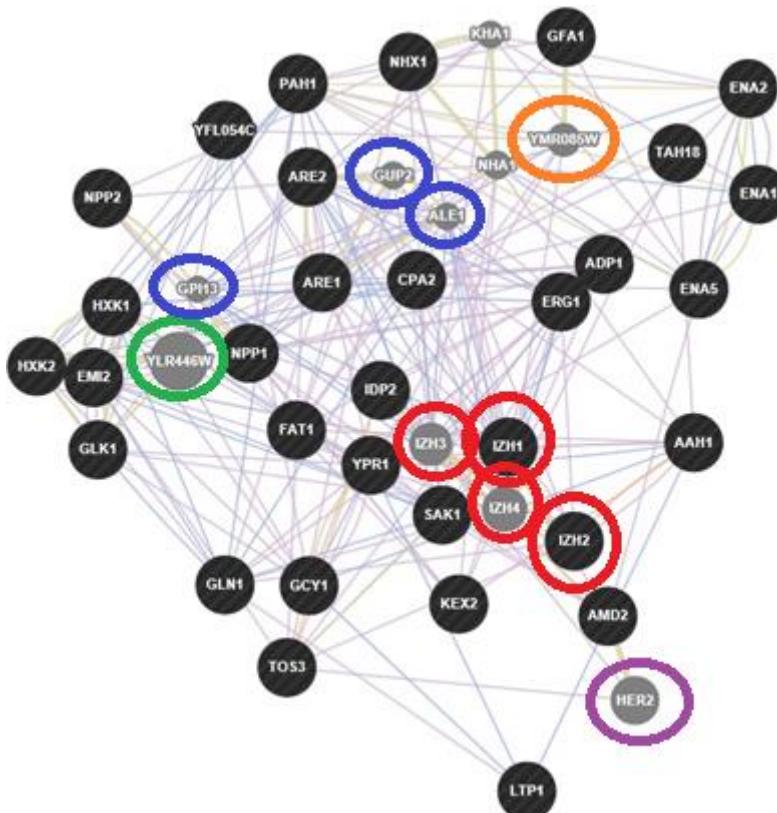
V naslednjem koraku smo primerjali interakcijske mreže, ki smo jih izrisali s programom GeneMANIA. Primerjali smo arhitekturo mrež pri posameznem organizmu glede na število prikazanih genov.

4.4.1 Identifikacija dodanih genov, ki sodelujejo pri razvoju debelosti in njihovih ortologov med kvasovko, človekom, podgano in mišjo

4.4.1.1 Kvasovka

Pri kvasovki smo mrežo genov, ki so vpletene v razvoj debelosti, gradili iz 32 jedrnih genov, ki smo jih identificirali kot ortologne gene, ki so skupni človeku, miši in podgani. Jedrni geni so v mreži obarvani črno, dodani prikazani geni pa sivo. Pri razširitvi mreže za 10 dodanih prikazanih genov se pojavi 5 genov z nižjo stopnjo povezanosti z ostalimi geni v mreži – le-ti so prikazani z manjšimi oznakami, saj je velikost oznake gena sorazmerna z njegovo stopnjo povezanosti v interakcijski mreži. Poleg teh genov se pojavijo še širje geni v višjo stopnjo pomembnosti (*YMR085W*, *IZH3*, *IZH4* ter *HER2*) in pa gen *YLR446W*, ki je vpletен v mrežo z enako stopnjo kot osnovni geni, kar pomeni, da je njegova vloga v dotedčni genski mreži domnevno enako pomembna kot vloga osnovnih genov. Gen *YMR085W* nima potrjene funkcije v metabolizmu kvasovke, skupaj z genom *YMR084W* pa deluje kot paraloga glutamin-fruktoza-6-fosfat amidotransferazi (SGD, 2015). Gen *YMR085W* ima pri miši, podgani in človeku ortologa, in sicer gen glutamin-fruktoza-6-fosfat transaminaza 2 (angl. *glutamine-fructose-6-phosphate transaminase 2*, kr. *GFPT2*), kateri deluje kot glutamin-fruktoza-6-fosfat amidotransferaza in ima funkcijo pri regulaciji glukoze, saj katalizira pretvorbo fruktoza-6-fosfata v glukozamin-6-fosfat v heksoamin signalni poti (Srinivasan in sod., 2007). Gena *IZH3* in *IZH4* sta del štiri-proteinske družine genov *IZH* (angl. *implicated in zinc homeostasis*), ki sodelujejo v homeostazi cinka (SGD, 2015). Njihov ortolog pri drugih izbranih organizmih je adiponektinski receptor 2, *ADIPOR2* (angl. *adiponectin receptor 2*), ki s sposobnostjo vezave hormona adiponektina sodeluje pri regulaciji vsebnosti glukoze ter razgradnji maščobnih kislin. Gen *ADIPOR2* ne ustreza kriterijem, ki smo jih postavili za identifikacijo ortolognih genov, saj ima p-vrednost višjo od 10^{-10} , vendar smo ga zaradi visoke vpleteneosti njegovega ortologa, gena *IZH3*, vseeno vključili v analizo. Prav tako je gen *ADIPOR2* ortolog kvasnemu genu *IZH4*, ki je paralog genu *IZH3*. Gen *HER2* (angl. *Hmg2p ER Remodeling*) ima podobno funkcijo kot bakterijski glutamil-tRNA amidotransferaza (SGD, 2015), njegov ortolog pri vseh treh izbranih organizmih pa je gen glutamil-tRNA-sintaza (angl. *glutaminyl-tRNA synthase (glutamine-hydrolyzing)-like 1*, kr; *QRSL1*), ki omogoča vezavo glutamata na molekulo RNA pri procesu prevajanja molekule RNA. Gen *YLR446W* je neanotiran gen, ki ima hipotetično funkcijo heksokinaze (SGD, 2015), njegov ortolog pri človeku in miši je gen, ki vsebuje heksokinazno domeno 1 (angl. *hexokinase domain containing 1*, kr; *HKDC1*), pri podgani gen heksokinaza 1 (angl. *hexokinase 1*, kr; *Hk1*), oba gena pa sta heksokinazi. Ortologa, gen *Hkdc1* za miš in gen *HKDC1* človeka ter gen *Hk1* za podgano prav tako ne ustreza kriterijem za identifikacijo ortolognih genov, saj imajo p-vrednost višjo kot 10^{-10} , ki smo jo postavili za minimalno dopustno vrednost, vendar smo gene zaradi visoke vpleteneosti njihovega ortologa, gena *YLR446W* v interakcijsko mrežo kvasovke vseeno vključili v analizo. Omenjeni gen se v mreži povezuje z ostalimi kinazami; heksokinazo 1

(angl. *hexokinase 1*; kr. *HXK1*), heksokinazo 2 (angl. *hexokinase 2*, kr. *HXK2*), glukokinazo 1 (angl. *glukokinase 1*, kr. *GLK1*) ter genom *YMR085W*. Slika 5 prikazuje interakcijsko mrežo genov kvasovke z desetimi dodanimi geni, ki so vpleteni v razvoj debelosti in imajo ortologne gene pri človeku, miši in podgani.



Slika 5: Interakcijska mreža genov kvasovke, ki imajo ortologne gene pri človeku, miši in podgani in so vpleteni v razvoj debelosti, z desetimi dodanimi geni. Obkroženi so vsi geni, ki imajo homologne gene pri človeku, miši in podgani. Z zeleno barvo je označen ortolog genov *HKDC1* in *Hk1*, z rdečo ortolog gena *ADIPOR2*, z oranžno barvo je obkrožen ortolog gen *GFPT2*, z vijolično pa ortolog gena *QRL1*. Omenjeni geni in njihovi ortologi so podrobnejše opisani v besedilu.

Pri razširitvi interakcijske mreže genov kvasovke se stopnja vpletjenosti predhodnih desetih dodanih genov ohrani, pojavi se še deset dodanih genov. Pri tem se ne pojavi noben gen, ki bi imel stopnjo vpletjenosti enako veliko, kot jo ima *YLR446W*. Dodani so torej geni, ki imajo v dotednici interakcijski mreži nižjo stopnjo pomembnosti. Geni *IZH3* in *IZH4* ter gena *HER2* in *YMR085W* prav tako kot gen *YLR446W* ohranijo predhodno dodeljene stopnje vpletjenosti v interakcijsko mrežo. Postavitev gena *YLR446W* se je iz levega obroba prestavila v levo-sredinsko pozicijo, kar bi lahko pomenilo, da se s povečanjem števila dodanih genov, torej povečanja genov, ki med seboj interagirajo in imajo domnevno funkcijo v metabolizmu lipidov in razvoju debelosti, njegova vpletjenost v razvoj debelosti lahko povečala, saj nosijo geni, ki so v mreži centralno pozicionirani večjo funkcijo v metabolnem procesu. Interakcijska mreža genov kvasovke, ki so vpleteni v razvoj

debelosti in imajo ortologne gene pri človeku, miši in podgani in dvajset dodanih genov ter s puščico označene gene *YMR085W*, *IZH3*, *IZH4*, *HER2* in *YLR446W*, je v prilogi E.

Z razširitvijo interakcijske mreže na petdeset dodanih prikazanih genov geni *IZH3*, *IZH4*, *HER2* ter *YMR085W* in *YLR446W* ohranijo stopnjo vpletenosti. S povečanjem števila prikazanih genov se pozicija gena *YLR446W* rahlo spremeni, namreč ni več centralna, gen je pozicioniran v zgornjem delu interakcijske mreže. Interakcijska mrežagenov kvasovke, ki so vpleteni v razvoj debelosti in imajo ortologne gene pri človeku, miši in podgani in petdeset dodanih genov ter s puščico so označene gene *YMR085W*, *IZH3*, *IZH4*, *HER2* in *YLR446W* je v prilogi F.

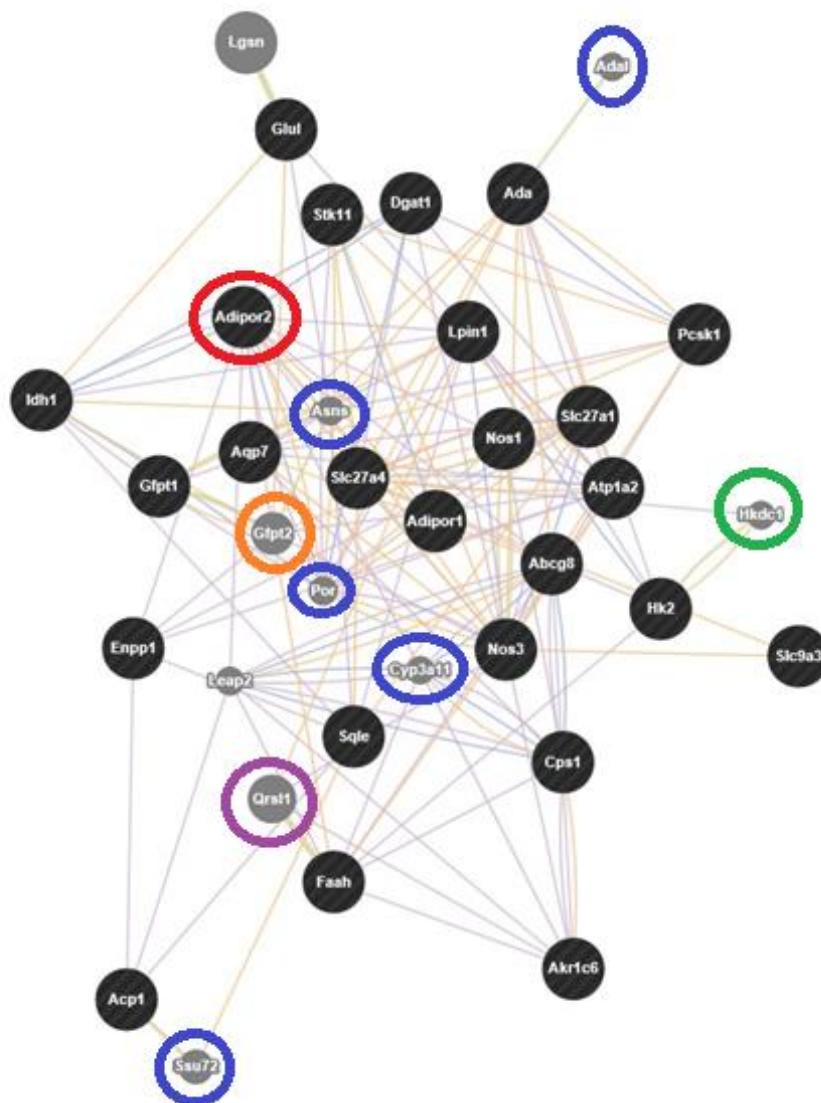
Pri razširitvi mreže za dodanih 50 genov se je postavitev gena *YLR446W* prestavila nazaj v centralno pozicijo. Pozicija ostalih štirih genov *IZH3*, *IZH4*, *HER2* in *YMR085W* je robna, kar pomeni, da, glede na nastavitve izrisa mreže, v procesu nastanka debelosti nimajo centralne funkcije, vendar so prav tako vpleteni v razvoj debelosti. Omenjena interakcijska mreža je v prilogi G.

Funkcija genov *YLR446W* in *YMR085W* pri kvasovki ni poznana, za prvega je bilo na osnovi aminokislinskega zaporedja le predpostavljeno, da ima funkcijo heksokinaze (Balakrishnan in sod., 2005). Do enakega zaključka smo prišli tudi z našo bioinformacijsko analizo, kjer smo za vse tri izbrane organizme identificirali potencialne ortologe, ki kodirajo heksokinaze: pri človeku in miši gen *HKDC1* in pri podgani *Hkl*. Gen *YMR085W*, katerega funkcija še ni okarakterizirana, ima prav tako identificirane ortologe pri človeku, miši in podgani. To je gen transaminaza *GFPT2*, ki se kot eden izmed genov, ki imajo visoko vpletenost v interakcijsko mrežo, pojavlja pri vseh treh analiziranih organizmih. Genoma *IZH3* in *IZH4* smo prav tako identificirali ortologa pri človeku, miši in podgani, ki smo ga že dodali v nabor osnovnih genov, to je *ADIPOR2*, ki kodira adiponektinski receptor. Slednji ima pri kvasovki tudi paraloga, preostala dva člana štiproteinske družine *IZH* genov, ki sta *IZH1* (angl. *implicated in zinc homeostasis 1*) in *IZH2* (angl. *implicated in zinc homeostasis 2*). Njihova funkcija je med drugim povezana s homeostazo cinkovih ionov.

4.4.1.2 Miš

Interakcijsko mrežo miši, podgane in človeka smo gradili iz petindvajsetih jedrnih genov, ki so skupni vsem trem organizmom in imajo vsaj en ortologen gen pri kvasovki. Pri analizi desetih dodanih genov se pojavi gen *lengsin* (angl. *lengsin*, kr. *Lgsn*), ki ima enako stopnjo vpletenosti v dotično interakcijsko mrežo kot osnovni geni in je pozicioniran na skrajno zgornjo levo stran mreže, kar pomeni, da pri teh parametrih izrisa mreže nima ključne vloge v procesu nastanka debelosti, sodeluje v sintezi glutamina (MGI, 2015). Pri kvasovki ima ortologa, to je gen *UAF30* (angl. *upstream activation factor subunit*), polimeraza 1 specifični vzpodbujevalni dejavnik, ki je vpletен v aktivacijo številnih genov, vendar ni vključen v interakcijsko mrežo kvasovke (SGD, 2015). Z nižjo stopnjo vpletenosti od

prvega se pojavi gen *Qrs11*, ki je prav tako kot njegov kvasni ortolog *HER2* lociran na obrobju mreže in je glutamil-tRNA sintetaza. Z enako stopnjo vpletenosti v interakcijsko mrežo se pojavi gen *Gfpt2*, njegov kvasni ortolog pa je že predhodno omenjeni gen *YMR085W*. Gen *Adipor2* je pozicioniran na zgornji levi strani mreže, njegov paralog adiponektinski receptor 1, *Adipor1* (angl. *adiponectin receptor 1*) pa ima centralno pozicijo. Gen *Hkdc1* je v interakcijsko mrežo vpet z nizko stopnjo vpletenosti in je lociran na desni strani interakcijske mreže. Vpletenost heksokinaz v razvoj debelosti povezujejo z zaznavanjem stopnje glukoze v možganih (Levin in sod., 1999). Slika 6 prikazuje interakcijsko mrežo genov miši, ki so vpleteni v razvoj debelosti in imajo ortologne gene pri kvasovki in deset dodanih genov.



Slika 6: Interakcijska mreža genov miši, ki imajo ortologne gene pri kvasovki in so vpleteni v razvoj debelosti, in deset dodanih genov. Obkroženi so vsi geni, ki imajo ortologa pri kvasovki. Z zeleno barvo je obkrožen gen *Hkdc1*, z rdečo gen *Adipor2*, z vijolično gen *Qrs11* ter z oranžno gen *Gfpt2*. Omenjeni geni in njihovi ortologi so podrobnejše opisani v besedilu.

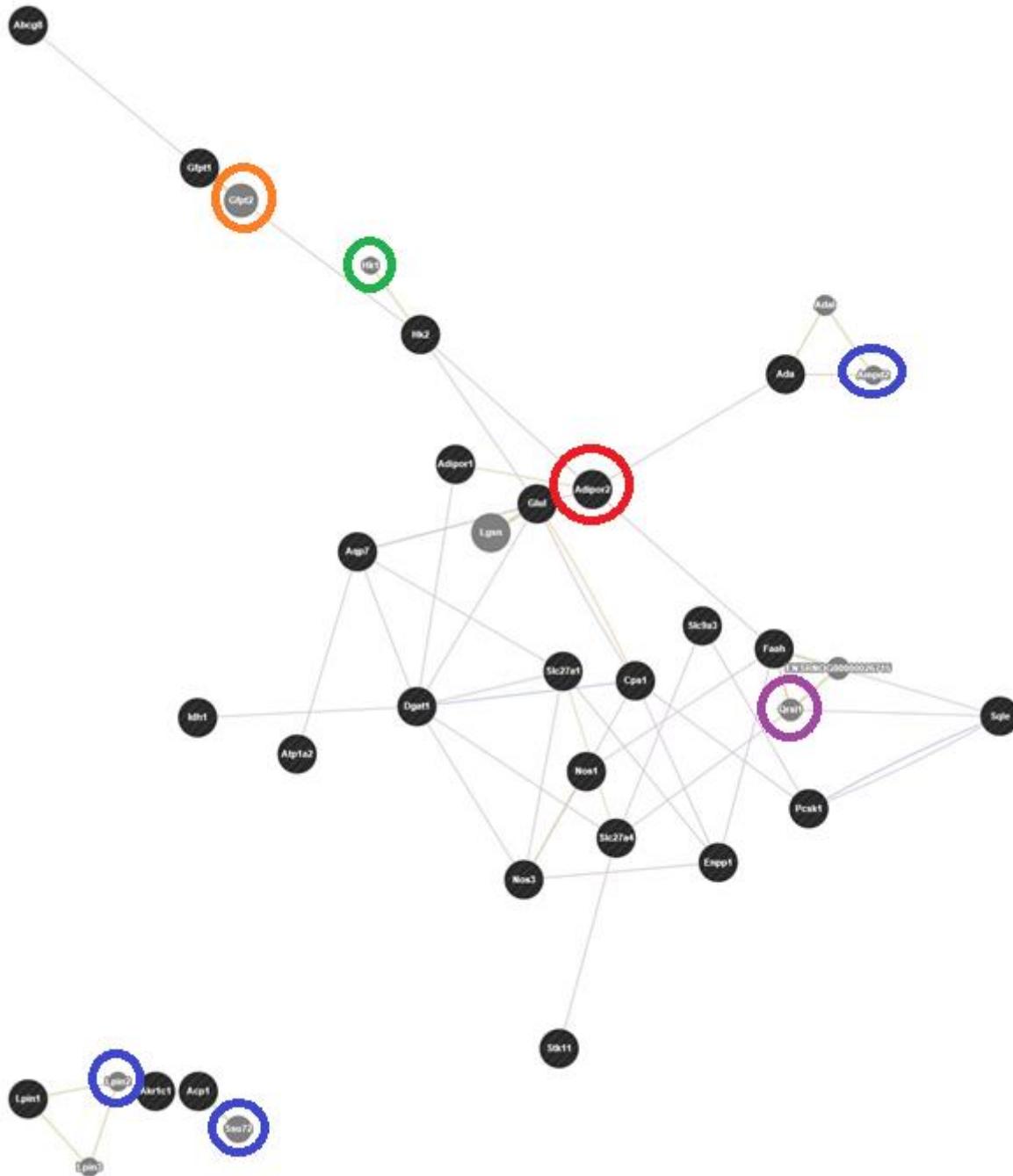
Pri povečanju števila dodanih prikazanih genov za deset se pojavijo geni z manjšo stopnjo vpletenosti v interakcijsko mrežo, stopnja vpletenosti genom *Lgsn*, *Qrsl1* in *Gfpt2* se ohrani. Pozicija gena *Lgsn* se spremeni v skrajno desno. Pozicija gena *Qrsl1* ostane skoraj nespremenjena, med tem ko se gen *Gfpt2* premakne na zgornjo stran mreže. Pozicija gena *Hkdc1* se premakne na zgornji rob mreže. Mreža, ki prikazuje interakcije med jedrnimi in dvajsetimi dodanimi geni miši, ki imajo ortologne gene pri kvasovki in so vpleteni v razvoj debelostise nahaja v prilogi H.

Pri petdesetih dodanih genih ima gen *Hkdc1* najbolj osrednjo pozicijo v mreži, ostali geni so postavljeni ob rob mreže. Omenjena interakcijska mreža je v prilogi I.

Pri stotih dodanih prikazanih genih je gen *Lgsn* pozicioniran skrajno na robu mreže. Robno pozicijo imata tudi gena *Qrsl1* in *Gfpt2*, med tem ko ima gen *Hkdc1*, čeprav z manjšo stopnjo vpletenosti v interakcijsko mrežo, tako kot njegov kvasni ortolog *YLR446W* centralno postavitev v mreži, ki je v prilogi J.

4.4.1.3 Podgana

Pri podgani je mogoče opaziti, da gre pri izbranih nastavivah izrisa mreže za dve ločeni interakcijski mreži. Pri razširitvi mreže za deset dodanih prikazanih genov (slika 7) nam program poda gen *Lgsn*, ki je v interakcijsko mrežo vpet z visoko stopnjo vpletenosti ter vsebuje glutamat-amonijak ligazno domeno. Gen ima kvasnega ortologa in sicer gen reduksijske delitve (angl. *reductional division*, kr; *RED1*), ki je vključen v kromosomsko segregacijo med prvo mejotsko delitvijo (SGD, 2015). Gen ni del interakcijske mreže kvasovke. Orodje izriše tudi gen *Gfpt2*, ki sodeluje pri metabolizmu sladkorjev, povezujemo pa ga tudi z nastankom diabetesa (RGD, 2015) ter *Qrsl1*, glutamil-tRNA sintetaza. Pri danih nastavivah nam orodje poda tudi gen, ki je ortolog kvasnemu genu *YLR446W* in je v mrežo vpletен z nizko stopnjo povezanosti, heksokinaza 1 *Hk1*, ki kodira protein s sposobnostjo vezave molekule ATP, ki omogoči pretvorbo glukoze v glukoza-6-fosfat v prvi reakciji procesa glikolize in s tem uravnava stopnjo glukoze v krvi (RGD, 2015). Kot omenjeno je gen *Adipor2* prav tako že v naboru jedrnih genov.



Slika 7: Interakcijska mreža genov podgane, ki so vpletene v razvoj debelosti in imajo ortologe pri kvasovki, in deset dodanih genov. Obkroženi so vsi geni, ki imajo ortologa pri kvasovki. Z zeleno barvo je obkrožen gen *Hk1*, z rdečo gen *Adipor2*, z vijolično gen *Qrs11* ter z oranžno gen *Gfpt2*. Omenjeni geni in njihovi ortologi so podrobneje opisani v besedilu.

Pri dvajsetih dodanih prikaznih genih je razvidna mreža, ki jo tvorita gena iz osnovnega nabora *Adipor1* in *Adipor2* skupaj z drugimi geni iz družine adiponektinskih receptorjev. Gena *Lgsn* in *Gfpt2* imata enako stopnjo vpletenosti v interakcijsko mrežo, pojavi se tudi gen *Qrs11*, ki ima nizko stopnjo vpletenosti v interakcijsko mrežo. Gen *Hk1* je pozicioniran

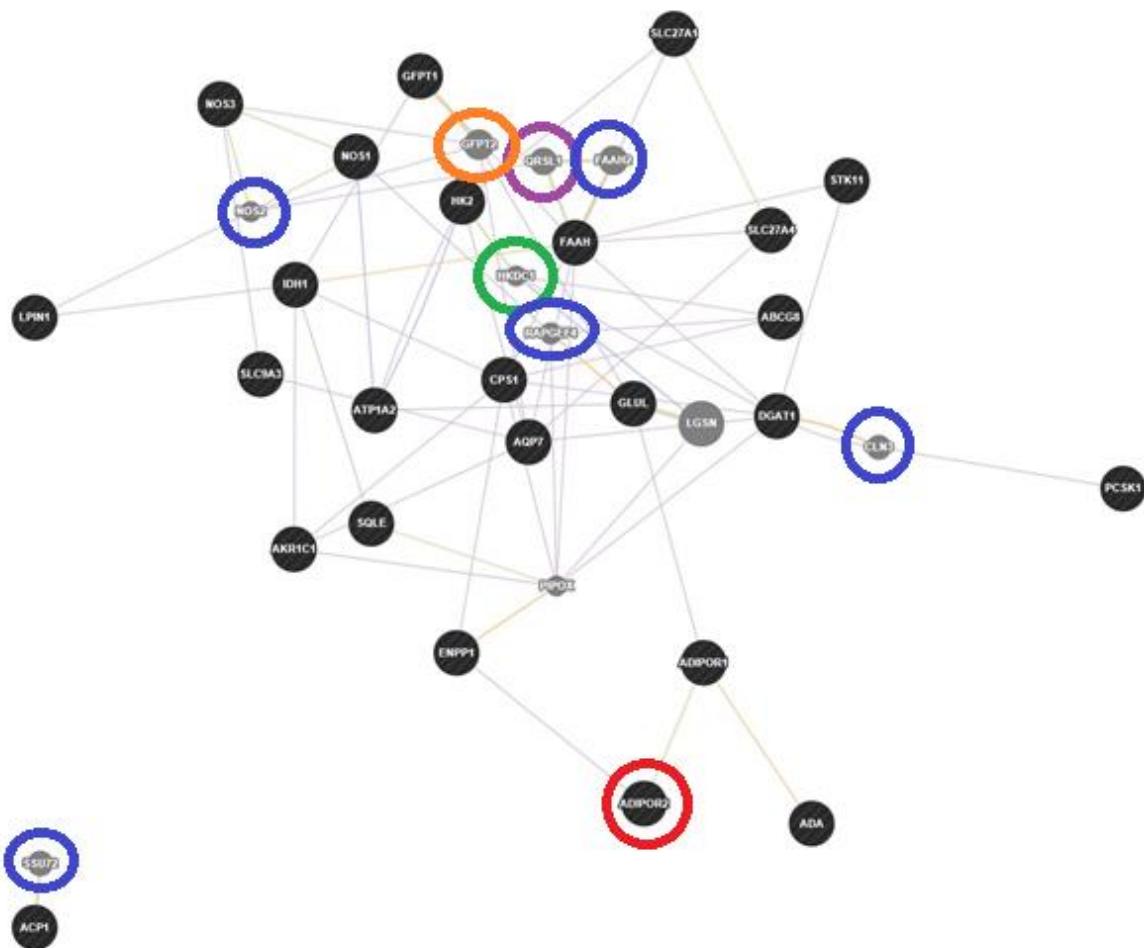
na desnem robu mreže. Interakcijska mreža genov podgane, ki so vpletene v razvoj debelosti in imajo ortologe pri kvasovki in dvajset dodanih genov je v prilogi K.

Pri petdesetih dodanih genih ob levem robu gen *Lgsn* z najvišjo stopnjo vpletenosti v interakcijsko mrežo. Gen *Hk1* je lociran na skrajnem levem robu, kjer je v interakciji z ostalimi heksokinazami, med tem ko imata gena *Qrsl1* in *Gfpt2* sredinsko pozicijo, gen *Adipor2* pa je na spodnji desni strani mreže. Omenjena interakcijska mreža se nahaja v prilogi L.

Pri stotih dodanih genih je gen *Lgsn* pozicioniran sredinsko zgoraj, na spodnji strani mu sledi gen *Gfpt2*. Gen *Hk1* na zgornji desni strani skupaj z ostalimi geni s katerimi si deli proteinske domene tvori mrežo acetil-CoA sintetaz in kinaz. Gen *Qrsl1* je z nizko stopnjo vpletenosti v interakcijsko mrežo lociran od vseh omenjenih genov najbolj sredinsko. Gen *Adipor2* je v mreži prikazan na levem zgornjem delu. Interakcijska mreža je v prilogi M.

4.4.1.4 Človek

Pri interakcijski mreži, ki jo orodje GeneMANIA izriše za človeške gene, se pri prikazu desetih dodanih genov (slika 8) pojavijo vsi trije predhodno omenjeni geni *LGSN*, *QRL1*, in *GFPT2*. Pojavi se tudi ortolog kvasnega gena *YLR446W*, to je gen *HKDC1*. Gen *LGSN* je z enako stopnjo vpletenosti v interakcijsko mrežo kot osnovni geni prikazan na desni strani mreže. Kodira protein, ki je opredeljen kot psevdo-glutamin sintetaza, saj nima funkcije sinteze glutamina, temveč deluje kot šaperon. Ker se nahaja v očesnih lečah, je možno, da je njegovo delovanje povezano z nastankom sive mrene, človeški gen pa ima med drugimi organizmi 111 znanih ortologov (NCBI, 2015). Z manjšo stopnjo vpletenosti nam orodje poda gen *GFPT2*, ki nosi zapis za encim glutamin fruktoza-6-fosfat amidotransferaza, katerega prekomerno izražanje pri ljudeh z diabetesom tipa dva povezujejo z inzulinsko rezistenco (Srinivasan in sod., 2007). Nahaja se na zgornjem robu mreže. Z enako stopnjo vpletenosti kot gen *GFPT2* nam orodje pri izbranih nastavivah poda tudi gen glutamil-tRNA-sintetaza podobni gen *QRL1*, ki kodira encim, kateri omogoča pretvorbo glutamin-tRNA v glutaminska kislina-tRNA v mitohondrijih in je prav tako lociran na zgornjem robu mreže. Gen heksokinaza 1 vsebujoči protein *HKDC1*, ki je z nižjo stopnjo povezanosti v interakcijsko mrežo lociran centralno, nosi glukokinazno in manokinazno aktivnost (GeneCards, 2015).



Slika 8: Interakcijska mreža genov človeka, ki so vpleteni v razvoj debelosti in imajo ortologe gene pri kvasovki, in deset dodanih genov. Obkroženi so vsi geni, ki imajo ortologa pri kvasovki. Z zeleno barvo je obkrožen gen *HKDC1*, z rdečo gen *ADIPOR2*, z vijolično gen *QRS1* ter z oranžno gen *GFPT2*. Omenjeni geni in njihovi ortologi so podrobneje opisani v besedilu.

Pri dvajsetih dodanih prikazanih genih se stopnje vpletenosti v interakcijsko mrežo vsem štirim genom ohranijo, njihova postavitev pa se spremenijo. Pozicija gena *QRSL1* se je pomaknila proti sredini mreže. Prav tako je pozicija gena *GFPT2* v primerjavi s pozicijo v mreži z desetimi dodanimi prikazanimi geni bolj pomaknjena proti sredini mreže. Genu *HKDC1* pa se pozicija iz središča mreže pomakne na spodnji rob, kjer se nahaja tudi gen *LGSN*. Gen *ADIPOR2* se nahaja na zgornjem levem robu mreže. Interakcijska mreža genov človeka, ki so vpleteni v razvoj debelosti in imajo ortologne gene pri kvasovki in dvajset dodanih genov je prikazana v prilogi N.

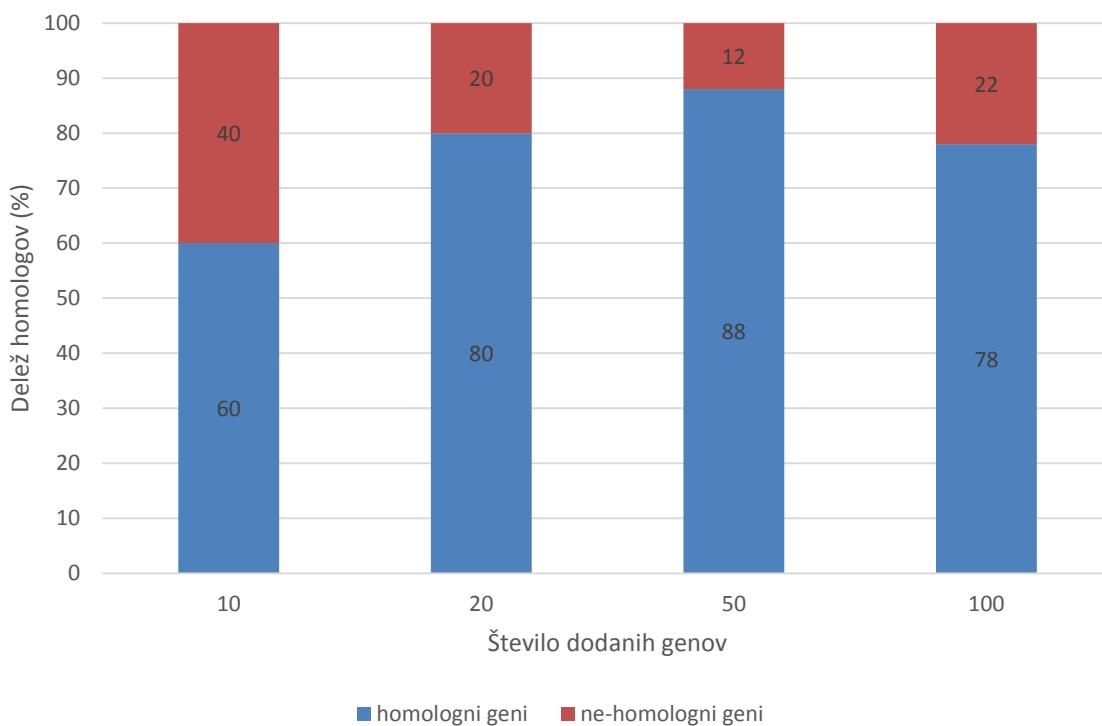
Pri dodatu še tridesetih dodanih genov se gen *LGSN* prenosti na sredinsko pozicijo v interakcijski mreže, med tem ko se gena *GFPT2* in *QSLR1* premakneta na obrobje mreže. Gen *HKDC1* je pozicioniran na zgornji strani mreže. Pozicija gena *ADIPOR2* se je spremenila iz levega na desni rob interakcijske mreže. Interakcijska mreža je v prilogi O.

Pri največjem številu dodanih prikazanih genov, 100, se pozicija gena *QRSL1* iz levega robu premakne na desni rob interakcijske mreže. Gen *HKDC1* je še vedno pozicioniran na zgornji strani mreže, gen *GFPT2* pa na levem robu. Gen *LGSN* je spremenil svojo pozicijo, namreč iz sredinske pozicije se je premaknil na desni zgornji rob interakcijske mreže. Omenjena interakcijska mreža je prikazana v prilogi P.

Če povzamemo opis vseh mrež, lahko ugotovimo, da gen kvasovke *YLR446W* izkazuje konstantno močno vpletenost z geni, ki so prikazani v interakcijski mreži, neglede na število dodanih genov. Tudi njegovi človeški, mišji in podganji ortologi (gen *HKDC1* pri človeku in miši in gen *Hk1* pri podgani) se pojavljajo skozi vse nabore interakcijskih mrež. Preseneča nas, da je gen *YLR446W* pri genih, ki se kot dodani prikažejo pri kvasovki izmed vseh dodanih genov najbolj vpletен v interakcijsko mrežo, vendar njegova funkcija ni popolnoma znana, vemo le, da ni esencialen gen. Prav tako smo s pomočjo mrež identificirali ortologne gene genov kvasovke, ki se kot dodani geni prikažejo v orodju GeneMANIA in v interakcijskih mrežah kvasovke izkazujejo močno vpletenost. Vsi geni kvasovke, razen gena *YLR446W*, ki ima pri človeku in miši ortologni gen *HKDC1* ter pri podgani ortologni gen *Hk1*, imajo pri človeku, miši in podgani enakega ortologa. To so geni *IZH3* in *IZH4* z ortologom *ADIPOR2*, *HER2* z ortologom *QRSL1* ter *YMR085W* z ortologom *GFPT2*.

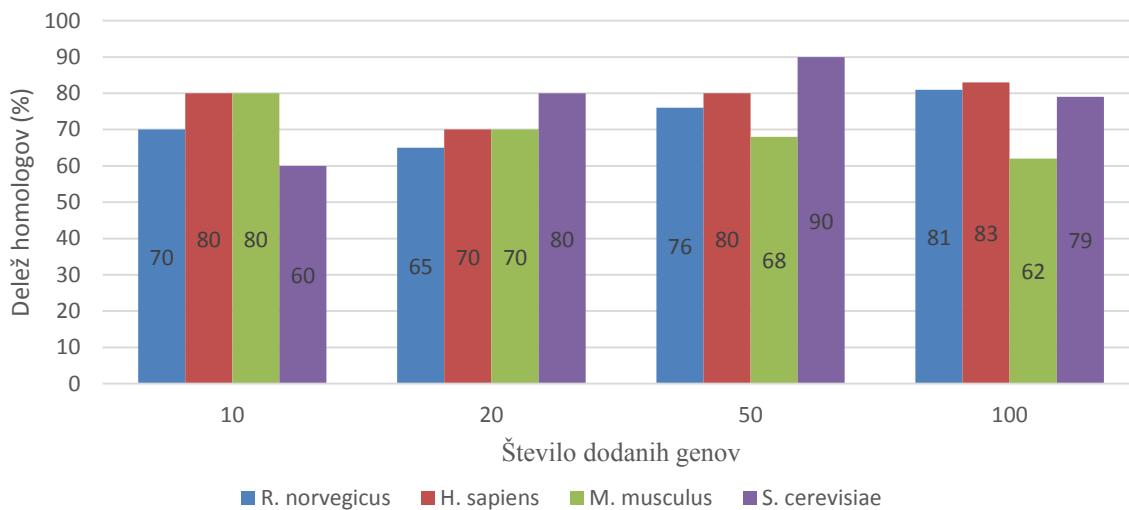
Pri pregledu strukture mrež lahko opazimo, da so interakcijske mreže genov, ki so vpletene v razvoj debelosti pri kvasovki in miši, najbolj homogene, med tem ko so interakcijske mreže genov, ki so vpletene v razvoj debelosti pri podgani in človeku, bolj razpršene. Sama razpršenost je lahko posledica manjše evolucijske ohranjenosti genov med kvasovko in podgano in kvasovko ter človekom, med tem ko je evolucijska ohranjenost omenjenih genov med kvasovko in mišjo višja. Struktura mrež je lahko tudi posledica manjšega števila strokovne literature kjer sta eksperimentalno proučevana podgana in človek zaradi česar je v podatkovni zbirkici, na kateri temelji orodje GeneMANIA, zavedenih manj medgenskih povezav med geni omenjenih organizmov.

Genom kvasovke, ki se kot dodani geni pojavijo v orodju GeneMANIA in domnevno sodelujejo pri razvoju debelosti, smo identificirali človeške, mišje in podganje ortologe. Pri prikazu desetih dodanih genov smo identificirali šest genov kvasovke, ki imajo ortologa pri vseh treh izbranih organizmih, pri prikazu dvajsetih dodanih genov 16, pri prikazu petdesetih dodanih genov 44 in pri prikazu stotih dodanih genov 78 genov kvasovke, ki imajo ortologa pri vseh treh organizmih. Število le-teh v odstotkih prikazuje slika 9.



Slika 9: Prikaz deleža genov kvasovke, ki imajo ortologni gen pri človeku, miši in podgani, glede na število dodanih prikazanih genov v genskih mrežah, pridobljenih z orodjem GeneMANIA.

Analizirali smo tudi gene človeka, miši in podgane ter kvasovke, za katere je program GeneMANIA predlagal vpletenost v razvoj debelosti. Analizirali smo tiste dodatne gene človeka, miši in podgane, ki jih s programom GeneMANIA predhodno nismo identificirali kot dodatne gene ortologom kvasovke. Tako smo dobili končno število vseh ortolognih genov med kvasovko, človekom, podgano in mišjo, ki jih kot dodane gene predlaga program GeneMANIA. Od desetih dodanih genov ima osem človeških in mišjih ter sedem podganjih genov ortologa pri kvasovki. Od dvajsetih dodanih genov ima 14 človeških in mišjih ter 13 podganjih genov ortologa pri kvasovki. Pri prikazu petdesetih dodanih genov ima 34 mišjih, 40 človeških in 38 podganjih genov kvasnega ortologa ter od stotih genov 62 mišjih, 83 človeških in 81 podganjih ortologa pri kvasovki. Kvasovka pa ima pri vseh treh preučevanih organizmih ortologne gene, in sicer, pri prikazu desetih dodanih genov šest, pri dvajsetih dodanih genih 16, petdesetih 45 in pri stotih dodanih genih 79 ortolognih genov. Njihov delež pri posameznem organizmu predstavlja slika 10.



Slika 10: Prikaz deleža ortologov kvasovke v genskih mrežah, pridobljenih z orodjem GeneMANIA, pri podgani, človeku in miši v odstotkih glede na število dodanih prikazanih genov.

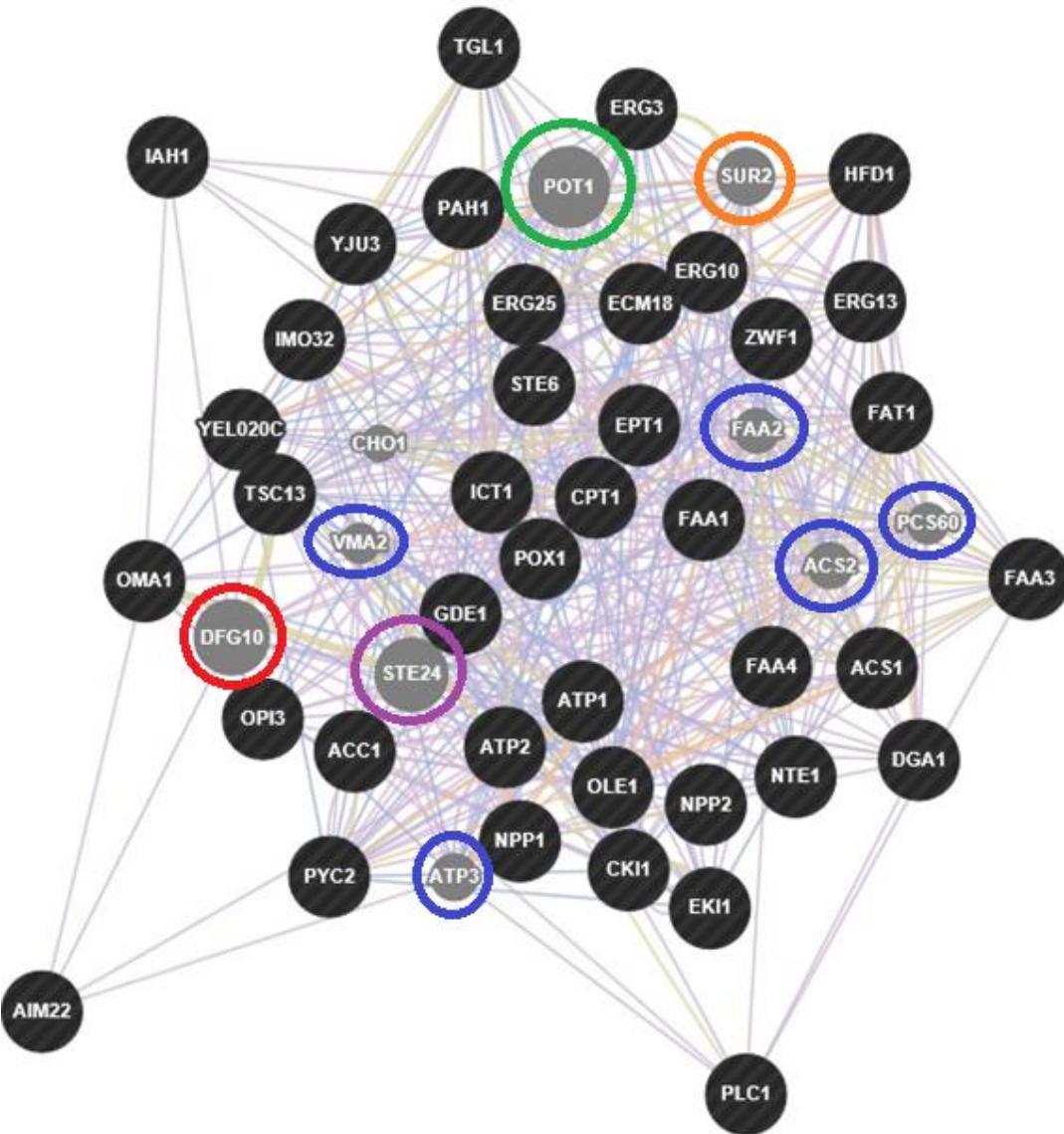
4.4.2 Identifikacija dodanih genov in njihovih ortologov, ki so vpleteni v metabolizem lipidov med kvasovko in človekom

4.4.2.1 Kvasovka

Pri identifikaciji dodanih genov in njihovih ortologov, ki so vpleteni v metabolizem lipidov pri kvasovki in človeku smo analizirali mreže, katere smo tvorili na podlagi 47 človeških jedrnih genov, ki imajo pri kvasovki 40 ortologov.

Pri desetih dodatno prikazanih genih (slika 11) se pojavijo trije geni z visoko stopnjo vpletjenosti v interakcijsko mrežo, ki si od prvega do tretjega sledijo; *POT1*, *DFG10* in *STE24*. Gen peroksisomalna oksoacil tiolaza (angl. *peroxisomal oxoacyl thiolase*, kr. *POT1*) ima pomembno vlogo pri β -oksidaciji maščobnih kislin, saj cepi molekulo 3-ketoacila-CoA v acil-CoA in acetil-CoA (SGD, 2015), njegov človeški ortolog pa je gen *ACAA1*. Gen *DFG10* (angl. *defective for filamentous growth*) ima vlogo pri glikozilaciji proteinov pri filamentozni rasti (SGD, 2015), mutacija v človeškem ortologu gena *DFG10*, ki je gen steroid 5 alfa reduktaza 3 (angl. *steroid 5 alpha reductase 3*, kr. *SRD5A3*) povzroči prirojeno mutacijo v glikozilaciji. Gen *SRD5A3* ne ustreza kriterijem za identifikacijo ortolognih genov med človekom in kvasovko, ki so vpleteni v metabolizem lipidov, saj je njegova p-vrednost višja od 10^{-10} , vendar smo gen zaradi visoke vpletjenosti njegovega ortologa *DFG10* v interakcijsko mrežo kvasovke vseeno vključili v analizo interakcijskih mrež pri človeku. Gen *STE24* (angl. *sterile*) je visoko ohranjena cinkova metaloproteinaza (SGD, 2015), njegov človeški ortolog pa je gen cinkova metalopeptidaza

STE24 (angl. *zinc metallopeptidase STE24*, kr. *ZMPSTE24*). Gen *POT1* je pozicioniran na zgornji strani mreže, gena *DFG10* in *STE24* pa na spodnjem robu interakcijske mreže. Pojavi se tudi gen zaviralec mutacij rvs161 in rvs167 (angl. *supressor of rvs161 and rvs167 mutations*), ki ima pri človeku ortologni gen *MSMO1* (SGD, 2015).



Slika 11: Interakcijska mreža genov kvasovke, ki so vpleteni v metabolizem lipidov in imajo ortologne gene pri človeku, in deset dodanih genov. Obkroženi so vsi geni, ki imajo pri človeku ortologa. Z zeleno barvo je obkrožen ortolog človeškega gena *ACAA1*, z rdečo ortolog gena *SRD5A3*, z vijolično je obkrožen ortolog gena *ZMPSTE24*, ter z oranžno barvo je obkrožen ortolog gena *MSMO1*. Omenjeni geni in njihovi ortologi so podrobneje opisani v besedilu.

Pri dvajsetih dodanih prikazanih genih ima gen *DFG10* centralno pozicijo in visoko vpletjenost v interakcijsko mrežo. Gen *POT1* se pomakne na spodnji rob mreže, med tem ko se pozicija gena *STE24* ne spremeni. Gen *SUR2* je na levem robu mreže. Pojavi se tudi

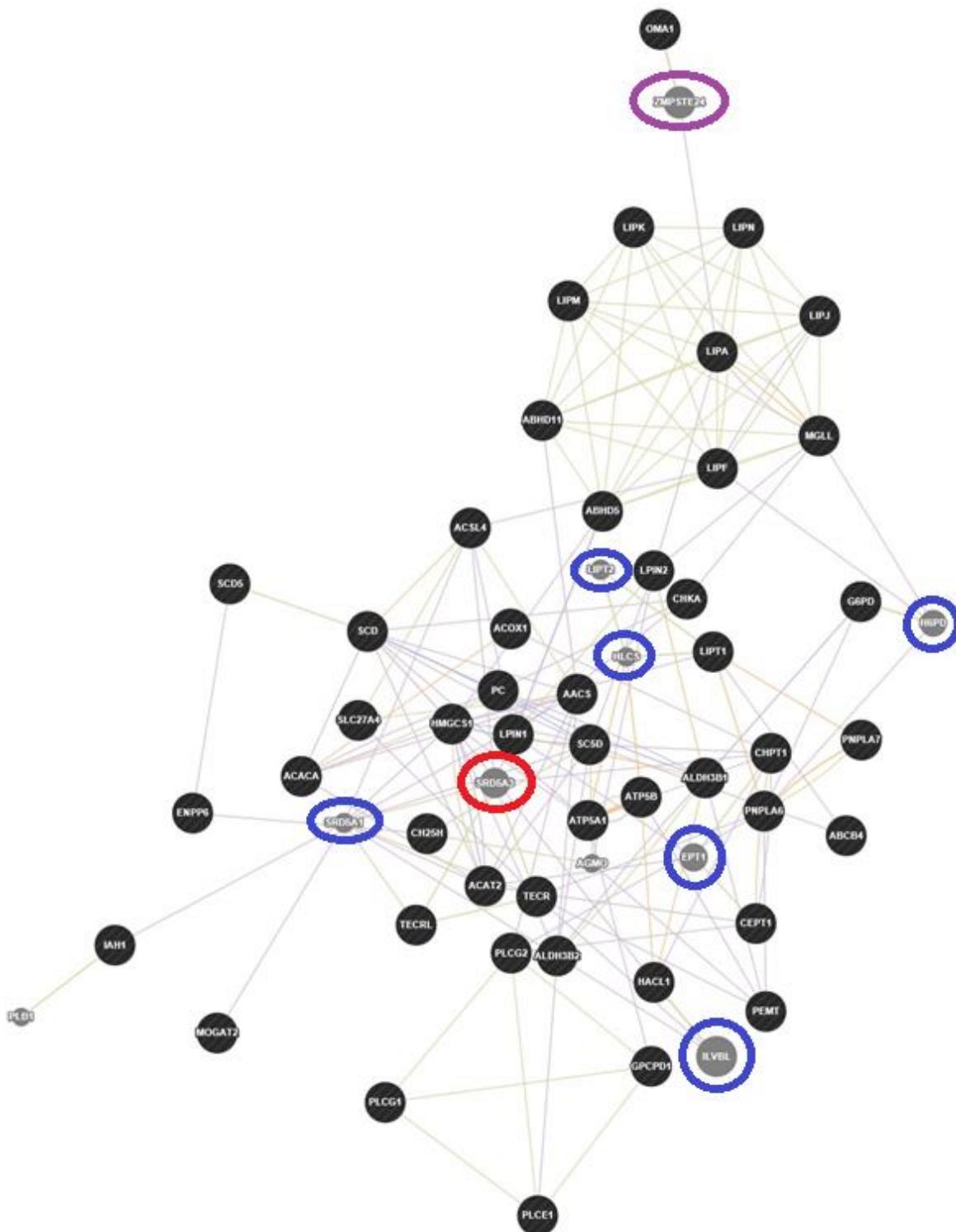
gen *YOR093C* katerega funkcija ni znana, vendar ima pri človeku ortologa, gen *DIP2B* (angl. *disco-interacting protein homolog 2*), katerega protein vsebuje vezavno mesto za transkripcijski regulator DNA metiltransferaza 1 ter vezavna mesta za molekule AMP, kar nakazuje, da ima gen pomembno vlogo pri metilaciji DNA, vendar pa gen ni vpletен v interakcijsko mrežo pri človeku. Interakcijska mreža je v prilogi R.

Pri povečevanju števila genov za 30 se spremeni pozicija nekaterim omenjenim genom. Gen *DFG10* je v primerjavi s prejšnjim položajem lociran proti robu med tem ko se genoma *SUR2* in *STE24* pozicija ne spremeni. Gen *POT1* se je iz spodnjega roba pomaknil na zgornji desni rob interakcijske mreže. Interakcijska mreža je v prilogi S.

Pri 100 dodanih prikazanih genihse pozicija gena *POT1* v primerjavi s pozicijo pri mreži s petdesetimi dodanimi prokazanimi geni pomakne proti sredini mreže. Geni *STE24*, *SUR2* in *DFG10* ohranijo obrobno pozicijo v interakcijski mreži. Mreža je prikazana v prilogi T.

4.4.2.2 Človek

Pri desetih dodanih prikazanih genih (slika 12) se pojavi gen *ILVBL* (angl. *ilvB (bacterial acetolactate synthase)-like*), ki sicer ima ortologa pri kvasovki, to je gen *K7_YEL020C*, ki ima katalitično aktivnost in se povezuje s tiamin fosfatom, vendar ni vključen v kvasno interakcijsko mrežo (UniProt, 2015). Glede na dodane gene ima gen *ILVBL* najvišjo stopnjo vpletjenosti v interakcijsko mrežo. Z nižjo stopnjo vpletjenosti v interakcijsko mrežo se pojavita tudi gena *ZMPSTE24*, ki je ortolog že omenjenega kvasnega gena *STE24*, ter *SRD5A3*, ki je ortolog kvasnemu genu *DFG10*. Gen *ZMPSTE24* je cinkova metalopeptidaza, mutacije v tem genu pa so povezane z nastankom mandibuloakralne displazije, katere posledica so nenormalnosti v razvoju kosti, pigmentacije in porazdelitve maščobnega tkiva (GeneCards, 2015). Gen *SRD5A3* je steroid-5-alfa-reduktaza 3 in je pomemben pri glikozilaciji proteinov, mutacija v tem genu pa povzroči genetsko okvaro glikozilacije tipa 1q in sindrom Kahrizi, za katerega so značilne nevrorazvojne motnje (GeneCards, 2015). Gena *ZMPSTE24* in *ILVBL* sta pozicionirana na robu mreže, med tem ko ima gen *SRD5A3* centralno pozicijo v interakcijski mreži.



Slika 12: Interakcijska mreža genov človeka, ki sodelujejo pri metabolizmu lipidov in imajo ortologne gene pri kvasovki in deset dodanih genov. Obkroženi so vsi geni, ki imajo homologni gen pri kvasovki. Z rdečo barvo je obkrožen gen *SRD5A3*, z vijolično pa *ZMPSTE24*. Omenjeni geni in njihovi ortologi so podrobneje opisani v besedilu.

Pri povečanju števila dodanih genov za deset se pozicija gena *ZMPSTE24* pomakne ob levi rob, gena *ILVBL* pa na zgornji rob interakcijske mreže. Pozicija gena *SRD5A3* se iz osrednje pomakne na levi rob mreže. Pri izbranih nastavivah izrisa mreže se pojavi tudi človeški ortolog kvasnega gena *SUR2*, to je gen metilsterol monoooksigenaza 1 (angl. *methylsterol monooxygenase 1*, kr. *MSMO1*). Gen *MSMO1* se lociran v endoplazemskemu retikulumu, njegova funkcija pa naj bi bila povezana s sintezo holesterola (GeneCards, 2015). Omenjeni gen ima centralno pozicijo v mreži, kar nakazuje tudi centralno funkcijo v interakcijski mreži genov, ki so domnevno vpleteni v metabolizem lipidov. Mreža je prikazana v prilogi U.

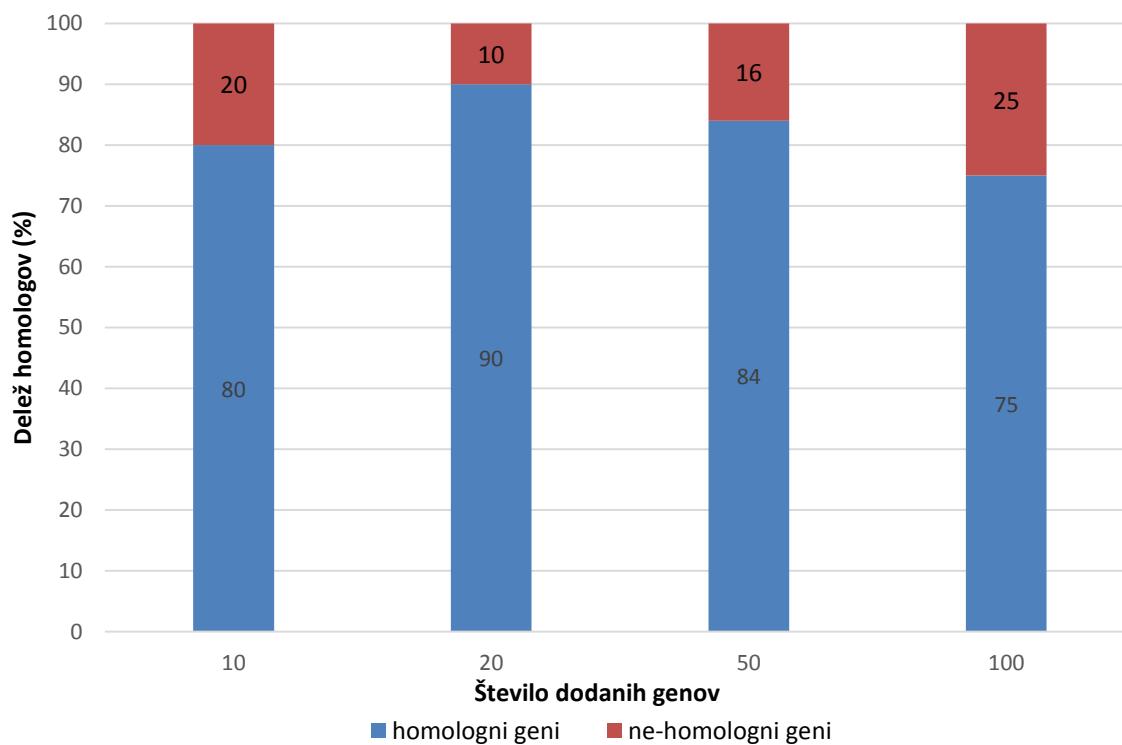
Pri petdesetih dodanih genih se pojavi človeški ortolog kvasnega gena *POT1* to je *ACAA1* (angl. *acetyl-CoA acyltransferase 1*), ki ima na zgornjem delu obrubno pozicijo v interakcijski mreži. Mutacija v genu *ACAA1* je povezana z genetsko motnjo imenovano psevdo-Zellwegerjev sindrom, za katerega je značilna odsotnost številnih funkcij, ki jih opravlja peroksisomi, vendar pa sindrom ni povezan z motnjami v izgradnji le-teh (Goldfischer in sod., 1986). Pozicija gena *ILVBL* se iz zgornjega dela mreže zopet premakne na spodnji predel dotične interakcijske mreže. Pozicija genova *ZMPSTE24* in *SRD5A3* je na desnem robu mreže. Gen *MSMO1* se je pomaknil proti robu mreže, vendar je izmed vseh omenjenih genov še vedno najbolj pomaknjen proti sredini. Mreža se nahaja v prilogi V.

Pri stotih dodanih prikazanih genih je od vseh omenjenih genov najbolj centralno opazen gen *ZMPSTE24* ter na desnem robu gen z najvišjo vpletenco v interakcijsko mrežo *ILVBL*. Gen *SRD5A3* je lociran na zgornjem robu interakcijske mreže, gena *ACAA1* in *MSMO1* pa sta prav tako na zgornjem robu mreže, vendar na desni strani. Omenjena interakcijska mreža je v prilogi Z.

Pri analizi interakcijskih mrež genov kvasovke in človeka, ki so vpleteni v metabolizem lipidov lahko opazimo, da se ne pojavi gen z visoko stopnjo vpletenco v mrežo, ki bi imel tudi osrednjo pozicijo v mreži. Pri kvasovki je imel gen *DFG10* pri desetih in dvajsetih dodanih genih centralno pozicijo, nato pa se je njegova postavitev premaknila na obrobje interakcijske mreže, med tem ko njegov človeški ortolog, gen *SRD5A3* nikoli ni imel centralne pozicije. Prav tako se pri omenjenih človeških interakcijskih mrežah prvič pojavi ortolog kvasnemu genu *POT1*, človeški gen *ACAA1* šele pri petdesetih dodanih genih, s čimer se pri interakcijskih mrežah genov, ki so vpleteni v razvoj debelosti nismo srečali.

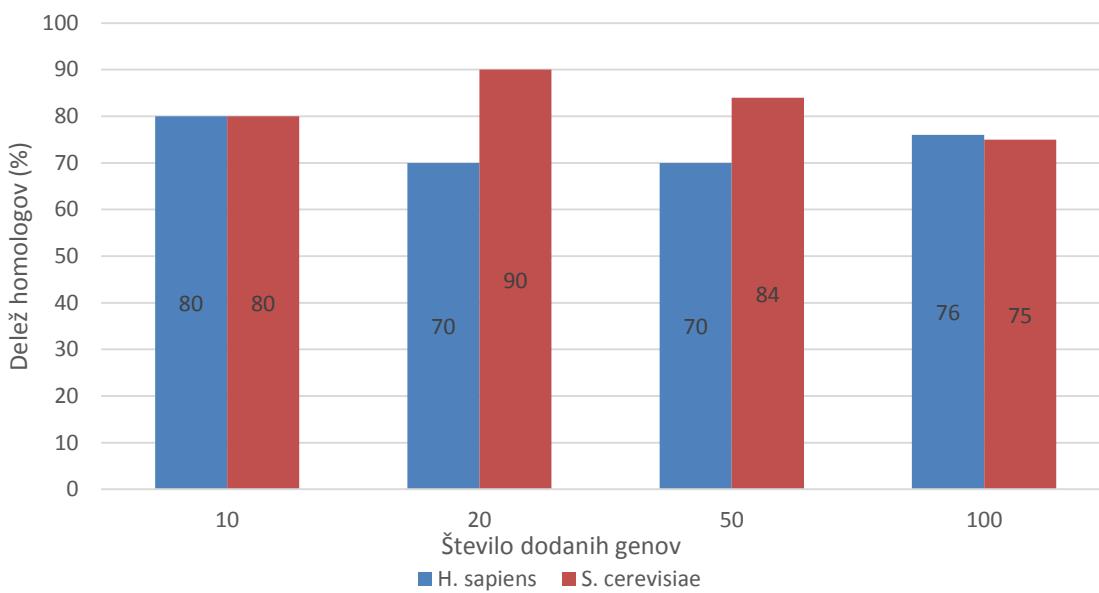
Ob primerjavi interakcijskih mrež genov, ki so vpleteni v metabolizem lipidov pri kvasovki in človeku, ugotovimo, da so mreže kvasovke precej bolj homogene in manj razpršene kot pri človeku. To nakazuje na večjo povezanost med geni, ki so v naboru in geni, ki nam jih poda orodje GeneMANIA, seveda pa so interakcije med geni neposredno odvisne od zbirke literature na podlagi katere temelji orodje GeneMANIA.

Pri identifikaciji homolognih genov, ki se kot dodani geni kvasovke pojavijo v orodju GeneMANIA in so domnevno vpleteni v metabolizem lipidov, smo pri prikazu dodanih desetih genov identificirali osem ortologov, pri prikazu dvajsetih dodanih genov 18, pri prikazu petdesetih dodanih genov 42 in pri dodatnem prikazu stotih dodanih genov 75 človeških ortologov. Število le-teh v odstotkih prikazuje slika 13.



Slika 13: Prikaz deleža ortolognih genov, ki sodelujejo pri metabolizmu lipidov, glede na število dodanih prikazanih genov v genskih mrežah, ki nam jih poda orodje GeneMANIA.

Tudi pri genih, ki so vpleteni v metabolizem lipidov pri človeku, smo identificirali ortolgne gene med človekom in kvasovko, ki jih z orodjem GeneMANIA predhodno nismo identificirali. S tem smo dobili končno število vseh ortolognih genov med kvasovko in človekom, ki so vpleteni v metabolizem lipidov. Pri tem smo ugotovili, da ima od desetih osem kvasnega ortologa, od dvajsetih 14, od petdesetih 35 in da ima od stotih genov 76 genov ortologa pri kvasovki. Pri analizi kvasnih dodanih genov, ki so domnevno vpleteni v metabolizem lipidov, smo pri desetih dodanih genih prav tako identificirali 8 ortologov, pri dvajsetih dodanih genih 18, petdesetih 42 in pri stotih dodanih genih 75 človeških ortologov. Njihov delež predstavlja slika 14.



Slika 14: Prikaz deleža kvasnih ortologov pri človeku in kvasovki, glede na število dodanih prikaznih genov v interakcijskih mrežah, ki nam jih poda orodje GeneMANIA.

4.5 LABORATORIJSKA ANALIZA Z UPORABO BARVILA NILE RED

Z laboratorijsko analizo vsebnosti lipidov v posameznih delecijskih mutantah z barvilm Nile Red smo eksperimentalno preverili vsebnost lipidov v izbranih delecijskih mutantah. S tem smo želeli preveriti predvsem povezavo med računalniško pridobljenimi rezultati in rezultati pridobljenimi z laboratorijsko analizo.

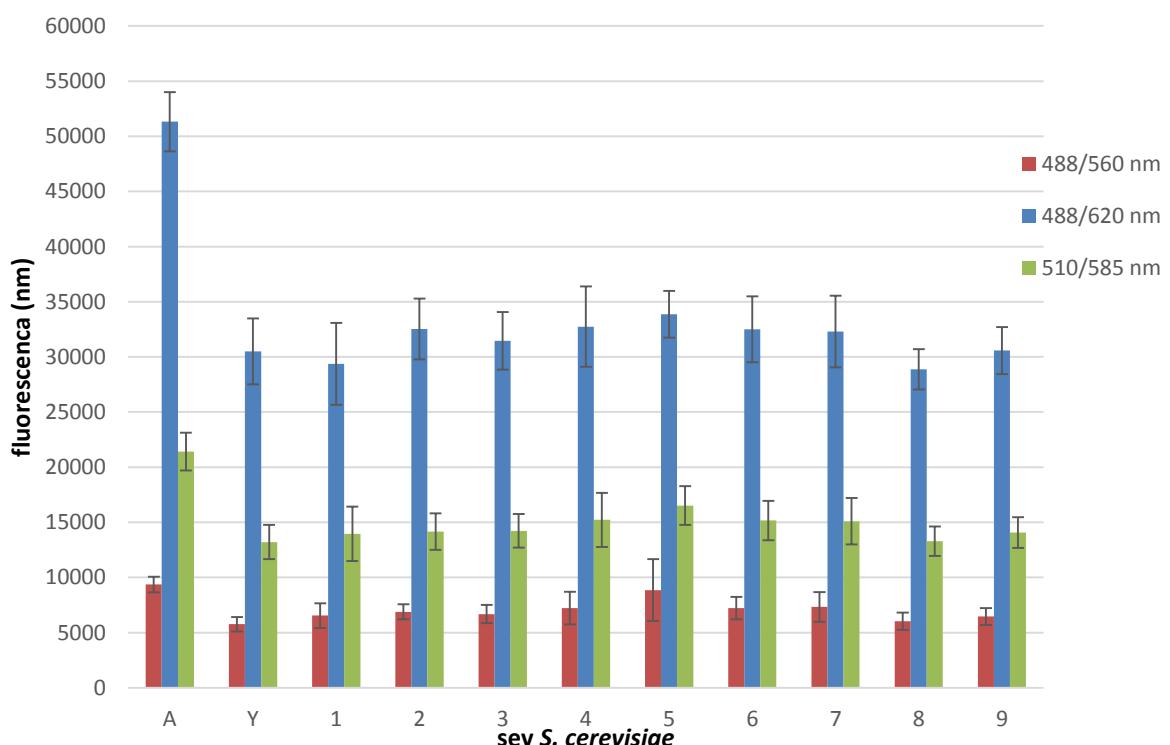
Pri praktičnemu delu naloge smo z laboratorijsko analizo z uporabo barvila Nile Red izračunali fluorescenco barvila v posamezni celici, ki sovpada z vsebnostjo maščob. Kot je razvidno iz slike 15, je vsebnost maščob v sevu A (AWRI1632) večja kot pri vseh ostalih izbranih sevih ter v sevu Y približno enkrat nižja kot v sevu A, kot smo tudi predvidevali na osnovi predhodnih neobjavljenih rezultatov v laboratoriju. Vsebnost celokupnih (488/620 nm) lipidov pri sevih z delecijo heksoza kinaz (*yhr446wΔ*, *glk1Δ*, *hxk1Δ*, *hxk2Δ*) je med sevi primerljiva, najnižja pa je pri sevu pod številko 1, *yhr446wΔ*, kar nakazuje, da ima izbrana delecijska mutanta morda dejansko nižjo vrednost lipidov kot divji tip in ostale testirane mutante. Vsebnost celokupnih lipidov pri delecijski mutanti *fat1Δ*, je nižja kot pri ostalih delecijskih mutantah, kar smo tudi pričakovali (Færgeman in sod., 1997). Nižjo vsebnost celokupnih lipidov pri delecijski mutanti *fat1Δ* smo predvidevali, saj se v MM mediju vsebnost nevtralnih lipidov v tej mutanti zmanjša, ker omenjeni gen opravlja funkcijo vnosa maščobnih kislin v celico (Zou in sod., 2002). Vsebnost celokupnih lipidov v mutantah *npp1Δ* in *emi2Δ* je glede na preostale izbrane delecijske mutante v povprečju, vendar je ravno obratna od naših pričakovanj. Pri *npp1Δ* smo pričakovali višjo vsebnost

lipidov glede na *emi2Δ*. Mutanti *izh2Δ* in *npp2Δ* imata glede na ostale seve vsebnost lipidov, ki bi lahko sodila med povišane vsebnosti.

Vsebnost nevtralnih lipidov, oz. založnih TAG je najvišja pri sevu A (AWRI1632), najnižja pa pri sevu Y (Y7092). Vsebnost TAG je pri sevih z delecijo heksoza kinaz prav tako visoka, med njimi najvišjo vsebnost TAG dosega delecijska mutanta *hxk2Δ*, najnižjo pa prav tako kot pri celokupnih lipidih, delecijska mutanta *ylr446wΔ*. Slednja v primerjavi s preostalimi proučevanimi delecijskimi mutantami sodi med tiste z nižjo vrednostjo TAG v celici.

Vsebnost TAG in dela fosfolipidov v celici je izmed proučevanih delecijskih mutant najvišja v skupini delecijskih mutant heksoza kinaz, natančneje pri delecijski mutantni *hxk2Δ*. Izmed proučevanih mutant v omenjeni skupini heksoza kinaz ima *ylr446wΔ* zopet najnižjo vsebnost lipidov v celici. Prav tako v primerjavi s preostalimi proučevanimi delecijskimi mutantami sodi med tiste, ki imajo nižjo vsebnost lipidov v celici.

Laboratorijska analiza je bila tehnično korektno izvedena, kar je vidno iz vsebnosti lipidov sevov A in Y. Rezultati, ki smo jih z njo pridobili pa niso statistično značilni, zaradi česar rezultatov ne moremo kvalitativno analizirati ali potrditi. Za bolj natančne rezultate bi morali izbrati primernejšo metodo.



Slika 15: Grafični prikaz fluorescence celice pri različnih izbranih sevih *S. cerevisiae* in pri treh različnih valovnih dolžinah. Legenda: 1: *ylr446wΔ*, 2: *glk1Δ*, 3: *izh2Δ*, 4: *hxk1Δ*, 5: *hxk2Δ*, 6: *npp2Δ*, 7: *emi2Δ*, 8: *fat1Δ*, 9: *npp1Δ*, A: *awri1632Δ his 39: Nat*, Y: *y7092Δ*.

5 RAZPRAVA

Debelost je skozi človekov razvoj in obstoj bila vedno prisotna, vendar je bila njena pojavnost do izpred nekaj desetletij relativno nizka. Dostopnost in izobilje energijsko bogatih in predelanih živil v zadnjih desetletjih je pripeljalo do vse večje pojavnosti debelosti, predvsem v državah z zahodnim načinom prehranjevanja oz. zahodnjaško dieto. Poleg omenjenega debelostnega okolja, ki smo si ga ustvarili z živilsko industrijo in sedečim načinom življenja, se je skozi čas oblikovala sub populacija osebkov, ki imajo predeterminirano genetsko ozadje za prekomerno kopičenje maščob in s tem razvoj debelosti (Walley in sod., 2006).

Konvencionalno debelost zdravimo z različnimi dietami, v zadnjem času je vedno bolj pogosto kirurško zdravljenje debelosti, kjer z različnimi kirurškimi posegi dosežemo zmanjšanje prostornine želodca ali pa minimalno spremenimo prebavni trakt. Slednji postopki spadajo med malnutričijske postopke, zaradi česar telo absorbira manj hranilnih snovi in posledično v telo vnesemo manj kalorij. Zdravljenje določenih monogenih oblik debelosti je možno z zdravili, kot je na primer zdravljenje pomanjkanja hormona leptina, vendar je ta oblika zdravljenja in identifikacije v večini primerov debelosti v razvoju (Farooqi in O’Rahilly, 2006).

Neel (1962) je objavil hipotezo o varčnih genih, kateri naj bi omogočili preživetje populacijam, ki se redno srečujejo z obdobji hudega pomanjkanja hrane. Možno je, da so ljudje v današnjem času, ki so debeli, nosilci teh varčnih genov, njihovo izražanje pa je bodisi prekomerno bodisi premalo. Populacijsko delitev debelosti lahko vidimo v različnih populacijah, kot so na primer Pima Indijanci. Študije so pokazale, da je debelost med afroameričani in latinoameričani v primerjavi z belci neenakomerno porazdeljena (Walley in sod., 2006). Dodatno potrditev hipoteze o varčnih genih in njihovi populacijski razdelitvi daje objava Voight in sodelavcev (2006), kjer opisujejo, da je v zadnjih deset tisoč letih mnogo genov, ki sodelujejo v privzemu glukoze in metabolizmu lipidov bilo izpostavljeno selekciji. Skupina znanstvenikov je proučevala prilagoditev sodobnega človeka na lokalne razmere, ki se je vršila preko selekcije genov in ugotovila, da so bile selekciji izpostavljene predvsem azijske, ameriške in evropske etnične skupine, afriške pa so bile izmed vseh najmanj izpostavljene pritiskom selekcije in adaptacije na novo okolje (Voight in sod., 2006).

Genetika debelosti je v zadnjih letih ena izmed najbolj preučevanih tem v znanstvenem svetu. Število objavljenih znanstvenih člankov je po odkritju leptina leta 1994, ko so njegovo funkcijo uspeli povezati z nastankom debelosti, močno naraslo (Loos, 2009). Pri odkrivanju novih genov, ki vplivajo na razvoj debelosti se uporablajo različne metode s katerimi identificiramo kandidatne gene. Razvili so se tudi različni živalski modeli, pri katerih se največkrat uporabi miš oz. podgana (Lutz in Woods, 2012).

Leta 1996 je bila objavljena podatkovna zbirka za debelost Obesity Gene Map, ki je rezultat več kot desetletnega prizadevanja raziskovalne skupnosti, ki se ukvarja z raziskovanjem nastanka in genetskih vzrokov za razvoj debelosti (Loos, 2009). Podatkovna zbirka vsebuje vse kromosomske lokuse, ki so bili kadar koli povezani ali so neposredno vodili v debel fenotip. Najnovejša različica je bila objavljena leta 2006 in trenutno vsebuje preko šeststo lokusov, nekateri med njimi so povzročitelji monogene oblike debelosti, ki so posledica mutacije v enem genu ter lokusi, pridobljeni s pomočjo transgenih živalskih modelov (Rankinen in sod., 2006). Dokaz, da je odkrivanje in identificiranje genetskih vzrokov za razvoj debelosti ena izmed najbolj preučevanih tem v znanstveni skupnosti, je objava prosto dostopne podatkovne zbirke slovenske raziskovalne ekipe (Kunej in sod., 2013), genski atlas za debelost pri sesalcih oz. *Obesity gene atlas in mammals*, v kateri so do sedaj pri štirih različnih sesalcih, miši, podgani, govedu in človeku, zbrali 1736 lokusov, ki so povezani z debelostjo (Kunej in sod., 2013).

V opisanem magistrskem delu smo v prvi stopnji posodobili genski atlas za debelost pri sesalcih. Pri tem smo na podlagi podatkovnega rudarjenja pridobili 244 člankov, katere smo iskali z že omenjenimi gesli. Na podlagi zbrane literature smo pridobili 53 novo identificiranih genov, katere smo dodali v obstoječo zbirko. Na podlagi genov, ki so del podatkovne zbirke genski atlas za debelost, smo z orodjem GeneMANIA izrisali interakcijske mreže.

Mreže smo tvorili tako, da nismo spremenjali nabora jedrnih genov, torej je bila osnovna struktura mrež ne glede na število dodanih genov enaka. Vsi izbrani jedrni geni so domnevno vpleteni v razvoj debelosti ali v metabolizem lipidov, zato lahko predpostavimo, da so dodani geni prav tako vsaj posredno vpleteni v enega izmed omenjenih procesov. Pri takšnem načinu tvorjenja mrež smo ohranili izbran proces, t.j. debelost oz. metabolizem lipidov. Način tvorjenja mrež bi lahko izbrali tudi drugače. Mreže bi lahko tvorili tako, da bi predhodni nabor genov vključili v nabor jedrnih genov in nato dodali deset dodanih genov. V drugem koraku bi deset dodanih genov vključili med jedrne gene in bi tako tvorili mreže z vedno večjim naborom jedrnih genov, znova pa bi dodajali deset dodanih genov. Takšne mreže bi bile precej kompleksnejše in večje, bolj razpršene, vendar bi s takšnim načinom tvegali zakritje preučevanega procesa – debelosti.

Pri analizi interakcijskih mrež, ki smo jih izrisali s pomočjo orodja GeneMANIA smo ugotovili, da so mreže med seboj dobro ohranjene, torej je evolucijska ohranjenost genov, ki vplivajo na debelost in metabolizem lipidov med kvasovko, človekom, mišjo in podgano, precejšnja. To je razvidno tudi iz kvantitativne analize števila oz. deleža homolognih genov med izbranimi vrstami. Pri analizi dodanih prikazanih genov, ki sodelujejo pri razvoju debelosti in nam jih poda orodje GeneMANIA smo ugotovili, da je delež homolognih genov med kvasovko, človekom, mišjo in podgano v povprečju 76,5 %, ne glede na število dodanih prikazanih genov. Pri desetih prikazanih genih je delež homolognih genov med kvasovko in ostalimi organizmi najmanjša, to je 60 %, kar je lahko

posledica izbrane mejne p-vrednosti 10^{-10} , ki smo si jo izbrali kot ločilo med dejanskimi in naključnimi homologi. Delež homolognih genov nato s številom dodanih prikaznih genov naraste do 90 %, pri stotih dodanih prikaznih genih pa pade na 79 %, kot je razvidno iz slike 10. Upoštevati moramo tudi dejstvo, da smo gena *IZH4* ter *YLR446W* ne glede na to, da ne ustrezata kriterijem za identifikacijo homologov, saj je njuna p-vrednost višja od mejne vrednosti, vključili v analizo interakcijskih mrež, saj sta v mreže vključena z visoko stopnjo vpleteneosti.

Pri analizi celotnega števila dodanih genov, ki nam ga poda orodje GeneMANIA med kvasovko, človekom, mišjo in podgano ugotovimo, da je delež homolognih genov najmanjši med podgano in kvasovko pri stotih dodanih prikazanih genih, in sicer 62 %. Pri analizi homolognih genov smo predpostavili, da bo delež homologov z večanjem števila dodanih prikazanih genov padal, vendar se je izkazalo drugače. Delež homolognih genov pri izbranih organizmih pri povečanju števila dodanih prikazanih genov variira, pri razširitvi mrež iz 20 dodanih prikazanih genov na 50 delež homologov pri vseh vrstah, razen pri miši, naraste. Naše predvidevanje, da se bo število homologov z razširitvijo interakcijskih mrež manjšalo tako potrdimo le pri miši, kjer delež homologov z vsako razširitvijo mreže pade, dokler ne doseže 62 % homologije pri stotih dodanih prikazanih genih. Predpostavljal smo, da bo s povečevanjem števila dodanih prikazanih genov in s tem širtvijo interakcijskih mrež orodje dodalo tudi gene, ki niso neposredno vpleteni v razvoj debelosti, torej bi bili v mreže vključeni tudi geni, ki opravljajo drugačne funkcije in morda niso prisotni pri kvasovki. Predpostavili smo tudi, da bo število homologov med kvasovko in mišjo ter kvasovko in podgano enako, saj sta miš in podgana evolucijsko bolj sorodni vrsti kot sta človek in miš ali človek in podgana. Pri kvantitativni analizi deleža homolognih genov smo ugotovili, da je stopnja homologije med mišjo in podgano v razmerju do kvasovke v prvih dveh stopnjah razširitve interakcijskih mrež, pri desetih in dvajsetih dodanih prikazanih genih, manjša kot je med mišjo in kvasovko ter človekom in kvasovko, kjer imata oba organizma enako delež homolognih genov z geni kvasovke. Pri razširitvi interakcijskih mrež za 50 in 100 dodanih prikazanih genov je delež homolognih genov pri miši in človeku glede na kvasne gene drugačen, pojavijo se odstopanja za 11 in 12 % in sicer, človek ima 11 oz. 12 % več homolognih genov s kvasovko v primerjavi z mišjo. Pri tem se pri 50 dodanih prikazanih genih pojavi večja podobnost v deležu homolognih genov med mišjo in podgano, razlika med deleži je 8 % v korist podgani, pri največji razširitvi interakcijske mreže pa ima podgana 19 % več homolognih genov s kvasovko kot jih ima miš. Prav tako, kot smo že omenili, je možno, da orodje v interakcijske mreže pri večjih razširitvah vključuje tudi gene, ki niso neposredno vpleteni v razvoj debelosti pri posameznem organizmu, zaradi česa lahko pride tudi do odstopanj v samem številu homolognih genov med organizmi. Razlog za rezultate, ki smo jih pridobili je lahko različno število objav na katerih temelji orodje GeneMANIA in na podlagi katerih generira interakcijske mreže. Predvidevamo, da je število objav, ki preučujejo gene

podgane manjše kot število objav, ki temeljijo na drugih izbranih organizmih, kar je vidno tudi iz samih interakcijskih mrež, saj so le-te pri podgani razpršene in nehomogene.

Prav tako so pri interakcijskih mrežah genov, ki so vpletene v metabolizem lipidov vidna nesorazmerja v smislu homogenosti mrež pri mrežah, ki temeljijo na človeških jedrnih genih. Nehomogenost oz. razpršenost interakcijskih mrež genov, ki so vpletene v razvoj debelosti lahko opazimo tudi pri človeku in podgani, med tem ko so interakcijske mreže miši in kvasovke homogene. Sama razpršenost interakcijskih mrež je lahko posledica dejansko manjše evolucijske ohranjenosti genov, ki so vpleteni v omenjena procesa. Kot že omenjeno, je nehomogenost prav tako lahko posledica manjšega števila strokovne literature za omenjena metabolna procesa pri človeku in podgani v primerjavi s kvasovko in mišjo, zaradi česar tudi lahko pride do nesorazmerij med izrisanimi interakcijskimi mrežami.

Interakcijske mreže genov, ki so udeleženi v metabolizem lipidov, smo izrisali na podlagi genov človeka in genov kvasovke. Pri kvantitativni analizi deležev homolognih genov med kvasovko in človekom, ki sodelujejo v metabolizmu lipidov smo predpostavili, da se bo s povečevanjem števila dodanih prikazanih genov delež homolognih genov, ki nam jih poda orodje GeneMANIA, manjšalo. Pri prikazu desetih dodanih genov je delež homologov med človekom in kvasovko 80 %, pri povečanju števila dodanih genov naraste na 90 %, kar kaže na to, da naša predvidevanja niso potrjena. Vendar pa delež homologov pri povečanju števila dodanih genov za 30 dodanih genov, pade na 84 %, pri povečanju števila dodanih genov na 100 pa pade na 75 % kot je vidno iz slike 14. Na tej stopnji lahko naše predvidevanje potrdimo. Prav tako lahko v tem primeru pojasnimo porast deleža homolognih genov v prvi stopnji razširitve interakcijske mreže genov, ki so vpletene v metabolizem lipidov. Razlog za odstopanje v deležu homologov je lahko mejna p-vrednost vrednost 10^{-10} , ki smo si jo postavili kot točko preloma, ki loči med dejanskimi in naključnimi homologi.

Pri analizi celotnega števila genov, ki smo jih pridobili z orodjem GeneMANIA smo ugotovili, da s povečevanjem števila dodanih prikazanih genov delež homolognih genov med kvasovko in človekom pada vse do stotih dodanih prikazanih genov, kjer je delež homolognih genov 76 %. Pri analizi genov, ki so vpletene v interakcijske mreže (slika 13) in vseh genov, ki so vpletene v metabolizem lipidov in, ki nam jih poda orodje GeneMANIA (slika 14) ugotovimo, da med naboroma genov pri desetih in stotih dodanih prikazanih genih ne pride do razlik v deležih homolognih genov. Razlike so vidne pri dvajsetih in petdesetih dodanih prikazanih genih kjer je delež homolognih genov, ki nam jih poda orodje GeneMANIA pri izrisu interakcijskih mrež, pri človeku 90 in 84 %. Pri analizi vseh genov, ki so vpletene v metabolizem lipidov pa ima človek pri dvajsetih in petdesetih dodanih genih s kvasovko 70 % homolognih genov.

Upoštevati moramo tudi, da smo gen *DFG10* upoštevali pri sami analizi, v nabor homolognih genov pa ga nismo vključili, saj je v interakcijske mreže vpletен z visoko stopnjo vpletjenosti, njegova p-vrednost pa je višja od mejne vrednosti, ki smo jo postavili.

Visoka stopnja vpletjenosti nekaterih genov v interakcijske mreže, kljub neizpolnjevanju izbranega pogoja (p-vrednosti) za identifikacijo homolognih genov nam pove, da mejna p-vrednost ni ključni kriterij za identifikacijo homolognih genov, ali pa smo mejo postavili prenizko. Ti geni se pojavljajo tako pri interakcijskih mrežah genov, ki so vpleteni v razvoj debelosti kot pri interakcijskih mrežah genov, ki so vpleteni v metabolizem lipidov.

Primer gena, ki je v interakcijsko mrežo genov kvasovke, ki so vpleteni v razvoj debelosti vključen z visoko stopnjo vpletjenosti, je gen *YLR446W*. Ta je v interakcijsko mrežo genov kvasovke, ki so vpleteni v razvoj debelosti izmed vseh stotih genov vpletен z najvišjo stopnjo vpletjenosti, njegova funkcija pa ni raziskana. Prav tako se omenjeni gen v interakcijski mreži kvasovke večinoma pojavlja v centralni poziciji, njegovi ortologi, predvsem pri miši, pa v interakcijskih mrežah prav tako zasedajo centralno pozicijo. Centralna pozicija v interakcijskih mrežah in trenutno še neznana funkcija gena *YLR446W* sta bila ključna dejavnika, na podlagi katerih smo se odločili, da bomo izbrani gen tudi praktično analizirali in preverili vsebnost lipidov v delecijski mutanti izbranega gena *YLR446W*.

Vsebnost lipidov smo v praktičnem delu naloge preverili tudi v delecijskih mutantah drugih izbranih genov. Pri tem smo v laboratorijsko analizo vključili delecijske mutante genov *GLK1*, *HXK1* ter *HXK2*. Delecijske mutante smo izbrali na podlagi podobnosti funkcije, ki jo opravlja, geni so namreč heksokinazi (*HXK1*, *HXK2*) oz. glukokinaza (*GLK1*), prav tako kot predvidevamo tudi za gen *YLR446W*, katerega funkcija nas najbolj zanima. Delecijski mutanti *npp1Δ* in *emi2Δ* smo vključili v analizo, saj se jima v MM mediju zaloga glikogena spremeni. Gen ekto-nukleotid pirofosfataza/fosfodiesteraza (angl. *ecto-nucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase*, kr. *NPP1*) je pomemben gen pri uravnavanju celične signalizacije uravnavanja inzulina (Terkeltaub, 2006). Delecijski mutanti *npp1Δ* se zaloga glikogena v MM gojišču poveča (SGD, 2015). Med procesom podvojitve genoma so nastali različni glukokinazni pari, ki sodelujejo pri metabolizmu glukoze, eden izmed njih je tudi *GLK1/EMI2* glukokinazni par (SGD, 2015). Produkt gena *EMI2* (angl. *early meiotic reduction*) katalizira prvo encimsko reakcijo pretvorbe glukoze v glikogen, zato predpostavljamo, da se delecijski mutanti *emi2Δ* zaloga glikogena zmanjša, kar je povezano tudi z vsebnostjo lipidov v izbranih mutantah (Agius, 2008). Delecijski mutanti *izh2Δ* in *npp2Δ* nimata potrjene znane funkcije v metabolizmu lipidov ali razvoju debelosti, vendar smo ju vseeno vključili v analizo. Geni iz družine genov *IZH* so pomembni pri uravnavanju vsebnosti mikronutrienta cinka v celicah. Gen *IZH2* je homologni gen kvasnega *ADIPOR2* gena in je pleiotropni gen, kar pomeni, da je vpletен v veliko različnih celičnih procesov, njegova funkcija v celičnem metabolizmu pa ne more biti omejena na en sam metabolni proces (Kupchak in sod., 2008). Delecijska mutanta

fat1Δ v analizi služi kot kontrola, saj gen *FAT1* (angl. *fatty acid transporter*) opravlja funkcijo vnosa maščobnih kislin v celico, zato predvidevamo, da se bo vsebnost lipidov v celici, ki raste na MM gojišču, zmanjšala (Zou in sod., 2002). Tako smo se v tem magistrskem delu pri laboratorijski analizi osredotočili na devet genov kvasovke (*YLR446W*, *GLK1*, *IZH2*, *HXK1*, *HXK2*, *NPP2*, *EMI2*, *FAT1* in *NPP1*), za katere smo predvidevali, da imajo funkcijo pri metabolizmu lipidov oziroma njihovi homologi pri razvoju debelosti.

Čeprav je bil eksperiment tehnično dobro izveden, kar se vidi iz vrednosti vsebnosti lipidov v sevih A in Y, z izbrano metodo ne moremo potrditi dejanskih razlik v vsebnosti lipidov v celicah, saj metoda ni dovolj natančna, da bi z njo lahko zaznali statistično značilne razlike. Na podlagi dobljenih rezultatov lahko sklepamo, da v primeru, da razlike v vsebnosti lipidov v celicah obstajajo, so majhne, zato bi za bolj natančne rezultate morali izbrati bolj natančno metodo, kot so na primer visokotlačna plinska kromatografija (angl. *high-pressure liquid chromatography*, kr. *HPLC*), kvantitativna tankoplastna kromatografija (angl. *quantitative thin-layer chromatography*, kr. *quantitative TLC*) ali plinska kromatografija/masna spektrometrija (angl. *gas chromatography-mass spectrometry*, kr. *GC/MS*).

Upoštevati moramo, da je debelost poligena lastnost in analize posameznih genov ne morejo podati točnih rezultatov v smislu vpletenosti posameznega gena v razvoj debelosti, kar smo pokazali ravno z laboratorijsko analizo, saj rezultatov ne moremo v celoti interpretirati kvalitativno. Za reprezentativno laboratorijsko analizo bi bilo potrebno izbrati bolj natančno metodo poleg tega pa bi morali namesto merjenja vsebnosti lipidov v delecijskih mutantah posameznih genov meriti vsebnosti lipidov v delecijskih mutantah, ki imajo izbrisano večje število genov v pravilni kombinaciji, za katere sumimo, da so vpleteni v razvoj debelosti ali metabolizem lipidov.

Odkritje genetskih vzrokov za razvoj debelosti nam je v pomoč pri razumevanju etiologije debelosti, predvsem pa pripomore k zmanjšanju stigmatizacije debelih ljudi (Farooqi in O’Rahilly, 2006). Ozaveščanje širše skupnosti o debelosti pripomore k razumevanju debelosti kot zdravstvenega stanja in ne kot posledice sedečega načina življenja in prenajedanja. Poleg omenjenih pristopov k odkrivanju novih genov, ki so vpleteni v razvoj debelosti bi lahko k identifikaciji novih genov pristopili preko obratne smeri; suhost oz. vitkost je prav tako fenotipska lastnost, ki je genetsko enako stabilna in dedna kot debelost. Identifikacija teh genov bi nam podala zelo pomembne informacije o patofiziologiji debelosti, poleg tega pa nam bi morda odgovorila na vprašanje, zakaj nekateri posamezniki, čeprav so izpostavljeni obesogenim dejavnikom, ne razvijejo debelega fenotipa. Takšne informacije bi nam v prihodnje lahko pomagale pri preventivnem ukrepanju proti razvoju debelosti in njenemu zdravljenju (Farooqi in O’Rahilly, 2006).

Odkrivanje genetskih vzrokov za razvoj debelosti in odkrivanje novih metod zdravljenja ljudi s prekomerno telesno maso sta zaradi vse večjega števila debelih ljudi po svetu nedvomno dve izmed najbolj proučevanih tem v znanstvenem svetu. Evolucijska ohranjenost interaktoma genov udeleženih v uravnavanje metabolizma maščob pri evkarijontih pa je pri tovrstnih raziskavah ključnega pomena. Uporaba modelnih organizmov kot so kvasovka, podgana in miš pri raziskavah, ne le debelosti, temveč tudi pri raziskavah drugih bolezni nam omogoča poglobljeno raziskovanje različnih bioloških in celičnih procesov v izbranem živalskem modelu. Evolucijska ohranjenost interakcij genov, ki so vpleteni v izbran proces pri modelnem organizmu in človeku pa omogoča, da posamezna spoznanja, do katerih smo prišli s pomočjo modelnega organizma, lažje projeciramo na človeka. Zaradi vsesplošne uporabnosti modelnih organizmov so se razvili tudi različni glodalski in neglodalski živalski modeli za raziskovanje genetskih vzrokov za razvoj debelosti. S pomočjo le-teh in zavzetega raziskovanja znanstvene skupnosti in napredka tehnologije smo prišli do nekaterih bistvenih odkritij, ki so doprinesla k razumevanju etiologije debelosti. Vse večje prizadevanje k raziskovanju razvoja nastanka debelosti pa nam omogoča, da smo vsak dan bližje novim odkritjem in spoznanjem na področju genetskih vzrokov nastanka debelosti.

Menim, da podobne bioinformatske analize kot je opisana v tem magistrskem delu omogočajo hitrejše pridobivanje primarnih rezultatov na podlagi odkrivanja homologije genov, njihovih interakcij in funkcij, vendar jih je potrebno tudi praktično preveriti, da lahko rezultate v popolnosti ovrednotimo. Za praktično preverjanje prvih ugotovitev pridobljenih z bioinformatsko analizo je analiza z uporabo barvila Nile Red manj primerna, saj ni dovolj natančna, predlagamo uporabo bolj natančnih metod analize kot so HPLC, GS/MS, kvantitativni TLC. Bioinformatske študije v primerjavi z eksperimentalnimi študijami omogočajo hitrejše pridobivanje primarnih rezultatov, so cenejše in omogočajo hiter napredek v proučevanju genov, ki so vpleteni v razvoj debelosti, vendar je ugotovitve potrebno eksperimentalno preveriti. Uporaba orodij kot je GeneMANIA, ki nam poda informacijo o povezavi med določenimi skupinami genov ter ima sposobnost dodajanja genov s podobnimi funkcijami omogoča identifikacijo novih genov, ki so pomembni v izbranem procesu, kot je na primer gen *YLR446W*, katerega brez uporabe orodja GeneMANIA verjetno ne bi tako hitro identificirali. Funkcije gena *YLR446W* z laboratorijsko analizo z uporabo barvila Nile Red nismo uspeli dokazati, za bolj natančne rezultate bi bilo potrebno izbrati obučutljivejše metode, ki so bile predhodno že omenjene.

6 SKLEPI

- Modelni organizmi, kot so kvasovka, miš in podgana predstavljajo orodje za preučevanje debelosti pri ljudeh, saj imajo s človekom precejšnjo stopnjo homologije.
- Interaktom genov, udeleženih v uravnavanje maščob pri kvasovki, miši, podgani in človeku je relativno dobro evolucijsko ohranjen.
- Kvasovka bi z deležem homolognih genov, ki jih ima s človekom lahko bila potencialni modelni organizem za preučevanje debelosti pri človeku.
- Analitična metoda z uporabo barvila Nile Red za merjenje vsebnosti lipidov ni dovolj natančna metoda za pridobitev statistično značilnih rezultatov.
- Pri odkrivanju genskih vzrokov za razvoj debelosti obstajajo geni, kot je na primer gen *YLR446W*, kateri bi domnevno lahko imeli ključno vlogo v izbranem procesu, vendar njihova funkcija še ni potrjena.

7 POVZETEK

Število debelih ljudi kljub javnemu ozaveščanju vsako leto raste, med debelimi je vedno več otrok. S povečevanjem števila debelih ljudi po vsem svetu se je povečalo tudi raziskovanje v smeri odkrivanja genetskih dejavnikov, ki vplivajo na razvoj debelosti in odkrivanja novih načinov zdravljenja. Da bi se bolje zavedali pomena debelosti za zdravje človeka, so konec leta 2013 v ameriških smernicah za zdravljenje bolezni srca in debelosti debelost poimenovali kot bolezen in načine zdravljenja tudi sprejeli v smernicah, kjer narekujejo, kako zmanjšati prekomerno telesno maso, da bi preprečili srčno kap ali druge srčne bolezni (Treating ..., 2015).

Na razvoj debelosti vplivajo številni dejavniki, med njimi tudi genetska predispozicija, cirkadiani ritmi, nevropeptidi, regulacija biokemijskih poti v perifernih organih oz. tkivih, oksidativni stres, mikrobiom ter življenjski slog. Za preučevanje genetskih dejavnikov, ki vplivajo na razvoj debelosti se uporablajo študije dvojčkov in posvojencev, metoda identifikacije kandidatnih genov, genomske povezovalne in asociacijske študije ter različni živalski modeli. Pri slednjih poznamo med drugim monogene modele, poligene modele ter ostale živalske modele, pri katerih je debelost inducirana operativno ali kemijsko. Ker se je uporaba živalskih modelov pri odkrivanju etiologije in načina zdravljenja pri različnih bolezni izkazala za uspešno, smo žeeli preveriti, ali so in če, v kolikšni meri, interakcijske poti, v katere so vpleteni geni, ki sodelujejo pri metabolizmu maščob med kvasovko, mišjo, podgano in človekom ohranjene. Zato smo opravili bioinformatsko analizo interaktoma genov, udeleženih v uravnavanje maščob pri evkarijontih, svoje ugotovitve pa smo preverili tudi z analizo z uporabo barvila Nile Red.

V prvem delu smo posodobili podatkovno zbirkovo Genski atlas za debelost. Na podlagi genov, ki so zbrani v posodobljeni podatkovni zbirki, smo identificirali ortologne gene med kvasovko, človekom, podgano in mišjo. S pomočjo orodja GeneMANIA smo pridobili dodatne gene, ki pri posameznem organizmu domnevno sodelujejo pri razvoju debelosti oz. metabolizmu lipidov ter tudi tem genom identificirali ortologne gene. Devetim delecijskim mutantam kvasovke, ki imajo izbrisani izbrani gen smo preverili tudi vsebnost lipidov v celicah.

S pomočjo orodja GeneMANIA smo izrisali interakcijske mreže za posamezni organizem, kjer smo spremenjali število dodanih genov ter mreže analizirali. Ugotovili smo, da se pri interakcijskih mrežah, ki smo jih gradili iz nabora genov, ki so domnevno vpleteni v razvoj debelosti, nekateri geni, kot je gen *YLR446W* in njegovi ortologi, pri miši in človeku *HKDC1* ter pri podgani *Hk1*, v vseh izbranih parametrih pojavljajo v osrednji poziciji v interakcijski mreži, kar pomeni, da bi lahko imeli pri razvoju debelosti visoko stopnjo vpletosti, čeprav funkcija kvasnega gena *YLR446W* še ni potrjena. Poleg omenjenih genov, ki so se v naši bioinformacijski analizi izkazali kot geni z visoko vpletostenjijo v razvoj debelosti, so se pojavili tudi drugi geni za katere, glede na naše rezultate lahko

predvidevamo, da imajo visoko vpletenost v razvoj debelosti; to so geni kvasovke *YLR085W* z ortolognim genom pri vseh treh organizmih *GFPT2*, geni iz družine genov *IZH*, ki imajo ortologni gen pri vseh treh organizmih *ADIPOR2* ter gen kvasovke *HER2*, ki ima ortologni gen pri vseh treh organizmih *QRSL1*.

Pri analizi interakcijskih mrež pri katerih smo ugotavljali ohranjenost med kvasovko in človekom in ki smo jih gradili iz nabora genov, ki so domnevno vpleteni v metabolizem lipidov, smo identificirali štiri kvasne gene, ki imajo v interakcijskih mrežah visoko stopnjo vpletenosti. Ti geni so *POT1*, ki ima pri človeku ortologni gen *ACAA1*, gen kvasovke *DFG10*, ki ima ortologa *SRD5A3*, in gen *SUR2*, ki ima ortologa *MSMO1* ter gen *STE24*, ki ima pri človeku ortologni gen *ZMPSTE24*.

Pri kvantitativni analizi deleža homolognih genov med kvasovko, človekom, mišjo in podgano smo ugotovili, da so povezave med geni, ki so vpleteni v razvoj debelosti in metabolizem lipidov med izbranimi organizmi relativno dobro evolucijsko ohranjene. Naše hipoteze, da se bo število homolognih genov med izbranimi organizmi s povečevanjem števila dodanih genov manjšalo, torej bi se s širjenjem nabora dodanih genov evolucijska ohranjenost nižala, ne moremo v celoti niti potrditi niti ovreči. Ugotovili smo, da nekateri geni, ki se kot ključni geni pojavijo v interakcijskih mrežah v kvantitativni analizi deleža homolognih genov niso uvrščeni med homologe, saj ne presegajo mejne p-vrednosti. Eden izmed takšnih genov je tudi gen kvasovke *YLR446W*, ki ima v interakcijskih mrežah osrednjo pozicijo s tem domnevno visoko stopnjo vpletenosti v procesu nastanka debelosti, vendar glede na naše postavljene kriterije nima ortognega gena pri človeku, miši ali podgani. Zaradi centralne pozicije v interakcijskih mrežah in trenutno še neznane funkcije omenjenega gena, predvideva se le, da je heksokinaza, smo se odločili, da bomo gen *YLR446W* tudi praktično analizirali v delecjski mutanti *ylr446wΔ*. Skupno smo analizirali in preverili vsebnost lipidov v devetih izbranih delecjskih mutantah kvasovke. Pri tem smo ugotovili, da ima delecjska mutanta *ylr446wΔ* izmed vseh heksoza kinaz najnižjo vsebnost lipidov, kar bi lahko nakazovalo na to, da ima delecjska mutanta morda resnično nižjo vrednost lipidov v celici kot divji tip, vendar izbrana metoda ni dovolj natančna, da bi to lahko potrdili. Poleg tega je debelost poligena lastnost, ki ni odvisna le od genetike, temveč tudi od drugih dejavnikov, ki so pri razvoju debelosti poleg genetskih vzrokov prav tako zelo pomembni.

8 VIRI

- Agius L. 2008. Glucokinase and molecular aspects of liver glycogen metabolism. *The Biochemical Journal*, 15, 414(1): 1-18
- Akubuiro A., Bridget Zimmerman M. B., Boles Ponto L. L., Walsh S. A., Sunderland J., McCormick L., Singh M. 2013. Hyperactive hypothalamus, motivated and non-distractible chronic overeating in ADAR2 transgenic mice. *Genes, Brain and Behavior*, 12: 311-322
- Allan M. F., Eisen E. J., Pomp D. 2004. The M16 mouse: an outbred animal model of early onset polygenic obesity and diabetes. *Obesity Research*, 12, 9: 1397-1407
- Aoyagi t., Shimba S., Tezuka M. 2005. Characteristics of circadian gene expressions in mice white adipose tissue and 3T3-L1 adipocytes. *Journal of Health Science*, 51, 1: 21-32
- Balakrishnan R., Christie K. R., Costanzo M. C., Dolinski K., Dwight S. S., Engel S. R., Fisk D. G., Hirschman J. E., Hong E. L., Nash R., Oughtred R., Skrzypek M. 2005. Fungal BLAST and model organism BLASTP best hits: new comparison resources at the *Saccharomyces* Genome Database (SGD). *Nucleic Acids Research*, 33: 374-377
- Bell C. G., Walley A. J., Froguel P. 2005. The genetics of human obesity. *Nature Reviews Genetics*, 6: 221-234
- Birney E., Andrews T. D., Bevan P., Caccamo M., Chen Y., Clarke L., Coates G., Cuff J., Curwen V., Cutts T., Down T., Eyras E. 2004. An overview of Ensembl. *Genome Research*, 14, 5: 925-928
- Botstein D., Chervitz S. A., Cherry M., 1997. Yeast as a model organism. *Science*, 277, 5330: 1259-1260
- Bureau A., Parker M. M., Ruczinski I., Taub M. A., Marazita M. L., Murray J. C., Mangold E., Noethen M. M., Ludwig K. U., Hetmanski J., Bailey-Wilson J. E., Cropp C. D., Li Q., Szymczak S., Albacha-Hejazi H., Alqosayer K., Field L. L., Wu-Chou Y. H., Dohenyi K. F., Ling H., Scott A. F., Beaty T. H. 2014. Whole exome sequencing of distant relatives in multiplex families implicates rare variants in candidate genes for oral clefts. *Genetics*, 197: 1039-1044
- Bünger L. in Hill W. G. 1999. Inbred lines of mice derived from long-term divergent selection on fat content and body weight. *Mammalian Genome*, 10: 645-648
- Chen D. in Garg A. 1999. Monogenic disorders of obesity and body fat distribution. *Journal of Lipid Research*, 40: 1735-1746

- Cheung W. W., Mao P. 2011. Recent advances in obesity: genetics and beyond, International Scholarly Research Network Endocrinology, 2012, doi:10.5402/2012/536905: 11 str.
- Church C., Lee S., Bagg E. A. L., McTaggart J. S., Deacon R., Gerken T., Lee A., Moir L., Mecinocić J., Quwailid M. M., Schofield C. J., Ashcroft F. M., Cox R. D. 2009. A Mouse model for the metabolic effects of the human fat mass and obesity associated *FTO* gene. PLoS Genetics, 5, 8: e1000599, doi:10.1371: 15 str.
- Controlling the global obesity epidemic, Nutrition, Programmes. 2015. World Health Organization.
<http://www.who.int/nutrition/topics/obesity/en/> (25.4.2015)
- Cullberg KB., Christiansen T., Paulsen SK., Bruun JM., Pedersen SB., Richelsen B. 2013. Effect of weight loss and exercise on angiogenic factors in the circulation and in adipose tissue in obese subjects. Obesity, 21, 3: 454-460
- Cruceanu, C., Ambalavanan A., Spiegelman D., Gaulthier J., Lafrenière R. G., Dion P. A., Alda M., Turecki G., Rouleau G. A. 2013. Family-based exome-sequencing approach identifies rare susceptibility variants for lithium-responsive bipolar disorder. Genome, 56: 634-640
- Ding X., Fan S., Lu Y., Zhang Y., Gu M., Zhang L., Liu G., Guo L., Jiang D., Lu X., Li Y., Zhou Z., Huang C. 2012. Citrus ichangensis Peel Extract Exhibits Anti-Metabolic Disorder Effects by the Inhibition of PPAR γ and LXR Signaling in High-Fat Diet-Induced C57BL/6 Mouse. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2012, doi:10.1155/2012/678592: 10 str.
- Ehrlund A., Mejert N., Lorente-Cebrián S., Åström G., Dahlman I., Laurencikiene J., Rydén M. 2013. Characterization of the Wnt inhibitors secreted frizzled-related proteins (SFRPs) in human adipose tissue. The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism, 98, 3, doi:10.1210/jc.2012-3416: 5 str.
- Everard A. in Cani P. D. 2013. Diabetes, obesity and gut microbiota. Best Practice and Research Clinical Gastroenterology, 27: 73-83
- Farooqi I. S., Keogh J. M., Yeo G. S. H., Lank E. J., Cheetham T., O'Rahilly. 2003. Clinical spectrum of obesity and mutations in the melanocortin 4 receptor gene. The New England Journal of Medicine, 348, 12: 1085-1095
- Farooqi S., O'Rahilly S. 2006. Genetics of obesity in humans. Endocrine Reviews, 27, 7: 710-718

Fonseca R. G., Sales V. M., Ropelle E., Barros C. C., Oyama L., Ihara S. S. I., Abdalla Saad M. J., Carvalho Araújo R., Bosco Pesquero J. 2013. Lack of kinin B₁ receptor potentiates leptin action in the liver. *Journal of Molecular Medicine*, 91, 7: 851-860

Funcke J. B., Von Schnurbein J., Lennerz B., Lahr G., Debatin K. M., Fischer-Pozovszky P., Wabitsch M. 2014. Monogenic forms of childhood obesity due to mutations in the leptin gene. *Molecular and Cellular Pediatrics*, 1, doi:10.1186/s40348-014-0003-1: 3 str.

Færgeman N. J., DiRusso C. C., Elberger A., Knudsen J., Blakc P. N. 1997. Disruption of the *Saccharomyces cerevisiae* homologue to the murine fatty acid transport protein impairs uptake and growth on long-chain fatty acids. *The Journal of Biological Chemistry*, 272, 13: 8531-8538

GeneCards. 1996-2015. Weizmann Institute of Science
<http://www.genecards.org/> (1.7.2015)

GO Enrichment Analysis. Gene Ontology Consortium. 1999-2015. National Human Genome Institute
<http://geneontology.org/page/go-enrichment-analysis> (13.3.2015)

Goffeau A., Barrell B. G., Bussey H., Davis R. W., Dujon B., Feldmann H., Galibert F., Hoheisel J. D., Jacq C., Johnston M., Louis E. J., Mewes H. W., Murakami Y., Philippson P., Tettelin H., Oliver S. G. 1996. Life with 6000 genes. *Science*, 274, 5287: 563-567

Gulati P., Cheung M. K., Antrobus R., Church C. D., Harding H. P., Tung Y. L., Rimmington D., Ma M., Ron D., Lehner P. J., Ashcroft F. M., Cox R. D., Coll A. P., O'Rahilly S., Yeo G. S. H. 2012. Role of the obesity-related *FTO* gene in the cellular sensing of amino acids. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110, 7: 2557-2562

Gunay-Aygun M., Cassidy S. B., Nicholls R. D. 1997. Prader-Willi and other syndromes associated with obesity and mental retardation. *Behavior Genetics*, 27, 4: 307-324

Harley I. T. W. in Karp C. L. 2012. Obesity and the gut microbiome: Striving for causality. *Molecular Metabolism*, 1: 21-31

He J., Gao J., Xu M., Ren S., Stefanovič-Račič M., O'Doherty R. M., Xie W. 2013. PXR ablation alleviates diet-induced and genetic obesity and insulin resistance in mice. *Diabetes*, 62: 1876-1887

Heiker J. T., Klöting N. 2013. Replication initiator 1 in adipose tissue function and human obesity. *Vitamines and Hormones*, 91: 97-105

- Horvat S., Bünger L., Falconer V. M., Mackay P., Law A., Bulfield G., Keightley P. D. 2000. Mapping of obesity QTLs in a cross between mouse lines divergently selected on fat content. *Mammalian Genome*, 11: 2-7
- Hsieh Y., Wang S. 2013. Lucidone from *Lindera erythrocarpa* Makino fruits suppresses adipogenesis in 3T3-L1 cells and attenuates obesity and consequent metabolic disorders in high-fat diet C57BL/6 mice. *Phytomedicine*, 20: 394-400
- Huntley R. P., Binns D., Dimmer E., Barrell D., O'Donovan C., Apweiler R. 2009. QuickGO: a user tutorial for the web-based Gene Ontology browser. *Database*, 2009
- Huszar D., Lynch C. A., Fairchild-Huntress V., Dunmore J. H., Fang Q., Berkemeier L. R., Gu W., Kesterson R. A., Boston B. A., Cone R. D., Smith F. J., Campfield L. A., Burn P., Lee F. 1997. Targeted disruption of the melanocortin-4 receptor results in obesity in mice. *Cell*, 88, 1: 131-141
- Ionita-Laza I., Lee S., Makarov V., Buxbaum J. D., Lin X. 2013. Family-based association test for sequence data. And comparisons with population-based association tests. *European Journal of Human Genetics*, 21: 1185-1162
- Jang W. S., Choung S. Y. 2012. Antiobesity effects of the ethanol extract of *Laminaria japonica* areshoung in high-fat-diet-induced obese rat. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2013, doi:10.1155/2013/492807: 17 str.
- Jetten A. M., Kang S. H., Takeda Y. 2013. Retinoic acid-related orphan receptors α and γ : key regulatory of lipid/glucose metabolism, inflammation, and insulin sensitivity. *Frontiers in Endocrinology*, 4, 1, doi:10.3389/fendo.2013.00001: 8 str.
- Kanasaki K. in Koya D. 2010. Biology of Obesity: Lessons from animal models of obesity. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2011: 11 str.
- Kang J., Yun S., Park M., Jeong S., Park H. 2013. Anti-obesity effect of *Lactobacillus gasseri* BNR17 in high-sucrose diet-induced obese mice. *PloS ONE*, 8, 1: e54617, doi: 10.1371/journal.pone.0054617: 8 str.
- Kasprzyk A. 2011. BioMart: driving a paradigm change in biological data management. *Database*, 2011: bar049, doi:10.1093/database/bar049: 3 str.
- Keuper M., Asterholm W., Scherer P. E., Westhoff M., Möller P., Debatin K., Strauss G., Wabitsch M., Fischer-Posovszky P. 2013. TRAIL (TNF-related apoptosis-inducing ligand) regulates adipocyte metabolism by caspase-mediated cleavage of PPARgamma. *Cell Death and Disease*, 4: e474, doi:10.1038/cddis.2012.212: 10 str.
- Kim Y. in Park T. 2010. DNA microarrays to define and search for genes associated with obesity. *Biotechnology Journal*, 5, 1: 99-112

- Kimple M. E., Keller M. P., Rabaglia M. R., Pasker R. L., Neuman J. C., Truchan N. A., Brar H. K., Attie A. D. 2013. Prostaglandin E₂ receptor, EP3, is induced in diabetic islets and negatively regulates glucose-and hormone-stimulated insulin secretion. *Diabetes*, 62, 6: 1904-1912
- Kunej T., Jevšinek Skok D., Zorc M., Ogrinc A., Michal J. J., Kovač M., Jiang Z. 2013. Obesity gene atlas in mammals. *Journal of Genomics*, 1: 45-55
- Kupchak B. R., Villa N. Y., Kulemina L., Lyons T. J. 2008. Dissecting the regulation of yeast genes by the osmotin receptor. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 374, 2: 210-213
- Lee KM., Yang SJ., Kim Y. D., Choi Y. D., Nam J. HS., Choi C. S., Choi H., Park CS. 2013. disruption of the cereblon gene enhances hepatic AMPK activity and prevents high-fat diet-induced obesity and insulin resistance in mice. *Diabetes*, 62, 6: 1855-1864
- Lin M. T. in Beal M. F. 2006. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Nature*, 443, 7113: 787-795
- Loos R. J. F. 2009. Recent progress in the genetics of common obesity. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 68, 6: 811-829
- Lu B., Bridges D., Yang Y., Fisher K., Cheng A., Chang L., Meng Z., Lin D. J., Downes M., Yu R. T., Liddle C., Evans R. M., Saltiel A. R. 2014. Metabolis crosstalk: molecular links between glycogen and lipid metabolism in obesity. *Diabetes*, 63, 9: 2935-2948
- Lutz T. A. in Woods S. C. 2012. Overview of animal models of obesity. *Current Protocols in Pharmacology*, 5, 61, doi:10.1002/0471141755.ph0561s58: 22 str.
- Madden T. 2008-2015. BLAST help manual overview. V: BLAST help, Beethesda, National Center for Biotechnology Information: 1 str.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK52636/> (5.9.2015)
- Manikkam M., Tracey R., Guerrero-Bosagna C., Skinner M. K. 2013. Plastics derived endocrine disruptors (BPA, DEHP and DBP) induce epigenetic transgenerational inheritance of obesity, reproductive disease and sperm epimutations. *PloS ONE*, 8, 1: e55387, doi:10.1371/journal.pone.0055387: 18 str.
- Mao P. 2011. Potential antidepressant role of neurotransmitter CART: implications for mental disorders. *Depression Research and Treatment*, 2011, 11, doi:10.1155/2011/762139: 12 str.
- McCarthy M. I. 2010. Genomics, type 2 diabetes and obesity. *The New Journal of Medicine*, 363: 2339-2350

MGI-Mouse genome informatics. 2015. The Jackson Laboratory, Bar Harbour, Maine
<http://www.informatics.jax.org/> (15.5.2015)

Mikkonen L., Hirvonen J., Jänne O. A. 2013. SUMO-1 regulates body weight and adipogenesis via PPAR γ in male and female mice. *Endocrinology*, 154, 2: 698-708

Moreno-Navarrete J. M., Petrov P., Serrano M., Ortega F., Garcia-Ruiz E., Oliver P., Ribot J., Ricart W., Palou A., Bonet M. L., Fernández-Real J. M. 2012. Decreased RB1 mRNA, protein, and activity reflect obesity-induced altered adipogenic capacity in human adipose tissue. *American Diabetes Association*, 62, 6: 1923-1931

Myles S. F., Kral T. V. E., 2006. Social environmental and genetic influences on obesity and obesity-promoting behaviors: fostering research integration. V: Genes, behavior, and the social environment: moving beyond the nature/nurture debate, Hernandez L. M. in Blazer D. G. (ed.). New York, National Academy of Sciences: 236-272

NCBI-National Center for Biotechnology Information. 2015. Bethesda, Maryland.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/> (1.7.2015)

Neel J. V. 1962. Diabetes mellitus: a »thrifty« genotype rendered detrimental by »progress«?. *The American Journal of Human Genetics*, 14, 4: 353-362

Nilsson C., Raun K., Yan F., O'Larsen M., Tang-Christensen M. 2012. Laboratory animals as surrogate models of human obesity. *Acta Pharmacologica Sinica*, 33: 173-181

Obesity, Health Topics. 2015. World Health Organization.
<http://www.who.int/topics/obesity/en/> (25.4.2015)

Okuno Y., Ohtake F., Igarashi K., Kanno J., Matsumoto T., Takada I. Kato S., Imai Y. 2013. Epigenetic regulation of adipogenesis by PHF2 histone demethylase. *Diabetes*, 62, 5: 1426-1434

Pavlovič Z., Bakovič M. 2013. Regulation of phosphatidylethanolamine homeostasis – the critical role of CTP: phosphoethanolamine cytidylyltransferase (Pcyt2). *International Journal of Molecular Sciences*, 14: 2529-2550

Perrone L., Marzuillo P., Grandone A., Miraglia del Giudice E. 2010. Chromosome 16p11.2 deletions: another piece in the genetic puzzle of childhood obesity. *Italian Journal of Pediatrics*, 36: 43

Pollack A., The New York Times, Business Day, A. M. A. recognizes obesity as a disease. 18.6.2013
http://www.nytimes.com/2013/06/19/business/ama-recognizes-obesity-as-a-disease.html?_r=0 (12.9.2015)

- Ptitsyn A. A., Zvoni S., Conrad S. A., Scott L. K., Mynatt R. L., Gimble J. M. 2006. Circadian clocks are resounding in peripheral tissues. *PLoS Computational Biology*, 2, 3, doi:10.1371/journal.pcbi.0020016: 10 str.
- Rankinen T., Zuberi A., Chagnon Y. C., Weisnagel S. J., Argyropoulos G., Walts B., Pérusse L., Bouchard C. 2006. The human obesity gene map: The 2005 update. *Obesity*, 14, 4
- Reilly J. J. in McDowell Z. C. 2003. Physical activity interventions in the prevention and treatment of paediatric obesity: systematic review and critical appraisal. *Proceedings of the Nutrition Society*, 62, 3: 611-619
- RGD-Rat Genome Database. 2015. National Heart. Lung and Blood Institute.
<http://rgd.mcw.edu/> (15.5.2015)
- Robinson S. W., Dinulescu D. M., Cone R. D. 2000. Genetic models of obesity and energy balance in the mouse. *Annual review of Genetics*, 34: 687-745
- Sakamuri S. S. V. P., Sukapaka M., Prathipati V. K., Nemani H., Putcha U. K., Pothana S., Koppala S. R., Ponday L. R. K., Acharya V., Veetill G. N., Ayyalasomayajula V. 2012. Carbenoxolone treatment ameliorated metabolic syndrome in WNIN/Ob obese rats, but induced severe fat loss and glucose intolerance in lean rats. *PloS ONE*, 7, 12: e50214, doi:10.1371/journal.pone.0050216: 16 str.
- Sampath H., Vartanian V., Rollins M. R., Sakumi K., Nakabeppu Y., Lloyd R. S. 2012. 8-oxoguanine DNA glycosylase (OGG1) deficiency increases susceptibility to obesity and metabolic dysfunction. *PloS ONE*, 7, 12: e51697, doi:10.1371/journal.pone.0051697: 10 str.
- Saunders C. L., Chiodini B. D., Sham P., Lewis C. M., Abkevich V., Adeyemo A. A., de Andrade M. Arya R., Berenson G. S., Blangero J., Boehnke M., Borecki I. B. 2007. Meta-analysis of genome-wide linkage studies in BMI and obesity. *Obesity (Silver Spring, Md.)*, 15, 9: 2263-2275
- SGD- *Saccharomyces* Genome Database. 2015. Stanford University, Stanford, California.
<http://www.yeastgenome.org/> (15.5.2015)
- Shan T., Liang X., Bi P., Kuang S. 2013. Myostatin knockout drives browning of white adipose tissue through activating the AMPCK-PGC1 α -Fndc5 pathway in muscle. *FASEB Journal*, 27, 5: 1981-1989

- Smedlej D., Halder S., Durinck S., Pandini L., Provero P., Allen J., Arnalz O., Awedh M. H., Baldok R., Barbiera G., Bardou P., Beck T. 2015. The BioMart community portal: an innovative alternative to large, centralized data repositories. *Nucleic Acids Research*, 43: 589-598
- Soukas A., Cohen P., Socci N. D., Friedman J. M. 2000. Leptin-specific patterns of gene expression in white adipose tissue. *Genes and Development*, 14, 8: 963-980
- Srinivasan V., Sandhya N., Sampathkumar R., Farooq S., Mohan V., Balasubramanyam M. 2007. Glutamine fructose-6-phosphate amidotransferase (GFAT) gene expression and activity in patients with type 2 diabetes: Inter-relationships with hyperglycaemia and oxidative stress. *Clinical Biochemistry*, 40, 13-14: 952-957
- Stunkard A. J., Foch T. T., Hrubec Z. 1986. A twin study of human obesity. *The Journal of the American Medical Association*, 256 (1): 51-54
- Stunkard A. J., Sørensen T. I. A., Hanis C., Teasdale T. W., Chakraborty R. M. A., Schull W. J., Schulsinger F. 1986. An adoption study of human obesity. *The New England Journal of Medicine*, 314: 193-198
- Styskal J., Van Remmen H., Richardson A., Salmon A. B. 2012. Oxidative stress and diabetes: what can we learn about insulin resistance from antioxidant mutant mouse models? *Free Radical Biology and Medicine*, 52, 1: 46-58
- Sun C., Cao M., Shi J., Li L., Miao L. Hong J., Cui B., Ning G. 2012. Copy number variations of obesity relevant loci associated with body mass index in young Chinese. *Gene*, 516, 2: 198-203
- Tao Y.X., Yuan ZH., Xie J. 2013. G protein-coupled receptors as regulators of energy homeostasis. V: Molecular biology and translational science. Tao Y.X. (ed.). Burlington, Academic Press: 1-44
- Terkeltaub R. 2006. Physiologic and pathologic functions of the NPP nucleotide phosphodiesterase family focusing on NPP1 in calcification. *Purinergic Signalling*, 2: 371-377
- Treating Obesity as a Disease. 2015. Texas, American Heart Association.
http://www.heart.org/HEARTORG/GettingHealthy/WeightManagement/Obesity/Treating-Obesity-as-a-Disease_UCM_459557_Article.jsp#.V1NuaPmqlOQ (5.1.2015)
- Turnbaugh P. J., Ley R. E., Mahowald M. A. Margini V., Mardis E. R., Gordon J. I. 2006. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature*, 444, 7122: 1027-1031

Turnbaugh P. J., Hamady M., Yatsunenko T., Cantarel B. L., Duncan A., Ley R. E., Sogin M. L., Roe B. A., Affourtit J. P., Egholm M., Henrissat B., Heath A. C., Knight R., Gordon J. I. 2009. A core gut microbiome in obese and lean twins. *Nature*, 457, 7228: 480-484

UniProt. 2002-2015. UniProt Consortium
<http://www.uniprot.org/> (1.7.2015)

Vimaleswaran K. S. in Loos J. R. 2010. Progress in the genetics of common obesity and type 2 diabetes. *Expert Reviews in Molecular Medicine*, 12: e7, doi:10.1017/S1462399410001389: 27 str.

Voight B. F., Kudaravalli S., Wen X., Pritchard J. K. 2006. A map of recent positive selection in the human genome. *PLoS Biology*, 4, 3, doi.10.1371/journal.pbio.0040072: 14 str.

Wagener A., Schmitt A. O., Aksu S., Schlote W., Neuschl C., Brockmann G. A. 2006. Genetic, sex, and diet effects on body weight and obesity in the berlin fat mouse inbred lines. *Physiological Genomics*, 27: 264-270

Warde-Farley D., Donaldson S. L., Comes O., Zuberi K., Badrawi R., Chao P., Franz M., Grouios C., Kazi F., Tannus Lopes C., Maitland A., Mostafavi S. 2010. The GeneMANIA prediction server: biological network integration for gene prioritization and predicting gene function. *Nucleic Acids Research*, 38, doi:10.1093/nar/gkq537: 7 sre.

Walley A. J., Blakemore A. I. F., Froguel P. 2006. Genetics of obesity and the prediction of risk for health. *Human Molecular Genetics*, 15, 2

Wang F., Deeney J. T., Denis G. V. 2013. *Brd2* gene disruption causes »metabolically healthy« obesity: epigenetic and chromatin-based mechanisms that uncouple obesity from type 2 diabetes. *Vitamines and Hormones*, 2013, 91: 49-75

Wierup N., Richards W. G., Bannon A. W., Kuhar M. J., Ahrén B., Sundler F. 2005. CART knock out mice have impaired insulin secretion and glucose intolerance, altered beta cell morphology and increased body weight. *Regulatory Peptides*, 129, 1-3: 203-2011

Wozniak S. E., Gee L. L. Wachtel M. S., Freeza E. E. 2009. Adipose tissue: the new endocrine organ? *Digestive Diseases and Sciences*, 54, 9: 1847-1856

Yamanaka M., Itakura Y., Inoue T., Tsuchida A., Nakagawa T., Noguchi H., Taiji M. 2006. Protective effect of brain-derived neutrophic factor on pancreatic islets in obese diabetic mice. *Metabolism*, 55, 10: 1286-1292

Yamashita-Sugahara Y., Tokuzawa Y., Nakachi Y., Kanesaki-Yatsuka Y., Matsumoto M., Mizuno Y., Okazaki Y. 2012. *Fam57b* (family with sequence similarity 57, member b), a novel peroxisome proliferator-activated receptor γ target gene that regulates adipogenesis through ceramide synthesis. *The Journal of Biological Chemistry*, 288, 7: 4522-4537

Yan R., Liu X., Bai J., Yu J., Gu J. 2012. Influence of catgut implantation at acupoints on leptin and insulin resistance in simple obesity rats. *Journal of Traditional Chinese Medicine*, 32, 3: 477-481

Zhang Y., Proenca R., Maffei M., Barone M., Leopold L., Friedman J. M. 1994. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature*, 1, 372(6505): 425-432

Zou Z., DiRusso C. C., Ctrnacta V., Black P. N. 2002. Fatty acid transport in *Saccharomyces cerevisiae*. Directed mutagenesis of FAT1 distinguishes the biochemical activities associated with Fat1p. *The Journal of Biological Chemistry*, 277, 34: 31062-31071

ZAHVALA

Zahvaljujem se prof. dr. Urošu Petroviču, ki me je kot mentor med izdelavo magistrskega dela spremjal in usmerjal ter priskočil na pomoč, ko sem jo potrebovala.

Zahvaljujem se somentorju prof. dr. Simonu Horvatu za sodelovanje pri izdelavi magistrskega dela.

Zahvaljujem se recenzentki prof. dr. Tanji Kunej za strokovni pregled magistrskega dela.

Zahvaljujem se prijateljicam Kaji, Mojci, Katji, Tjaški, katerih zapisan vrstni red ne odraža moje mere hvaležnosti. Drage prijateljice, zahvaljujem se vam za vso podporo, ki ste mi jo izkazale, ko mi je bilo najtežje. In hvala vam, ker ste se veselile z menoj, ko sem težave tudi prebrodila.

Zahvaljujem se tudi sestričnama Nini in Romani. Hvala, ker mi vedno stojita ob strani in mi vedno brez odlašanj pomagata.

Zahvaljujem se sošolcem, s katerimi sem delila težave in dileme ter mnenja pri izdelavi magistrskega dela.

Zahvaljujem se prijatelju Simonu.

Zahvaljujem se fantu Gregu, ki mi vedno стоји ob strani in me vedno znova nasmeje.

Zahvaljujem se svoji družini, mami Lidiji, očetu Toniju in bratu Blažu. Hvala vam za vse, kar ste kadar koli storili zame. Teh stvari je toliko, da jih ne morem stlačiti na list papirja, sicer pa, saj sami veste - rada vas imam!

Zahvaljujem se tudi babici in dedku, čeprav nista vedela točno kaj počnem, sta me vedno vzpodbjala in mi stala ob strani.

Zahvaljujem se tudi vsem ostalim, ki ste mi kakor koli pomagali in ste ostali neimenovani.

PRILOGA A

Triinpetdeset genov, s katerimi smo posodobili podatkovno zbirkovo, ki so vpletene v razvoj debelosti pri človeku, podgani in miši. Prikaz simbola gena, imena oziroma funkcije, pripadajočega organizma in lokacije na kromosomu (Akubuiro A. in sod., 2013, Cullberg in sod., 2013, Ding in sod., 2012, Ehrlund in sod., 2013, Fonseca in sod., 2013, He in sod., 2013, Heiker in sod., 2013, Hsieh in sod., 2013, Jang in sod., 2012, Jetten in sod., 2013, Kang in sod., 2013, Keuper in sod., 2013, Kimple in sod., 2013, Lee in sod., 2013, Lu in sod., 2014, Manikkam in sod., 2013, Mikkonen in sod., 2013, Moreno-Navarrete in sod., 2012, Okuno in sod., 2013, Pavlovič in sod., 2013, Sakamuri in sod., 2012, Sampath in sod., 2012, Shan in sod., 2013, Sun in sod., 2012, Tao in sod., 2013, Wang in sod., 2013, Yamashita-Sugahara in sod., 2012, Yan in sod., 2012).

Simbol	Ime	Organizem	Lokacija na kromosomu
AARS	alanyl-tRNA synthetase	Miš	3: 132,660,498-132,683,879
ACACB	acetyl-CoA carboxylase beta	Podgana	12: 49,914,427-50,000,977
ACOX1	acyl-Coenzyme A oxidase 1, palmitoyl	Miš	11: 116,171,888-116,199,045
AIMP2	complex-interacting multifunctional protein 2	Miš	5: 143,902,704-143,909,847
AIMP3	complex-interacting multifunctional protein 3	Miš	
ANGPT1	angiopoietin 1	Človek	8: 108,261,721-108,510,283
ATF3	activating transcription factor 3	Podgana	13: 114,411,695-114,443,438
BAI1	brain-specific angiogenesis inhibitor 1	Človek	8: 143,530,791-143,626,370
BDKRB1	bradykinin receptor, beta 1	Miš	12: 105,603,085-105,605,428
BRD2	bromodomain containing 2	Miš	17: 34,112,023-34,122,634
CASP8	apoptosis-related cysteine peptidase	Človek	2: 202,098,166-202,152,434
CRBN	cereblon	Miš	6: 106,778,249-106,800,074
DPYSL2	dihydropyrimidinase-like 2	Podgana	15: 48,053,084-48,120,298
DRD1A	dopamine receptor D1A	Miš	13: 54,051,186-54,055,658
DRD2	dopamine receptor 2	Miš	9: 49,340,662-49,407,214
ENOPH1	enolase-phosphatase 1	Podgana	14: 11,116,183-11,142,029

FAM57B	family with sequence similarity 57, member B	Miš	7: 126,816,885-126,830,219
FINDC5	fibronectin type III domain containing 5	Miš	4: 129,136,999-129,144,593
FRZB	frizzled related protein	Človek	2: 183,698,002-183,731,890
GDNF	glial derived neurotrophic factor	Podgana	2: 76,897,561-76,919,745
GPAT	glycerol-3-phosphate-acyltransferase	Podgana	
GPX2	glutathione peroxidase 2	Miš	12: 76,792,335-76,795,554
HSD11B1	11β-hydroxysteroid dehydrogenases	Podgana	13: 116,482,032-116,528,373
HTR2C	serotonin 2C receptor	Miš	X: 146,962,513-147,197,277
LARS	leucyl-tRNA synthetase	Miš	18: 42,202,350-42,262,122
LEPR	leptin receptor	Podgana	5: 124,455,058-124,556,525
LPL	lipoprotein lipase	Miš	8: 68,880,491-68,907,448
LXRα	liver X receptor alpha	Miš	
LXRβ	liver X receptor beta	Miš	
MKKS	McKusick-Kaufman syndrome	Človek	20: 10,381,657-10,414,870
MTOR	mechanistic target of rapamycin (serine/threonine kinase)	Miš	4: 148,448,611-148,557,683
NCAM2	neural cell adhesion molecule 2	Podgana	11: 24,122,738-24,352,502
NR1I2	nuclear receptor subfamily 1, group I, member 2	Miš	16: 38,248,323-38,294,824
NTF3	neurotrophin 3	Podgana	4: 225,638,802-225,707,718
OGG1	8-oxoguanine DNA glycosylase 1	Miš	6: 113,326,972-113,335,068
PCYT2	phosphoethanolamine cytidylyltransferase, ethanolamine	Miš	11: 120,610,087-120,617,936
PHF2	PHD finger protein 2	Miš	13: 48,801,750-48,870,885
PITX3	paired-like homeodomain 3	Podgana	1: 273,317,589-273,330,317
PTGES	prostaglandin E synthase	Miš	2: 30,889,471-30,929,863

PTGES2	prostaglandin E synthase 2	Miš	2: 32,395,896-32,402,739
PTGES3	prostaglandin E synthase 3 citosolic	Miš	10: 128,058,954-128,077,272
RB1	retinoblastoma	Človek	13: 48,877,887-49,056,122
REPIN1	replication initiator 1	Človek	7: 150,065,278-150,071,133
RORC	RAR-related orphan receptor gamma	Miš	3: 94,372,794-94,398,276
SCD1	stearoyl-CoA desaturase-1	Podgana	1: 271,602,887-271,615,702
SCD14	soluble cluster of differentiation 14	Miš	
SFRP2	secreted frizzled-related protein 2	Človek	4: 154,701,744-154,710,272
SFRP4	secreted frizzled-related protein 4	Človek	7: 37,945,543-38,065,297
SNAP23	synaptosomal-associated protein of 23 kDa	Človek	15: 42,783,431-42,837,547
SUMO1	SMT3 suppressor of mif two 3 homolog 1 (yeast)	Miš	1: 59,639,434-59,670,834
TNFSF10	tumor necrosis factor (ligand) superfamily, member 10	Človek	3: 172,223,298-172,241,297
TNFSF10B	tumor necrosis factor receptor superfamily, member 10b	Človek	8: 22,877,646-22,926,692
VAMP4	vesicle-associated membrane protein 4	Človek	1: 171,669,300-171,711,387

PRILOGA B

Rezultat iskanja ortolognih genov med človekom in kvasovko z orodjem Ensembl. Slika prikazuje dva možna ortologa kvasovke (*ARE1* in *ARE2*) za človeški gen *DGAT1*.

Birds and Reptiles

	Fish	0	0	0	0
Share this page	Ray-finned fishes				
Download view as CSV	All	0	0	2	10
All species, including invertebrates					

Selected orthologues

Species	Type	dN/dS	Ensembl identifier & gene name	Compare	Location	Target %id	Query %id
Saccharomyces cerevisiae (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>)	Many-to-many	n/a	YCR048W ARE1 Acyl-CoA:sterol acyltransferase, isozyme of Are2p; endoplasmic reticulum enzyme that contributes the major sterol esterification activity in the absence of oxygen [Source: SGD; acc: S000000644]	<ul style="list-style-type: none">Region ComparisonAlignment (protein)Alignment (cDNA)Gene Tree (image)	III:211929-213761.1	15	19
Saccharomyces cerevisiae (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>)	Many-to-many	n/a	YNR019W ARE2 Acyl-CoA:sterol acyltransferase, isozyme of Are1p; endoplasmic reticulum enzyme that contributes the major sterol esterification activity in the presence of oxygen [Source: SGD; acc: S0000005302]	<ul style="list-style-type: none">Region ComparisonAlignment (protein)Alignment (cDNA)Gene Tree (image)	XIV:665339-667267.1	14	17

Orthologues hidden by configuration

67 orthologues not shown in the table above from the following species. Use the "Configure this page" on the left to show them.

- Ailuropoda_melanoleuca (1)

PRILOGA C

Simbol, opis in lokacija na kromosomu genov, ki sodelujejo pri razvoju debelosti in so skupni človeku, miši in podgani, ter njihovi kvasni ortologi.

H. sapiens, M. musculus, R. norvegicus			S. cerevisiae		
Simbol	Opis	Lokacija na kromosomu	Simbol	Opis	Lokacija na kromosomu
ABCG8	ATP-binding cassette, sub-family G (WHITE), member 8	Chromosome 2: 44,066,103-44,105,605	ADP1	Putative ATP-dependent permease of the ABC transporter family of proteins	Chromosome III: 133,724-136,873
ACP1	acid phosphatase 1, soluble	Chromosome 2: 264,140-278,283	LTP1	Protein phosphotyrosine phosphatase of unknown cellular role; activated by adenine	Chromosome XVI: 691,933-692,418
ADA	adenosine deaminase	Chromosome 20: 43,248,163-43,280,874	AAH1	Adenine deaminase (adenine aminohydrolase), converts adenine to hypoxanthine; involved in purine salvage; transcriptionally regulated by nutrient levels and growth phase; Aah1p degraded upon entry into quiescence via SCF and the proteasome	Chromosome XIV: 359,596-360,639
ADIPOR1	adiponectin receptor 1	Chromosome 1: 202,909,951-202,927,700	IZH1	Membrane protein involved in zinc ion homeostasis, member of the four-protein IZH family; transcription is regulated directly by Zap1p, expression induced by zinc deficiency and fatty acids; deletion increases sensitivity to elevated zinc	Chromosome IV: 1,434,924-1,435,874
			IZH2	Plasma membrane protein involved in zinc homeostasis and osmotin-induced apoptosis; transcription regulated by Zap1p, zinc and fatty acid levels; similar to mammalian adiponectins; deletion increases sensitivity to elevated zinc	Chromosome XV: 323,411-324,364
ADIPOR2	adiponectin receptor 2	Chromosome 12: 1,797,740-1,897,844	IZH1	Membrane protein involved in zinc ion homeostasis, member of the four-protein IZH family; transcription is regulated directly by Zap1p, expression induced by zinc deficiency and fatty acids; deletion increases sensitivity to elevated zinc	Chromosome IV: 1,434,924-1,435,874

			IZH2	Plasma membrane protein involved in zinc homeostasis and osmotin-induced apoptosis; transcription regulated by Zap1p, zinc and fatty acid levels; similar to mammalian adiponectins; deletion increases sensitivity to elevated zinc	Chromosome XV: 323,411-324,364
AKR1 C1	aldo-keto reductase family 1, member C1	Chromosome 10: 4,934,796-5,025,475	YPR1	NADPH-dependent aldo-keto reductase, reduces multiple substrates including 2-methylbutyraldehyde and D,L-glyceraldehyde, expression is induced by osmotic and oxidative stress; functionally redundant with other aldo-keto reductases	Chromosome IV: 1,213,904-1,214,842
			GCY1	Putative NADP(+) coupled glycerol dehydrogenase, proposed to be involved in an alternative pathway for glycerol catabolism; also has mRNA binding activity; member of the aldo-keto reductase (AKR) family	Chromosome 10: 5,029,967-5,060,223
AKR1 C6	aldo-keto reductase family 1, member C6	Chromosome 13: 4,434,306-4,457,530	YPR1	NADPH-dependent aldo-keto reductase, reduces multiple substrates including 2-methylbutyraldehyde and D,L-glyceraldehyde, expression is induced by osmotic and oxidative stress; functionally redundant with other aldo-keto reductases	Chromosome IV: 1,213,904-1,214,842
			GCY1	Putative NADP(+) coupled glycerol dehydrogenase, proposed to be involved in an alternative pathway for glycerol catabolism; also has mRNA binding activity; member of the aldo-keto reductase (AKR) family	Chromosome XV: 551,114-552,052
AQP7	aquaporin 7	Chromosome 9: 33,384,765-33,402,643	YFL054C	Putative channel-like protein; similar to Fps1p; mediates passive diffusion of glycerol in the presence of ethanol	Chromosome VI: 20,847-22,787
ATP1 A2	ATPase, Na+/K+ transporting, alpha 2 polypeptide	Chromosome 1: 160,085,549-160,113,381	ENA5	Protein with similarity to P-type ATPase sodium pumps, member of the Na+ efflux ATPase family	Chromosome IV: 527,422-530,697

			ENA2	P-type ATPase sodium pump, involved in Na+ efflux to allow salt tolerance; likely not involved in Li+ efflux	Chromosome IV: 531,307-534,582
			ENA1	P-type ATPase sodium pump, involved in Na+ and Li+ efflux to allow salt tolerance	Chromosome IV: 535,192-538,467
CPS1	carbamoyl-phosphate synthase 1, mitochondrial	Chromosome 2: 211,342,406-211,543,831	CPA2	Large subunit of carbamoyl phosphate synthetase, which catalyzes a step in the synthesis of citrulline, an arginine precursor	Chromosome X: 629,585-632,941
DGAT 1	diacylglycerol O-acyltransferase 1	Chromosome 8: 145,539,954-145,550,573	ARE1	Acyl-CoA:sterol acyltransferase, isozyme of Are2p; endoplasmic reticulum enzyme that contributes the major sterol esterification activity in the absence of oxygen	Chromosome III: 211,929-213,761
			ARE2	Acyl-CoA:sterol acyltransferase, isozyme of Are1p; endoplasmic reticulum enzyme that contributes the major sterol esterification activity in the presence of oxygen	Chromosome XIV: 665,339-667,267
ENPP1	ectonucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase 1	Chromosome 6: 132,129,156-132,216,295	NPP1	Nucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase family member; mediates extracellular nucleotide phosphate hydrolysis along with Npp2p and Pho5p; activity and expression enhanced during conditions of phosphate starvation	Chromosome III: 164,111-166,339
			NPP2	Nucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase family member; mediates extracellular nucleotide phosphate hydrolysis along with Npp1p and Pho5p; activity and expression enhanced during conditions of phosphate starvation	Chromosome V: 124,737-126,218
FAAH	fatty acid amide hydrolase	Chromosome 1: 46,859,937-46,879,520	AMD2	Putative amidase	Chromosome IV: 946,807-948,456

GFPT1	glutamine--fructose-6-phosphate transaminase 1	Chromosome 2: 69,546,905-69,614,382	GFA1	Glutamine-fructose-6-phosphate amidotransferase, catalyzes the formation of glucosamine-6-P and glutamate from fructose-6-P and glutamine in the first step of chitin biosynthesis	Chromosome XI: 243,220-245,373
GLUL	glutamate-ammonia ligase	Chromosome 1: 182,350,839-182,361,341	GLN1	Glutamine synthetase (GS), synthesizes glutamine from glutamate and ammonia; with Glt1p, forms the secondary pathway for glutamate biosynthesis from ammonia; expression regulated by nitrogen source and by amino acid limitation	Chromosome XVI: 642,208-643,320
HK2	hexokinase 2	Chromosome 2: 75,061,108-75,120,486	GLK1	Glucokinase, catalyzes the phosphorylation of glucose at C6 in the first irreversible step of glucose metabolism; one of three glucose phosphorylating enzymes; expression regulated by non-fermentable carbon sources	Chromosome III: 50,838-52,340
			EMI2	Non-essential protein of unknown function required for transcriptional induction of the early meiotic-specific transcription factor IME1; required for sporulation; expression is regulated by glucose-repression transcription factors Mig1/2p	Chromosome IV: 1,474,974-1,476,476
			HXK1	Hexokinase isoenzyme 1, a cytosolic protein that catalyzes phosphorylation of glucose during glucose metabolism; expression is highest during growth on non-glucose carbon sources; glucose-induced repression involves the hexokinase Hxk2p	Chromosome VI: 253,592-255,049
			HXK2	Hexokinase isoenzyme 2 that catalyzes phosphorylation of glucose in the cytosol; predominant hexokinase during growth on glucose; functions in the nucleus to repress expression of HXK1 and GLK1 and to induce expression of its own gene	Chromosome VII: 23,935-25,395

IDH1	isocitrate dehydrogenase 1 (NADP+), soluble	Chromosome 2: 209,100,951-209,130,798	IDP2	Cytosolic isocitrate dehydrogenase, catalyzes oxidation of isocitrate to alpha-ketoglutarate; levels are elevated during growth on non-fermentable carbon sources and reduced during growth on glucose	Chromosome XII: 504,591-505,829
LPIN1	lipin 1	Chromosome 2: 11,817,721-11,967,535	PAH1	Mg ²⁺ -dependent phosphatidate (PA) phosphatase, catalyzes the dephosphorylation of PA to yield diacylglycerol, responsible for de novo lipid synthesis and formation of lipid droplets; homologous to mammalian lipin 1	Chromosome XIII: 590,040-592,628
NOS1	nitric oxide synthase 1 (neuronal)	Chromosome 12: 117,645,947-117,889,975	TAH18	Conserved NAPDH-dependent flavin reductase, component of an early step in the cytosolic Fe-S protein assembly (CIA) machinery; transfers electrons from NADPH to the Fe-S cluster of Dre2p; plays a pro-death role under oxidative stress	Chromosome XVI: 659,182-661,053
NOS3	nitric oxide synthase 3 (endothelial cell)	Chromosome 7: 150,688,083-150,711,676	TAH18	Conserved NAPDH-dependent flavin reductase, component of an early step in the cytosolic Fe-S protein assembly (CIA) machinery; transfers electrons from NADPH to the Fe-S cluster of Dre2p; plays a pro-death role under oxidative stress	Chromosome XVI: 659,182-661,053
PCSK1	proprotein convertase subtilisin/kexin type 1	Chromosome 5: 95,726,119-95,769,847	KEX2	Subtilisin-like protease (proprotein convertase), a calcium-dependent serine protease involved in the activation of proproteins of the secretory pathway	Chromosome XIV: 202,428-204,872
SLC27A1	solute carrier family 27 (fatty acid transporter), member 1	Chromosome 19: 17,579,578-17,616,977	FAT1	Very long chain fatty acyl-CoA synthetase and long chain fatty acid transporter; activates imported fatty acids with a preference for very long lengths (C20-C26); has a separate function in the transport of long chain fatty acids	Chromosome II: 318,266-320,275

SLC27 A4	solute carrier family 27 (fatty acid transporter), member 4	Chromosome 9: 131,102,925- 131,123,749	FAT1	Very long chain fatty acyl-CoA synthetase and long chain fatty acid transporter; activates imported fatty acids with a preference for very long lengths (C20-C26); has a separate function in the transport of long chain fatty acids	Chromosome II: 318,266- 320,275
SLC9 A3	solute carrier family 9, subfamily A (NHE3, cation proton antiporter 3), member 3	Chromosome 5: 473,425- 524,447	NHX1	Na+/H+ and K+/H+ exchanger, required for intracellular sequestration of Na+ and K+; located in the vacuole and late endosome compartments; required for osmotolerance to acute hypertonic shock and for vacuolar fusion	Chromosome IV: 1,367,485- 1,369,386
SQLE	squalene epoxidase	Chromosome 8: 126,010,739- 126,034,525	ERG1	Squalene epoxidase, catalyzes the epoxidation of squalene to 2,3-oxidosqualene; plays an essential role in the ergosterol-biosynthesis pathway and is the specific target of the antifungal drug terbinafine	Chromosome VII: 846,933- 848,423
STK11	serine/threonine kinase 11	Chromosome 19: 1,189,406- 1,228,428	SAK1	Upstream serine/threonine kinase for the SNF1 complex; partially redundant with Elm1p and Tos3p; members of this family have functional orthology with LKB1, a mammalian kinase associated with Peutz-Jeghers cancer-susceptibility syndrome	Chromosome V: 417,281- 420,709
			TOS3	Protein kinase, related to and functionally redundant with Elm1p and Sak1p for the phosphorylation and activation of Snf1p; functionally orthologous to LKB1, a mammalian kinase associated with Peutz-Jeghers cancer-susceptibility syndrome	Chromosome VII: 163,409- 165,091

PRILOGA D

Simbol, opis in lokacija na kromosomu genov, ki so vpleteni v metabolizem lipidov ter njihovi kvasni ortologi.

H. sapiens			S. cerevisiae		
Simbol	Opis	Lokacija na kromosому	Simbol	Opis	Lokacija na kromosому
AACS	acetoacetyl-CoA synthetase	Chromosome 12: 125,549,925-125,627,873	ACS1	Acetyl-coA synthetase isoform which, along with Acs2p, is the nuclear source of acetyl-coA for histone acetylation; expressed during growth on nonfermentable carbon sources and under aerobic conditions	Chromosome I: 42,881-45,022
ABCB4	ATP-binding cassette, sub-family B (MDR/TAP), member 4	Chromosome 7: 87,031,013-87,109,751	STE6	Plasma membrane ATP-binding cassette (ABC) transporter required for the export of a-factor, catalyzes ATP hydrolysis coupled to a-factor transport; contains 12 transmembrane domains and two ATP binding domains; expressed only in MATa cells	Chromosome XI: 42,423-46,295
ABHD11	abhydrolase domain containing 11	Chromosome 7: 73,150,424-73,153,197	IMO32	Conserved mitochondrial protein of unknown function; processed by both mitochondrial peptidase and mitochondrial octapeptidyl aminopeptidase; gene contains the nested antisense gene NAG1	Chromosome VII: 546,441-547,469
ABHD5	abhydrolase domain containing 5	Chromosome 3: 43,731,605-43,775,863	ECM18 ICT1	Protein of unknown function, similar to Rlp24p Lysophosphatidic acid acyltransferase, responsible for enhanced phospholipid synthesis during organic solvent stress; null displays increased sensitivity to Calcofluor white; highly expressed during organic solvent stress	Chromosome IV: 701,397-702,758 Chromosome XII: 339,744-340,928
ACACA	acetyl-CoA carboxylase alpha	Chromosome 17: 35,441,923-35,766,909	ACC1	Acetyl-CoA carboxylase, biotin containing enzyme that catalyzes the carboxylation of acetyl-CoA to form malonyl-CoA; required for de novo biosynthesis of long-chain fatty acids	Chromosome XIV: 654,673-661,374

ACAT2	acetyl-CoA acetyltransferase 2	Chromosome 6: 160,181,360-160,200,144	ERG10	Acetyl-CoA C-acetyltransferase (acetoacetyl-CoA thiolase), cytosolic enzyme that transfers an acetyl group from one acetyl-CoA molecule to another, forming acetoacetyl-CoA; involved in the first step in mevalonate biosynthesis	Chromosome XVI: 498,096-499,292
ACOX1	acyl-CoA oxidase 1, palmitoyl	Chromosome 17: 73,937,588-73,975,515	POX1	Fatty-acyl coenzyme A oxidase, involved in the fatty acid beta-oxidation pathway; localized to the peroxisomal matrix	Chromosome VII: 108,158-110,404
ACSL4	acyl-CoA synthetase long-chain family member 4	Chromosome X: 108,867,473-108,976,632	FAA3 FAA4 FAA1	Long chain fatty acyl-CoA synthetase, activates imported fatty acids; green fluorescent protein (GFP)-fusion protein localizes to the cell periphery Long chain fatty acyl-CoA synthetase, activates imported fatty acids with a preference for C12:0-C16:0 chain lengths; functions in long chain fatty acid import; important for survival during stationary phase; localized to lipid particles Long chain fatty acyl-CoA synthetase, activates imported fatty acids with a preference for C12:0-C16:0 chain lengths; functions in long chain fatty acid import; accounts for most acyl-CoA synthetase activity; localized to lipid particles	Chromosome IX: 339,344-341,428 Chromosome XIII: 759,807-761,891 Chromosome XV: 909,343-911,445
ALDH3B1	aldehyde dehydrogenase 3 family, member B1	Chromosome 11: 67,776,048-67,796,744	HFD1	Putative fatty aldehyde dehydrogenase, located in the mitochondrial outer membrane and also in lipid particles; has similarity to human fatty aldehyde dehydrogenase (FALDH) which is implicated in Sjogren-Larsson syndrome	Chromosome XIII: 490,394-491,992
ALDH3B2	aldehyde dehydrogenase 3 family, member B2	Chromosome 11: 67,429,633-67,448,671	HFD1	Putative fatty aldehyde dehydrogenase, located in the mitochondrial outer membrane and also in lipid particles; has similarity to human fatty aldehyde dehydrogenase (FALDH) which is implicated in Sjogren-Larsson syndrome	Chromosome XIII: 490,394-491,992

ATP5A1	ATP synthase, H+ transporting, mitochondrial F1 complex, alpha subunit 1, cardiac muscle	Chromosome 18: 43,664,110-43,684,300	ATP1	Alpha subunit of the F1 sector of mitochondrial F1F0 ATP synthase, which is a large, evolutionarily conserved enzyme complex required for ATP synthesis; phosphorylated	Chromosome II: 37,053-38,690
ATP5B	ATP synthase, H+ transporting, mitochondrial F1 complex, beta polypeptide	Chromosome 12: 57,031,959-57,039,798	ATP2	Beta subunit of the F1 sector of mitochondrial F1F0 ATP synthase, which is a large, evolutionarily conserved enzyme complex required for ATP synthesis; phosphorylated	Chromosome X: 647,607-649,142
CEPT1	choline/ethanolamine phosphotransferase 1	Chromosome 1: 111,682,249-111,727,724	EPT1 CPT1	sn-1,2-diacylglycerol ethanolamine- and cholinephosphotransferase; not essential for viability Cholinephosphotransferase, required for phosphatidylcholine biosynthesis and for inositol-dependent regulation of EPT1 transcription	Chromosome VIII: 354,815-356,081 Chromosome XIV: 379,558-380,831
CH25H	cholesterol 25-hydroxylase	Chromosome 10: 90,965,694-90,967,071	ERG25	C-4 methyl sterol oxidase, catalyzes the first of three steps required to remove two C-4 methyl groups from an intermediate in ergosterol biosynthesis; mutants accumulate the sterol intermediate 4,4-dimethylzymosterol	Chromosome VII: 610,564-611,493
CHKA	choline kinase alpha	Chromosome 11: 67,820,326-67,888,911	EKI1 CKI1	Ethanolamine kinase, primarily responsible for phosphatidylethanolamine synthesis via the CDP-ethanolamine pathway; exhibits some choline kinase activity, thus contributing to phosphatidylcholine synthesis via the CDP-choline pathway Choline kinase, catalyzing the first step in phosphatidylcholine synthesis via the CDP-choline (Kennedy pathway); exhibits some ethanolamine kinase activity contributing to phosphatidylethanolamine synthesis via the CDP-ethanolamine pathway	Chromosome IV: 751,631-753,235 Chromosome XII: 408,445-410,193

CHPT1	choline phosphotransferase 1	Chromosome 12: 102,090,725- 102,137,918	EPT1 CPT1	sn-1,2-diacylglycerol ethanolamine- and cholinephosphotransferase; not essential for viability Cholinephosphotransferase, required for phosphatidylcholine biosynthesis and for inositol-dependent regulation of EPT1 transcription	Chromosome VIII: 354,815- 356,081 Chromosome XIV: 379,558- 380,831
ENPP6	ectonucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase 6	Chromosome 4: 185,009,859- 185,142,383	NPP1 NPP2	Nucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase family member; mediates extracellular nucleotide phosphate hydrolysis along with Npp2p and Pho5p; activity and expression enhanced during conditions of phosphate starvation Nucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase family member; mediates extracellular nucleotide phosphate hydrolysis along with Npp1p and Pho5p; activity and expression enhanced during conditions of phosphate starvation	Chromosome III: 164,111- 166,339 Chromosome V: 124,737- 126,218
G6PD	glucose-6-phosphate dehydrogenase	Chromosome X: 153,759,606- 153,775,787	ZWF1	Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD), catalyzes the first step of the pentose phosphate pathway; involved in adapting to oxidative stress; homolog of the human G6PD which is deficient in patients with hemolytic anemia	Chromosome XIV: 196,426- 197,943
GPCPD1	glycerophosphocholine phosphodiesterase GDE1 homolog	Chromosome 20: 5,525,085- 5,591,672	GDE1	Glycerophosphocholine (GroPCho) phosphodiesterase; hydrolyzes GroPCho to choline and glycerolphosphate, for use as a phosphate source and as a precursor for phosphocholine synthesis; may interact with ribosomes	Chromosome XVI: 341,068- 344,739
HACL1	2-hydroxyacyl-CoA lyase 1	Chromosome 3: 15,602,211- 15,643,338	YEL020C	Hypothetical protein with low sequence identity to Pdc1p	Chromosome V: 118,617- 120,299
HMGCS1	3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA synthase 1 (soluble)	Chromosome 5: 43,289,497- 43,313,614	ERG13	3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA (HMG-CoA) synthase, catalyzes the formation of HMG-CoA from acetyl-CoA and acetoacetyl-CoA; involved in the second step in mevalonate biosynthesis	Chromosome XIII: 19,060- 20,535

IAH1	isoamyl acetate-hydrolyzing esterase 1 homolog (<i>S. cerevisiae</i>)	Chromosome 2: 9,613,787-9,636,672	IAH1	Isoamyl acetate-hydrolyzing esterase, required in balance with alcohol acetyltransferase to maintain optimal amounts of isoamyl acetate, which is particularly important in sake brewing	Chromosome XV: 559,961-560,677
LIPA	lipase A, lysosomal acid, cholesterol esterase	Chromosome 10: 90,973,326-91,174,314	TGL1	Steryl ester hydrolase, one of three gene products (Yeh1p, Yeh2p, Tgl1p) responsible for sterol ester hydrolase activity and involved in sterol homeostasis; localized to lipid particle membranes	Chromosome XI: 180,779-182,425
LIPF	lipase, gastric	Chromosome 10: 90,424,198-90,438,571	TGL1	Steryl ester hydrolase, one of three gene products (Yeh1p, Yeh2p, Tgl1p) responsible for sterol ester hydrolase activity and involved in sterol homeostasis; localized to lipid particle membranes	Chromosome XI: 180,779-182,425
LIPJ	lipase, family member J	Chromosome 10: 90,346,510-90,366,733	TGL1	Steryl ester hydrolase, one of three gene products (Yeh1p, Yeh2p, Tgl1p) responsible for sterol ester hydrolase activity and involved in sterol homeostasis; localized to lipid particle membranes	Chromosome XI: 180,779-182,425
LIPK	lipase, family member K	Chromosome 10: 90,484,301-90,512,543	TGL1	Steryl ester hydrolase, one of three gene products (Yeh1p, Yeh2p, Tgl1p) responsible for sterol ester hydrolase activity and involved in sterol homeostasis; localized to lipid particle membranes	Chromosome XI: 180,779-182,425
LIPM	lipase, family member M	Chromosome 10: 90,562,487-90,580,303	TGL1	Steryl ester hydrolase, one of three gene products (Yeh1p, Yeh2p, Tgl1p) responsible for sterol ester hydrolase activity and involved in sterol homeostasis; localized to lipid particle membranes	Chromosome XI: 180,779-182,425
LIPN	lipase, family member N	Chromosome 10: 90,521,163-90,537,999	TGL1	Steryl ester hydrolase, one of three gene products (Yeh1p, Yeh2p, Tgl1p) responsible for sterol ester hydrolase activity and involved in sterol homeostasis; localized to lipid particle membranes	Chromosome XI: 180,779-182,425
LIPT1	lipoyltransferase 1	Chromosome 2: 99,771,418-99,779,620	AIM22	Putative lipoylate-protein ligase, required along with Lip2 and Lip5 for lipoylation of Lat1p and Kgd2p; similar to <i>E. coli</i> LplA; null mutant displays reduced frequency of mitochondrial genome loss	Chromosome X: 352,386-353,615

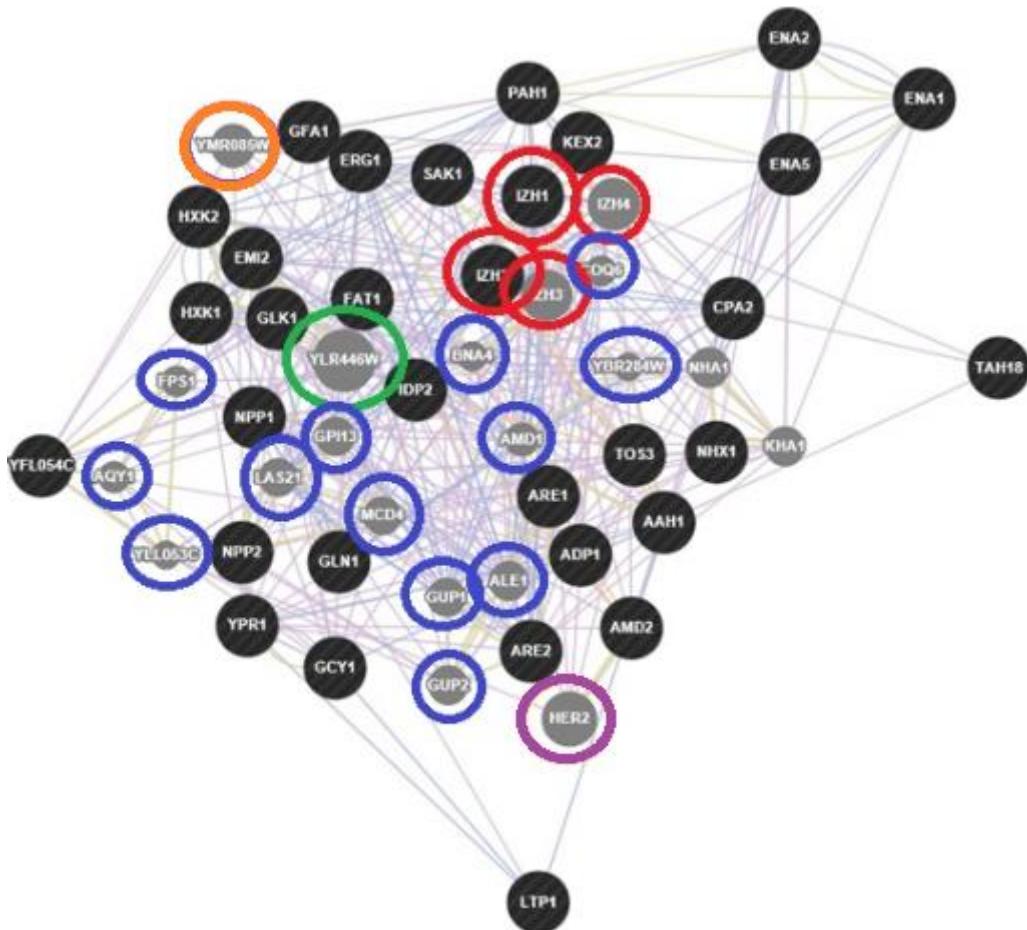
LPIN1	lipin 1	Chromosome 2: 11,817,721-11,967,535	PAH1	Mg ^{>2+} -dependent phosphatidate (PA) phosphatase, catalyzes the dephosphorylation of PA to yield diacylglycerol, responsible for de novo lipid synthesis and formation of lipid droplets; homologous to mammalian lipin 1	Chromosome XIII: 590,040-592,628
LPIN2	lipin 2	Chromosome 18: 2,916,992-3,013,313	PAH1	Mg ^{>2+} -dependent phosphatidate (PA) phosphatase, catalyzes the dephosphorylation of PA to yield diacylglycerol, responsible for de novo lipid synthesis and formation of lipid droplets; homologous to mammalian lipin 1	Chromosome XIII: 590,040-592,628
MGLL	monoglyceride lipase	Chromosome 3: 127,407,909-127,542,051	YJU3	Monoglyceride lipase (MGL), functional ortholog of mammalian MGL, localizes to lipid particles and membranes, also member of the eukaryotic serine hydrolase family	Chromosome XI: 263,349-264,290
MOGAT2	monoacylglycerol O-acyltransferase 2	Chromosome 11: 75,428,864-75,444,003	DGA1	Diacylglycerol acyltransferase, catalyzes the terminal step of triacylglycerol (TAG) formation, acylates diacylglycerol using acyl-CoA as an acyl donor, localized to lipid particles	Chromosome XV: 794,076-795,332
OMA1	OMA1 zinc metallopeptidase	Chromosome 1: 58,881,056-59,012,474	OMA1	Metalloendopeptidase of the mitochondrial inner membrane, involved in turnover of membrane-embedded proteins; member of a family of predicted membrane-bound metallopeptidases in prokaryotes and higher eukaryotes	Chromosome XI: 603,195-604,232
PC	pyruvate carboxylase	Chromosome 11: 66,615,704-66,725,847	PYC2	Pyruvate carboxylase isoform, cytoplasmic enzyme that converts pyruvate to oxaloacetate; highly similar to isoform Pyc1p but differentially regulated; mutations in the human homolog are associated with lactic acidosis	Chromosome II: 658,707-662,249
PEMT	phosphatidyl ethanolamine N-methyltransferase	Chromosome 17: 17,408,877-17,495,022	OPI3	Phospholipid methyltransferase (methylene-fatty-acyl-phospholipid synthase), catalyzes the last two steps in phosphatidylcholine biosynthesis	Chromosome X: 572,315-572,935

PLCE1	phospholipase C, epsilon 1	Chromosome 10: 95,753,746-96,092,580	PLC1	Phospholipase C, hydrolyzes phosphatidylinositol 4,5-biphosphate (PIP2) to generate the signaling molecules inositol 1,4,5-triphosphate (IP3) and 1,2-diacylglycerol (DAG); involved in regulating many cellular processes	Chromosome XVI: 35,236-37,845
PLCG1	phospholipase C, gamma 1	Chromosome 20: 39,765,600-39,811,629	PLC1	Phospholipase C, hydrolyzes phosphatidylinositol 4,5-biphosphate (PIP2) to generate the signaling molecules inositol 1,4,5-triphosphate (IP3) and 1,2-diacylglycerol (DAG); involved in regulating many cellular processes	Chromosome XVI: 35,236-37,845
PLCG2	phospholipase C, gamma 2 (phosphatidylinositol-specific)	Chromosome 16: 81,772,702-81,991,899	PLC1	Phospholipase C, hydrolyzes phosphatidylinositol 4,5-biphosphate (PIP2) to generate the signaling molecules inositol 1,4,5-triphosphate (IP3) and 1,2-diacylglycerol (DAG); involved in regulating many cellular processes	Chromosome XVI: 35,236-37,845
PNPLA6	patatin-like phospholipase domain containing 6	Chromosome 19: 7,598,890-7,626,650	NTE1	Serine esterase, homolog of human neuropathy target esterase (NTE); Nte1p-mediated phosphatidylcholine turnover influences transcription factor Opi1p localization, affecting transcriptional regulation of phospholipid biosynthesis genes	Chromosome XIII: 153,219-158,258
PNPLA7	patatin-like phospholipase domain containing 7	Chromosome 9: 140,354,404-140,444,986	NTE1	Serine esterase, homolog of human neuropathy target esterase (NTE); Nte1p-mediated phosphatidylcholine turnover influences transcription factor Opi1p localization, affecting transcriptional regulation of phospholipid biosynthesis genes	Chromosome XIII: 153,219-158,258
SC5D	sterol-C5-desaturase	Chromosome 11: 121,163,162-121,179,403	ERG3	C-5 sterol desaturase, catalyzes the introduction of a C-5(6) double bond into episterol, a precursor in ergosterol biosynthesis; mutants are viable, but cannot grow on non-fermentable carbon sources	Chromosome XII: 253,861-254,958
SCD	stearoyl-CoA desaturase (delta-9-desaturase)	Chromosome 10: 102,106,881-102,124,591	OLE1	Delta(9) fatty acid desaturase, required for monounsaturated fatty acid synthesis and for normal distribution of mitochondria	Chromosome VII: 398,628-400,160

SCD5	stearoyl-CoA desaturase 5	Chromosome 4: 83,550,692-83,720,010	OLE1	Delta(9) fatty acid desaturase, required for monounsaturated fatty acid synthesis and for normal distribution of mitochondria	Chromosome VII: 398,628-400,160
SLC27A4	solute carrier family 27 (fatty acid transporter), member 4	Chromosome 9: 131,102,925-131,123,749	FAT1	Very long chain fatty acyl-CoA synthetase and long chain fatty acid transporter; activates imported fatty acids with a preference for very long lengths (C20-C26); has a separate function in the transport of long chain fatty acids	Chromosome II: 318,266-320,275
TECR	trans-2,3-enoyl-CoA reductase	Chromosome 19: 14,627,897-14,676,792	TSC13	Enoyl reductase that catalyzes the last step in each cycle of very long chain fatty acid elongation, localizes to the ER, highly enriched in a structure marking nuclear-vacuolar junctions, coimmunoprecipitates with elongases Fen1p and Sur4p	Chromosome IV: 426,002-426,934
TECRL	trans-2,3-enoyl-CoA reductase-like	Chromosome 4: 65,140,975-65,275,186	TSC13	Enoyl reductase that catalyzes the last step in each cycle of very long chain fatty acid elongation, localizes to the ER, highly enriched in a structure marking nuclear-vacuolar junctions, coimmunoprecipitates with elongases Fen1p and Sur4p	Chromosome IV: 426,002-426,934

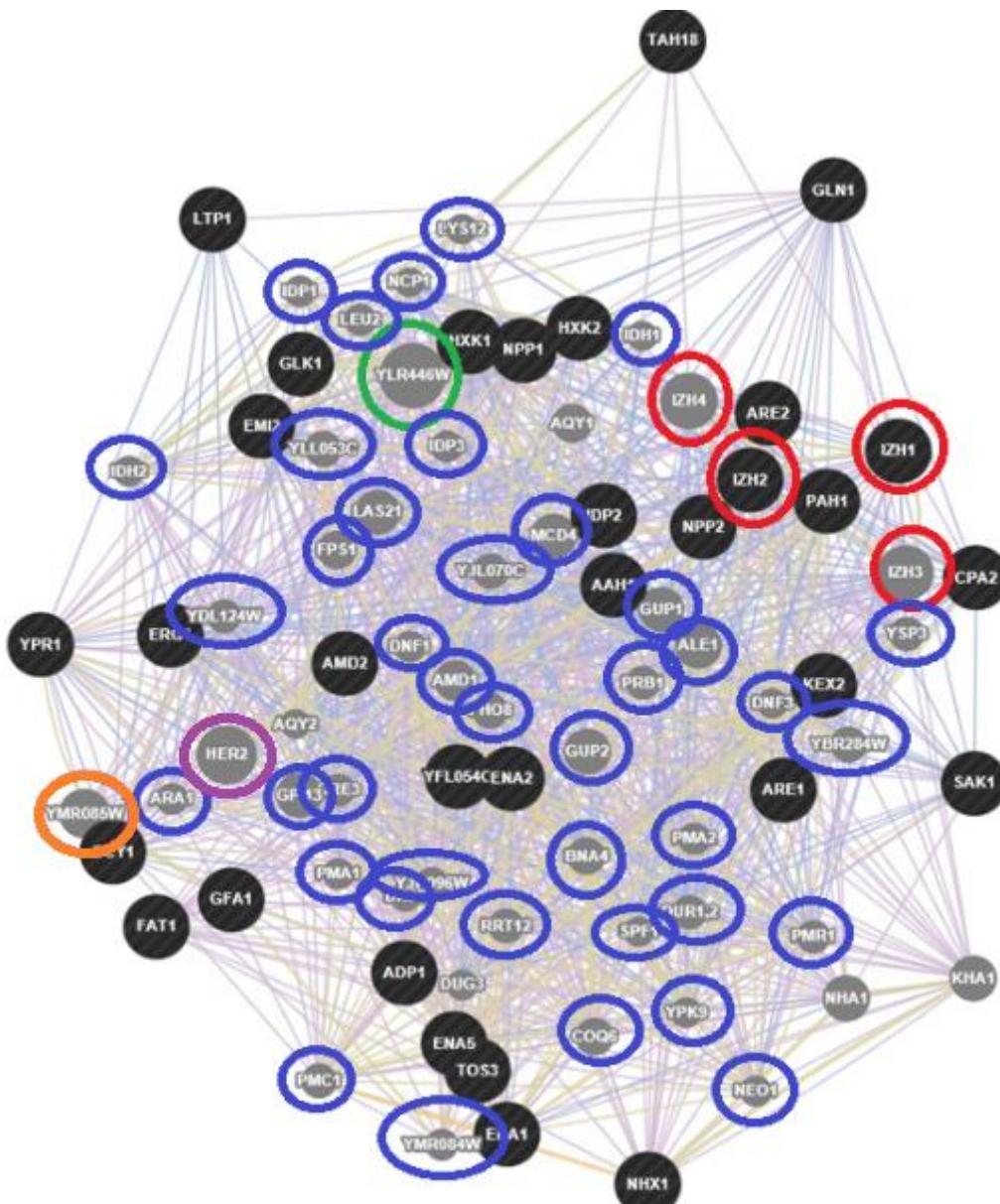
PRILOGA E

Interakcijska mreža genov kvasovke, ki so vpleteni v razvoj debelosti in imajo ortologne gene pri človeku, miši in podgani in dvajset dodanih genov. Obkroženi so vsi geni, ki imajo homologne gene pri človeku, miši in podgani. Z zeleno barvo je označen ortolog genov *HKDC1* in *Hkl*, z rdečo ortologi gena *ADIPOR2*, z oranžno barvo je obkrožen ortolog gena *GFPT2*, z vijolično pa ortolog gena *QRS1*. Omenjeni geni in njihovi ortologi so podrobneje opisani v besedilu.



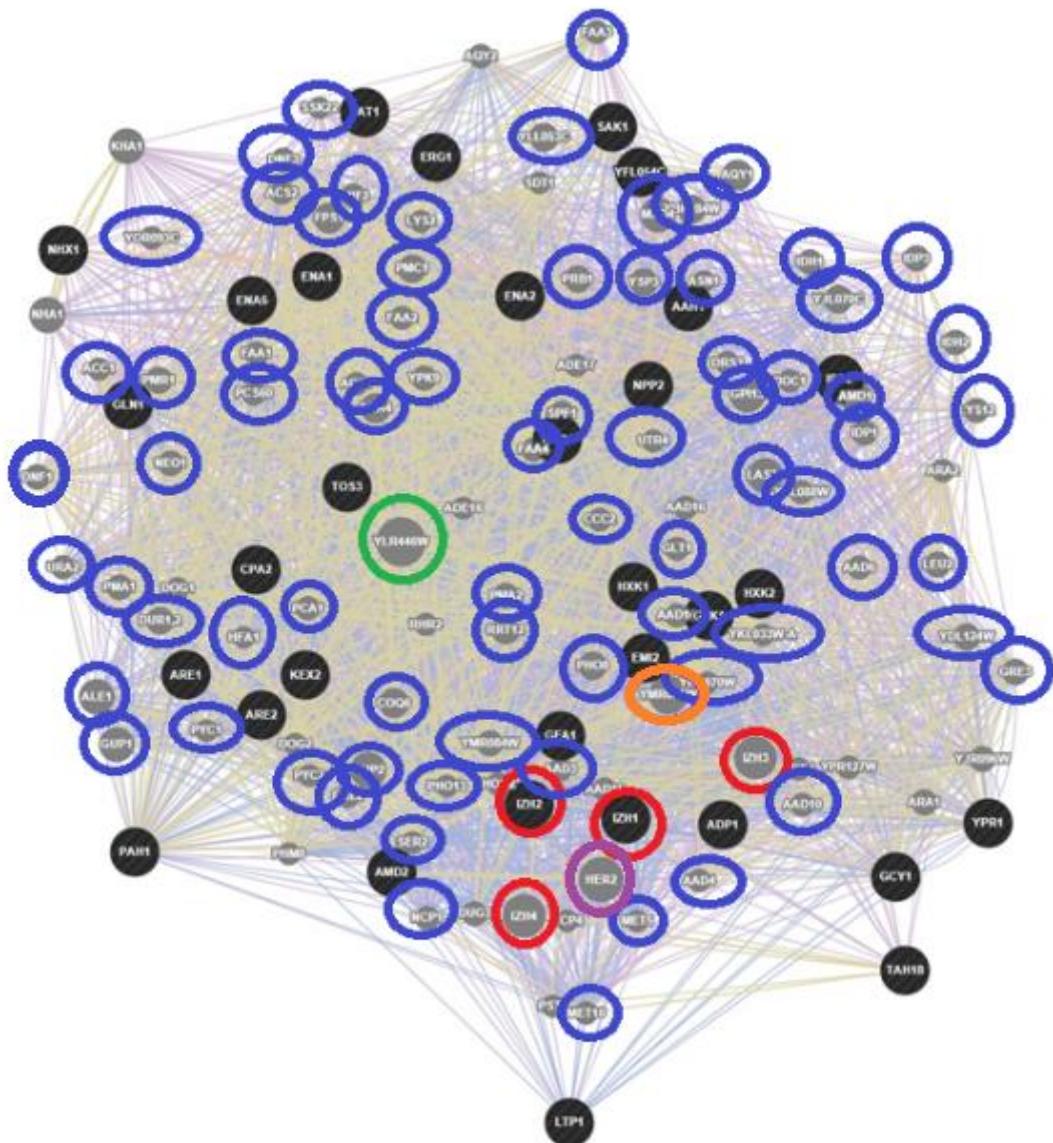
PRILOGA F

Interakcijska mreža genov kvasovke, ki so vpleteni v razvoj debelosti in imajo ortologne gene pri človeku, miši in podgani in petdeset dodanih genov. Obkroženi so vsi geni, ki imajo homologne gene pri človeku, miši in podgani. Z zeleno barvo je označen ortolog genov *HKDC1* in *Hk1*, z rdečo ortologi gena *ADIPOR2*, z oranžno barvo je obkrožen ortolog gena *GFPT2*, z vijolično pa ortolog gena *QSL1*. Omenjeni geni in njihovi ortologi so podrobneje opisani v besedilu.



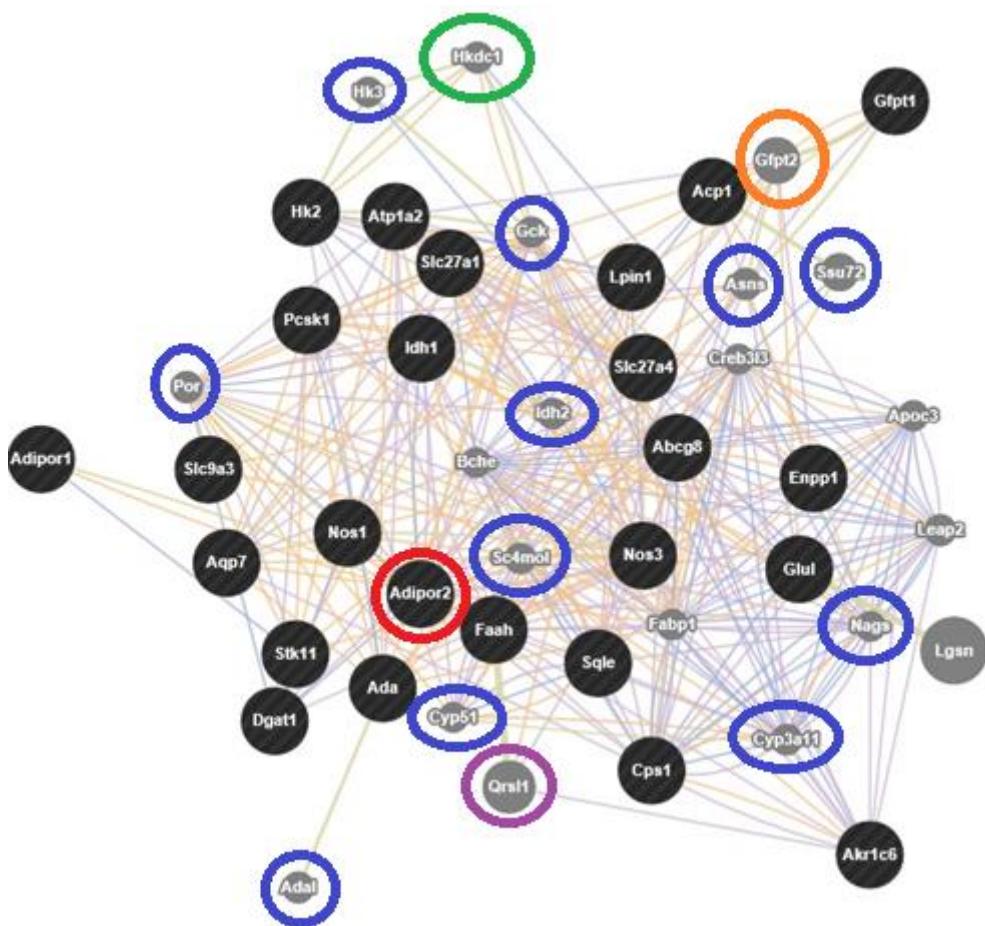
PRILOGA G

Interakcijska mreža genov kvasovke, ki so vpleteni v razvoj debelosti in imajo ortologne gene pri človeku, miši in podgani in sto dodanih genov. Obkroženi so vsi geni, ki imajo homologne gene pri človeku, miši in podgani. Z zeleno barvo je označen ortolog gena *HKDC1* in *Hkl*, z rdečo ortologi gena *ADIPOR2*, z oranžno barvo je obkrožen ortolog gena *GFPT2*, z vijolično pa ortolog gena *QSL1*. Omenjeni geni in njihovi ortologi so podrobneje opisani v besedilu.



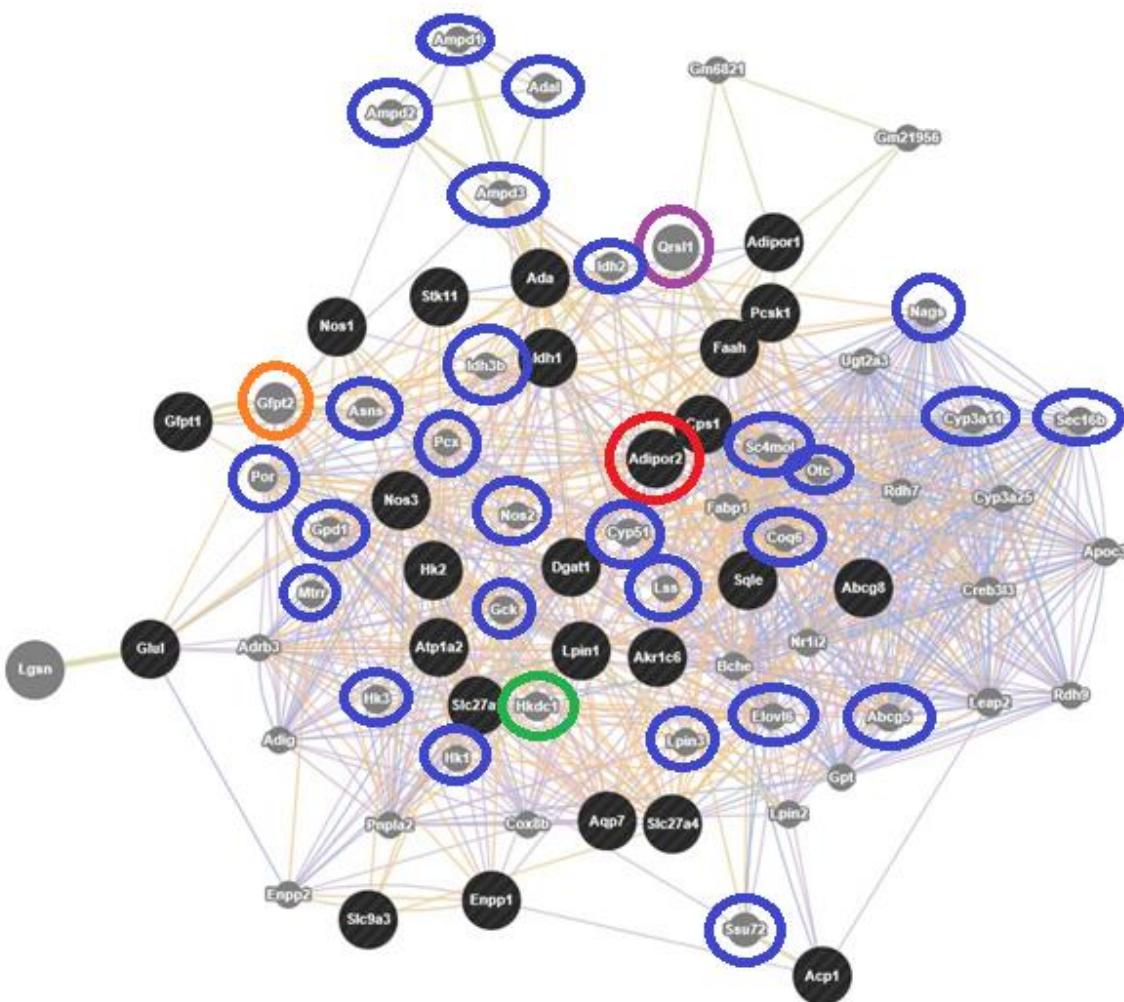
PRILOGA H

Interakcijska mreža genov miši, ki so vpleteni v razvoj debelosti in imajo ortologne gene pri kvasovki in dvajset dodanih genov. Obkroženi so vsi geni, ki imajo ortologa pri kvasovki. Z zeleno barvo je obkrožen gen Hkdc1, z rdečo gen Adipor2, z vijolično gen Qrsll ter z oranžno gen Gfpt2. Omenjeni geni in njihovi ortologi so podrobneje opisani v besedilu.



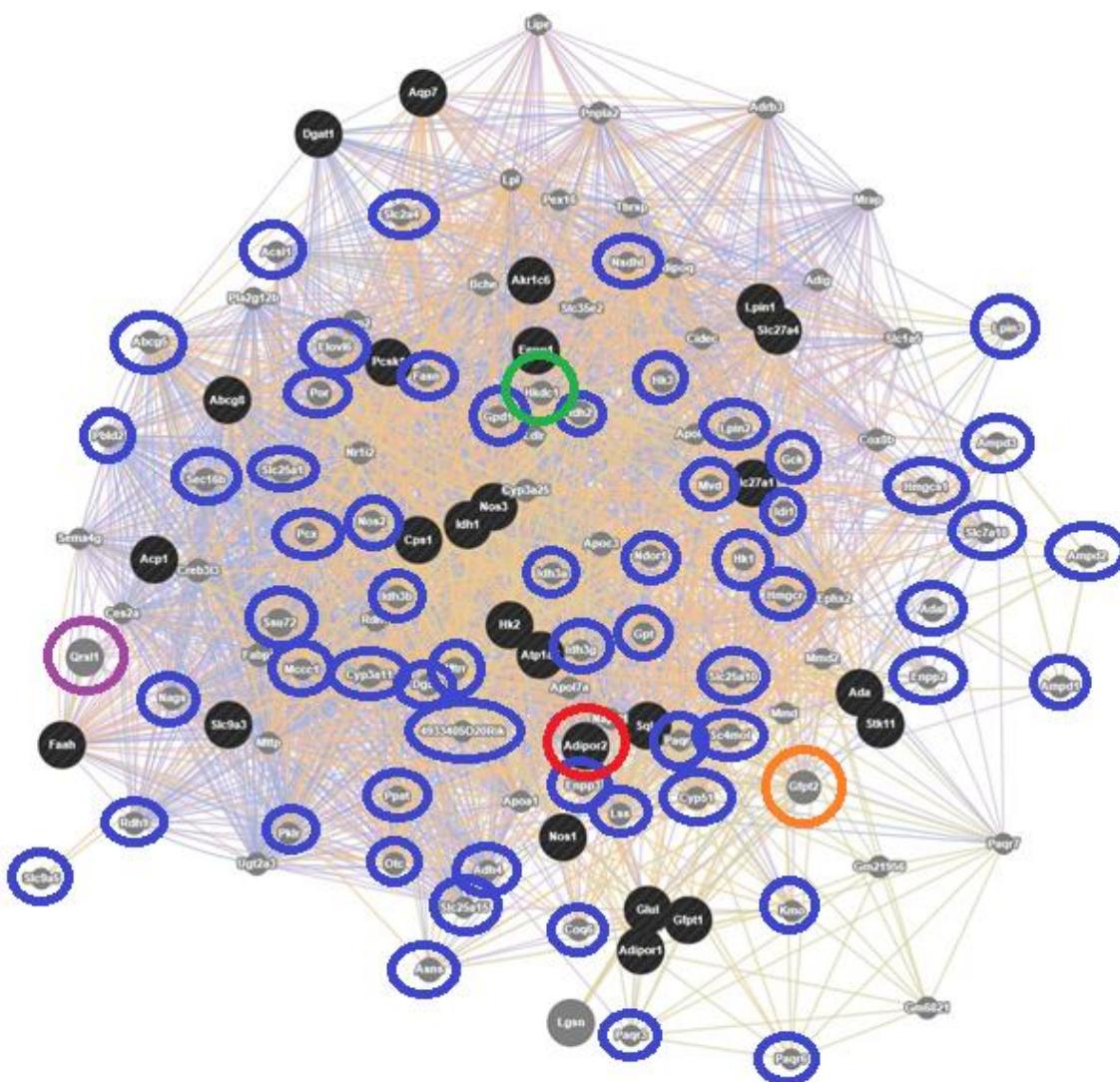
PRILOGA I

Interakcijska mreža genov miši, ki so vpletene v razvoj debelosti in imajo ortologne gene pri kvasovki in petdeset dodanih genov. Obkroženi so vsi geni, ki imajo ortologa pri kvasovki. Z zeleno barvo je obkrožen gen *Hkdc1*, z rdečo gen *Adipor2*, z vijolično gen *Qrsll* ter z oranžno gen *Gfpt2*. Omenjeni geni in njihovi ortologi so podrobneje opisani v besedilu.



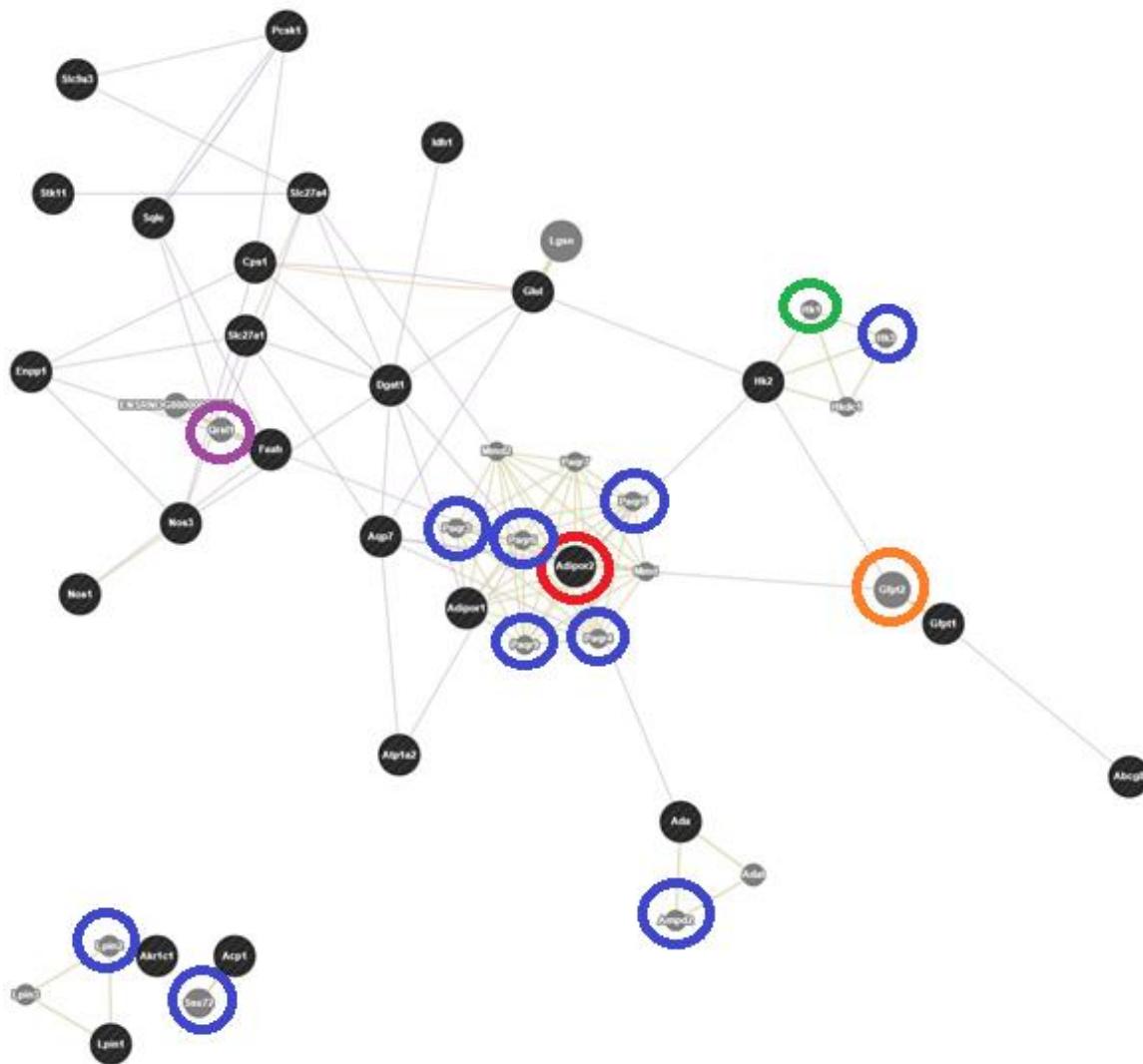
PRILOGA J

Interakcijska mreža genov miši, ki so vpleteni v razvoj debelosti in imajo ortologne gene pri kvasovki in sto dodanih genov. Obkroženi so vsi geni, ki imajo ortologa pri kvasovki. Z zeleno barvo je obkrožen gen *Hkdc1*, z rdečo gen *Adipor2*, z vijolično gen *Qrs11* ter z oranžno gen *Gfp12*. Omenjeni geni in njihovi ortologi so podrobneje opisani v besedilu.



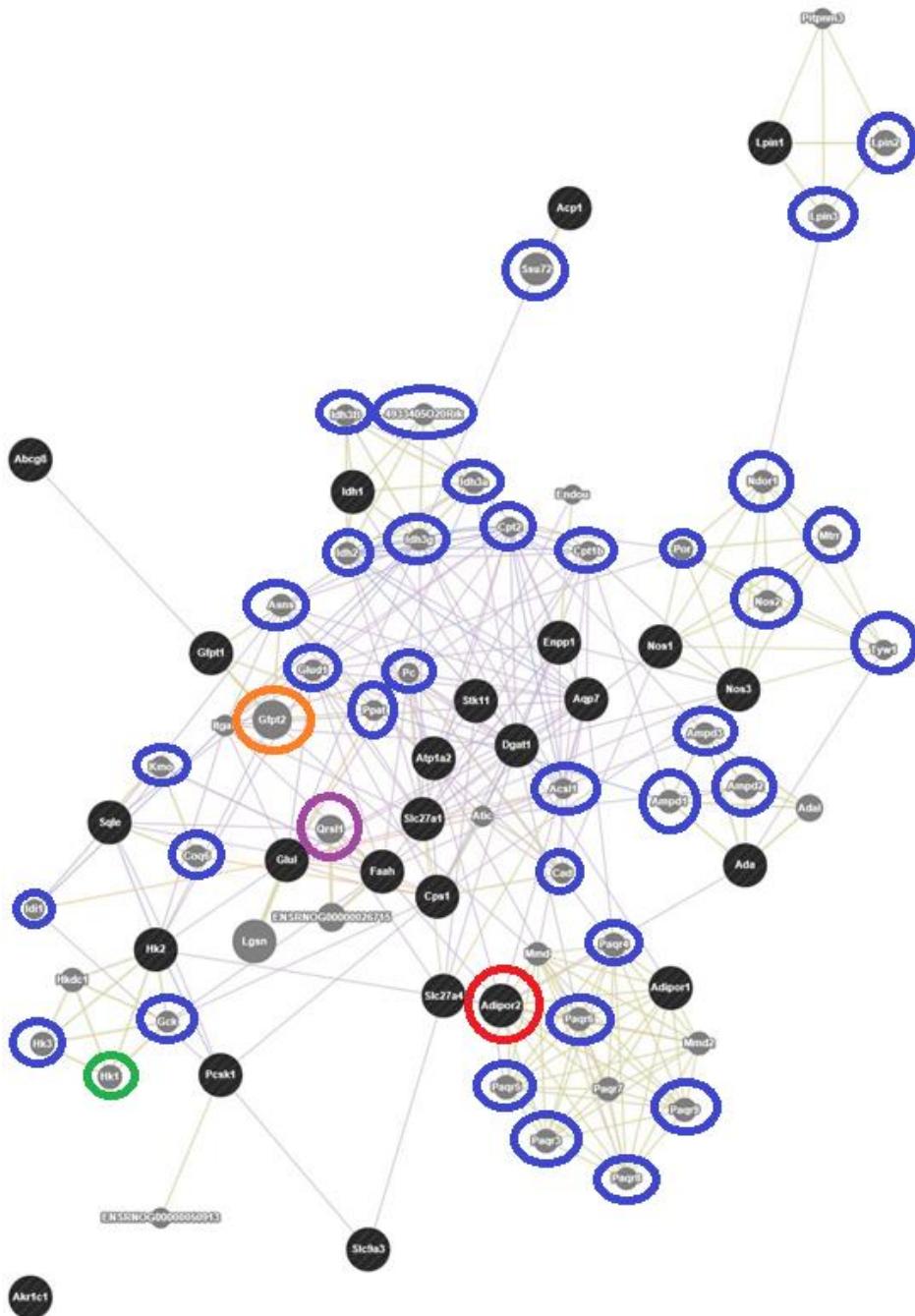
PRILOGA K

Interakcijska mreža genov podgane, ki so vpleteni v razvoj debelosti in imajo ortologne gene pri kvasovki in dvajset dodanih genov. Obkroženi so vsi geni, ki imajo ortologa pri kvasovki. Z zeleno barvo je obkrožen gen *Hk1*, z rdečo gen *Adipor2*, z vijolično gen *Qrsl1* ter z oranžno gen *Gfpt2*. Omenjeni geni in njihovi ortologi so podrobneje opisani v besedilu.



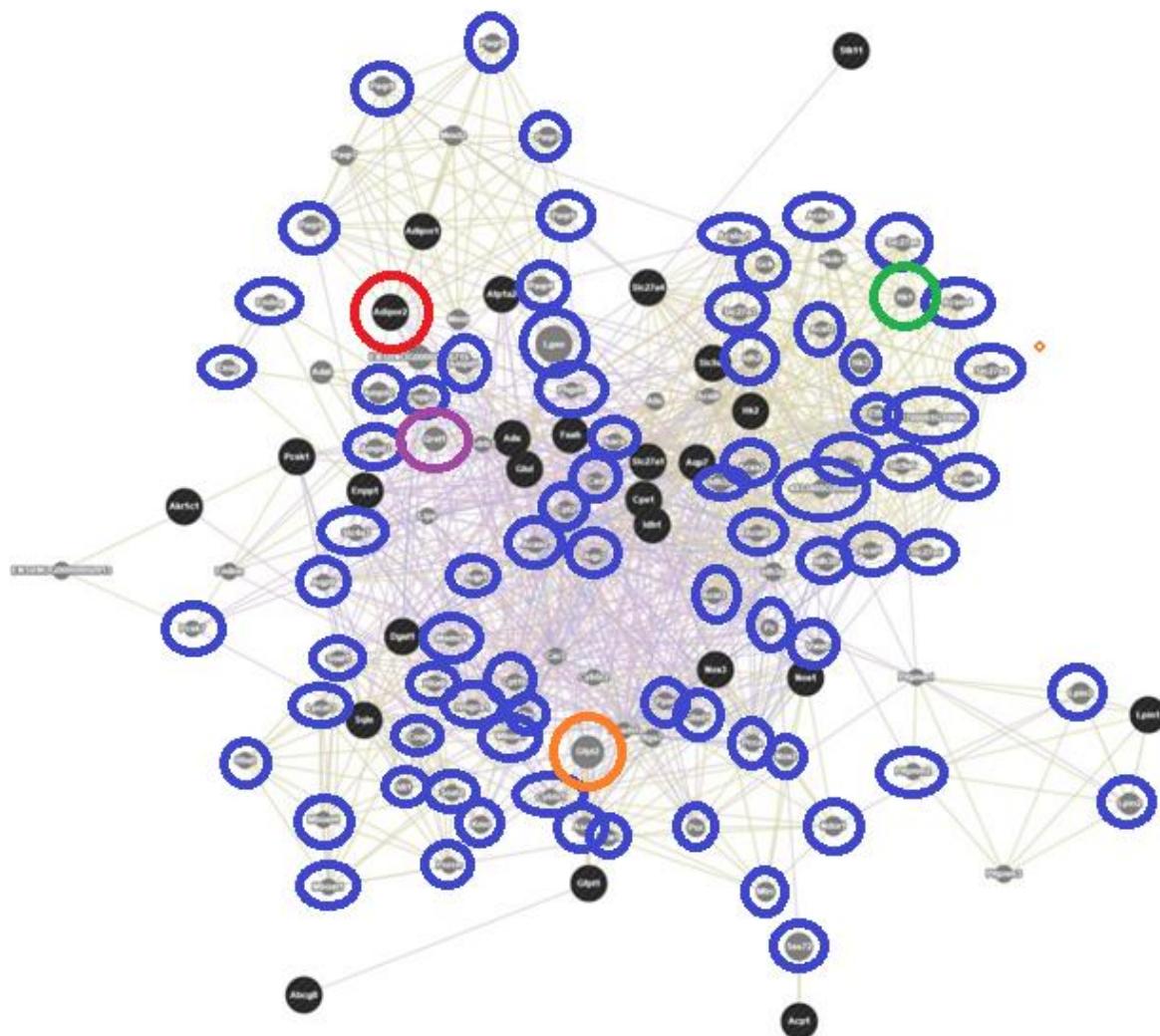
PRILOGA L

Interakcijska mreža genov podgane, ki so vpletene v razvoj debelosti in imajo ortologne gene pri kvasovki in petdeset dodanih genov. Obkroženi so vsi geni, ki imajo ortologa pri kvasovki. Z zeleno barvo je obkrožen gen *Hkl*, z rdečo gen *Adipor2*, z vijolično gen *Qrsll* ter z oranžno gen *Gfpt2*. Omenjeni geni in njihovi ortologi so podrobneje opisani v besedilu.



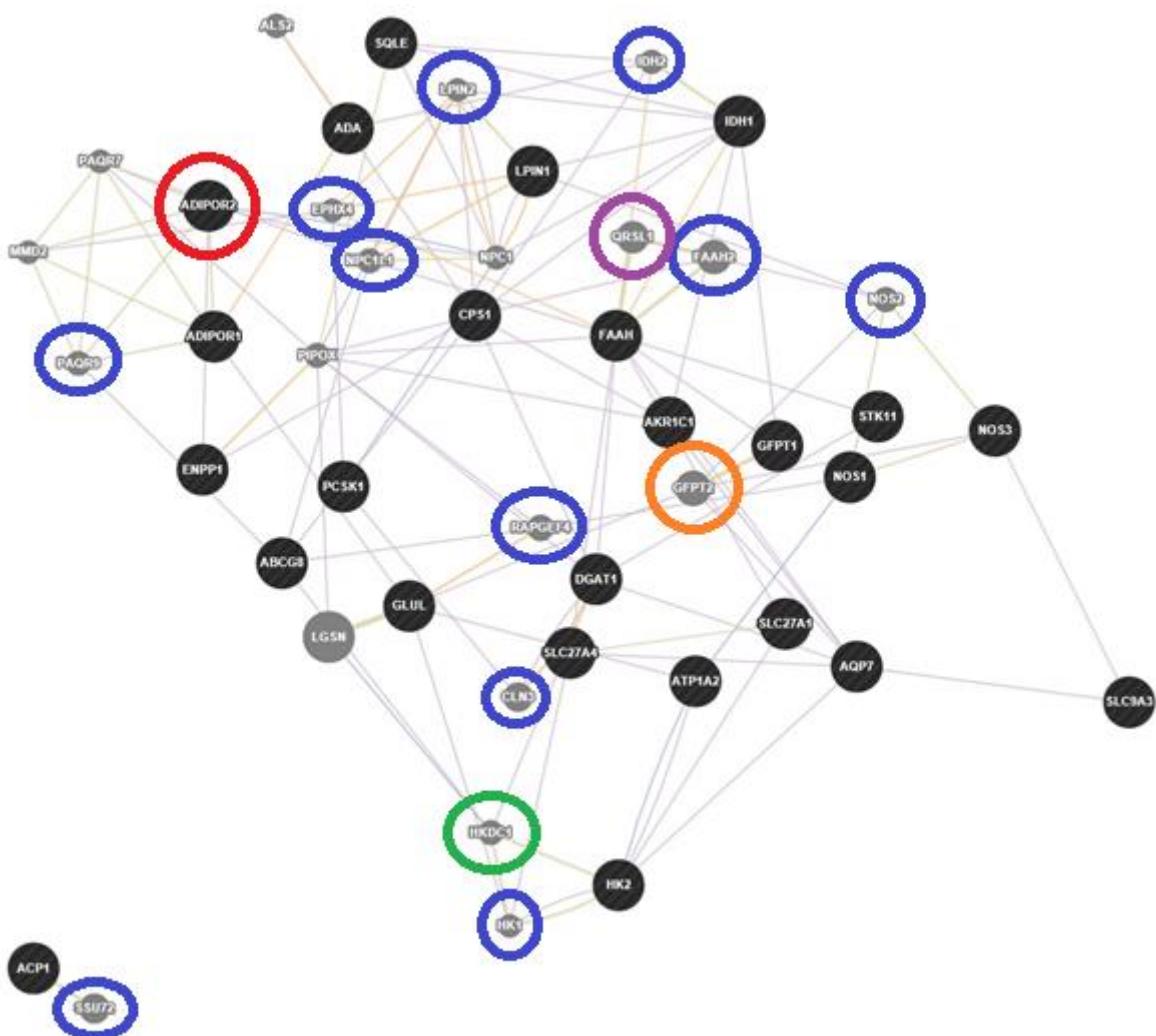
PRILOGA M

Interakcijska mreža genov podgane, ki so vpletene v razvoj debelosti in imajo ortologne gene pri kvasovki in sto dodanih genov. Obkroženi so vsi geni, ki imajo ortologa pri kvasovki. Z zeleno barvo je obkrožen gen *Hkl*, z rdečo gen *Adipor2*, z vijolično gen *Qrsl1* ter z oranžno gen *Gfpt2*. Omenjeni geni in njihovi ortologi so podrobneje opisani v besedilu.



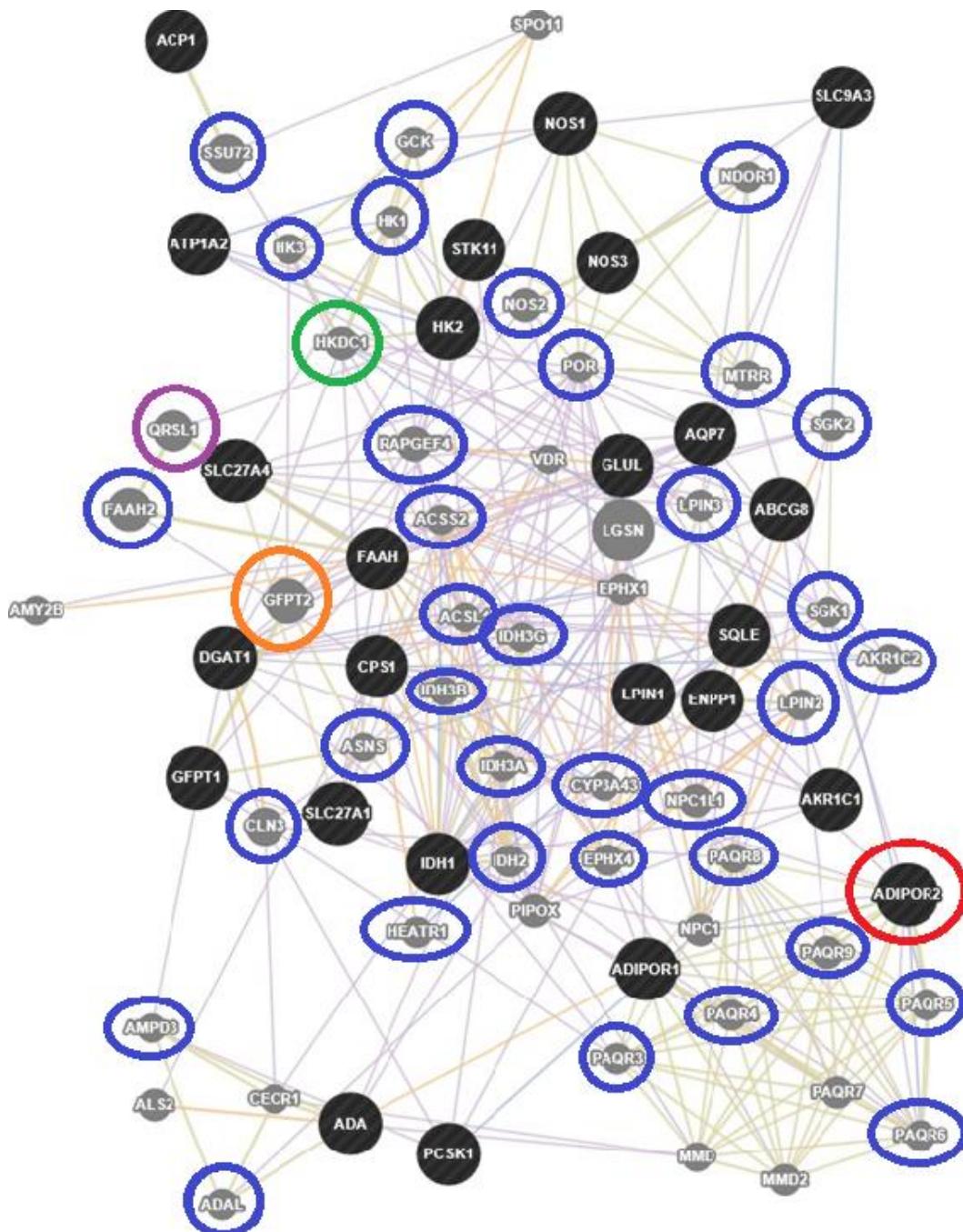
PRILOGA N

Interakcijska mreža genov človeka, ki so vpleteni v razvoj debelosti in imajo ortologne gene pri kvasovki in dvajset dodanih genov. Obkroženi so vsi geni, ki imajo ortologa pri kvasovki. Z zeleno barvo je obkrožen gen *HKDC1*, z rdečo gen *ADIPOR2*, z vijolično gen *QRSL1* ter z oranžno gen *GFPT2*. Omenjeni geni in njihovi ortologi so podrobneje opisani v besedilu.



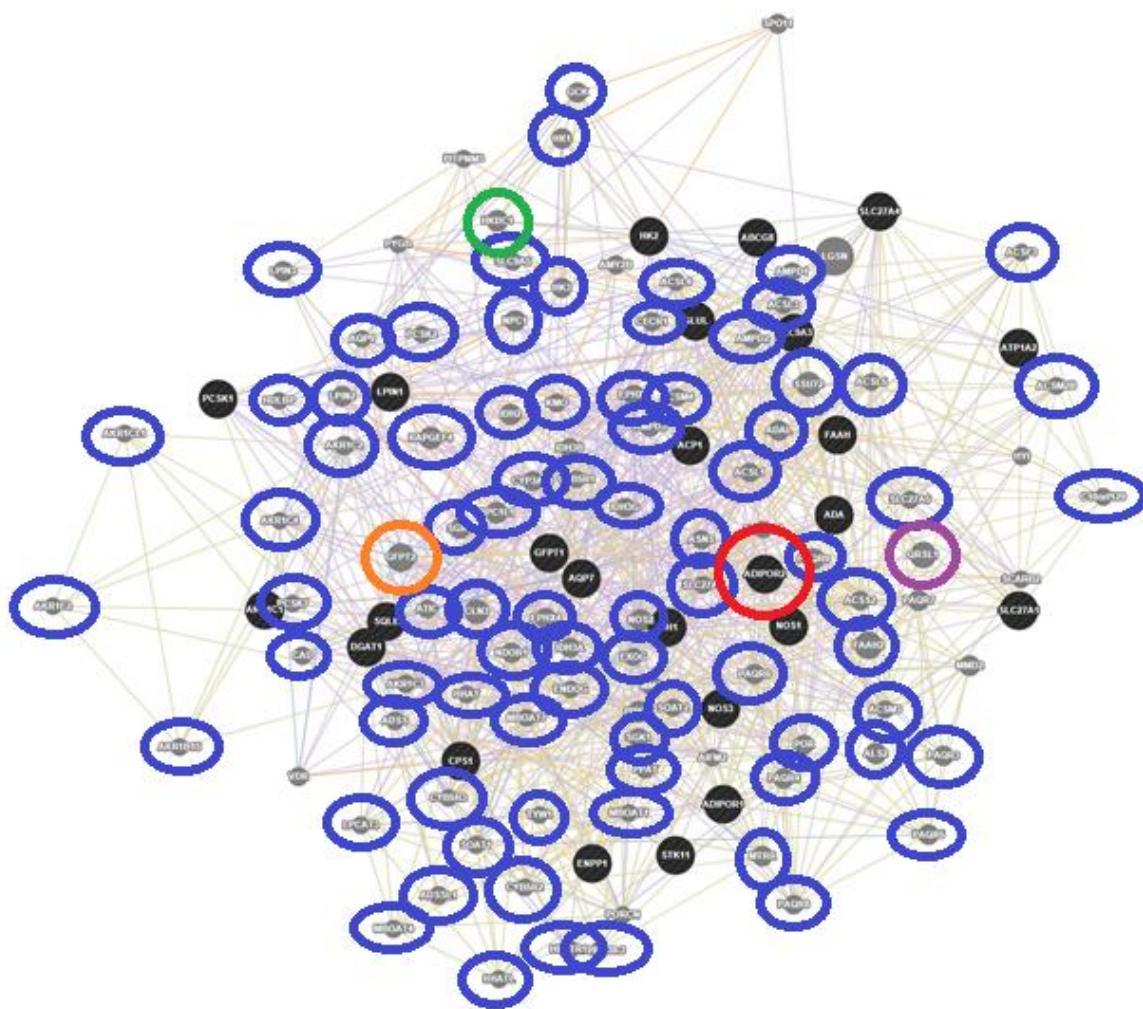
PRILOGA 0

Interakcijska mreža genov človeka, ki so vpleteni v razvoj debelosti in imajo ortologne gene pri kvasovki in petdeset dodanih genov. Obkroženi so vsi geni, ki imajo ortologa pri kvasovki. Z zeleno barvo je obkrožen gen *HKDC1*, z rdečo gen *ADIPOZ2*, z vijolično gen *QRSL1* ter z oranžno gen *GFPT2*. Omenjeni geni in njihovi ortologi so podrobneje opisani v besedilu.



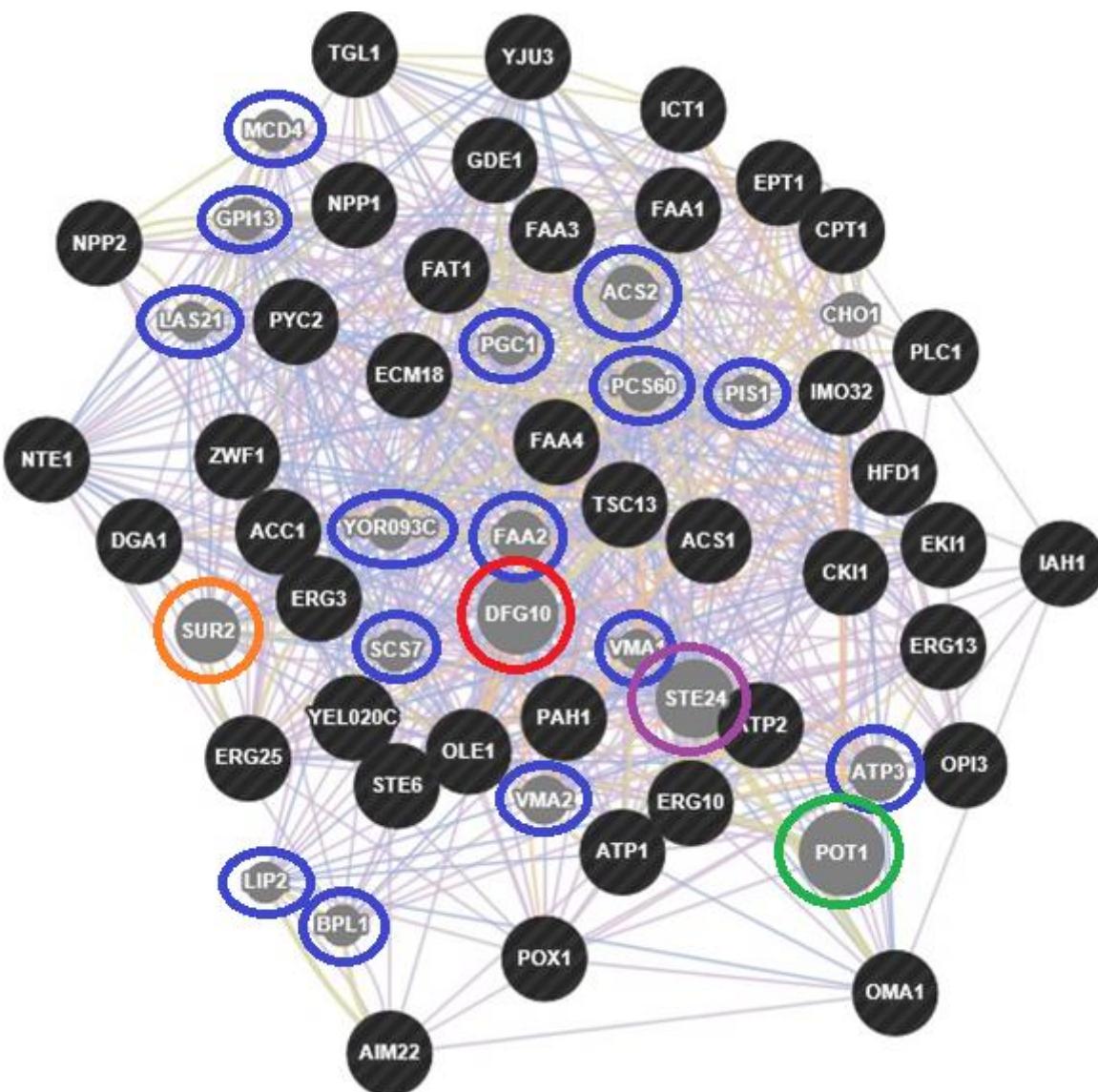
PRILOGA P

Interakcijska mreža genov človeka, ki so vpleteni v razvoj debelosti in imajo ortologne gene pri kvasovki in sto dodanih genov. Obkroženi so vsi geni, ki imajo ortologa pri kvasovki. Z zeleno barvo je obkrožen gen *HKDC1*, z rdečo gen *ADIPOR2*, z vijolično gen *QRSL1* ter z oranžno gen *GFPT2*. Omenjeni geni in njihovi ortologi so podrobneje opisani v besedilu.



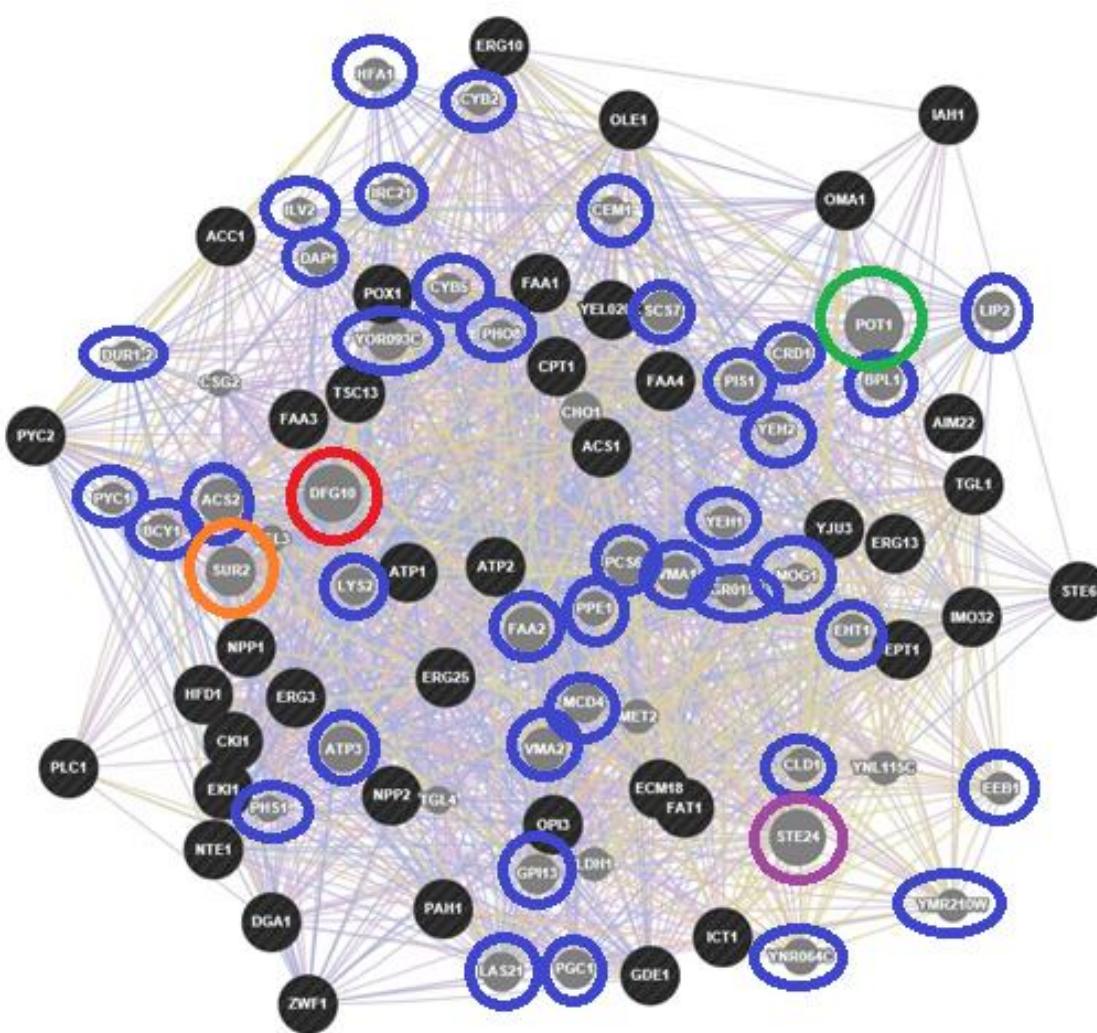
PRILOGA R

Interakcijska mreža genov kvasovke, ki sodelujejo v metabolizmu lipidov in imajo ortologne gene pri človeku in dvajset dodanih genov. Obkroženi so vsi geni, ki imajo pri človeku ortologa. Z zeleno barvo je obkrožen ortolog človeškega gena *ACAA1*, z rdečo ortolog gena *SRD5A3*, z vijolično je obkrožen ortolog gena *ZMPSTE24*, ter z oranžno barvo je obkrožen ortolog gena *MSMO1*. Omenjeni geni in njihovi ortologi so podrobnejše opisani v besedilu.



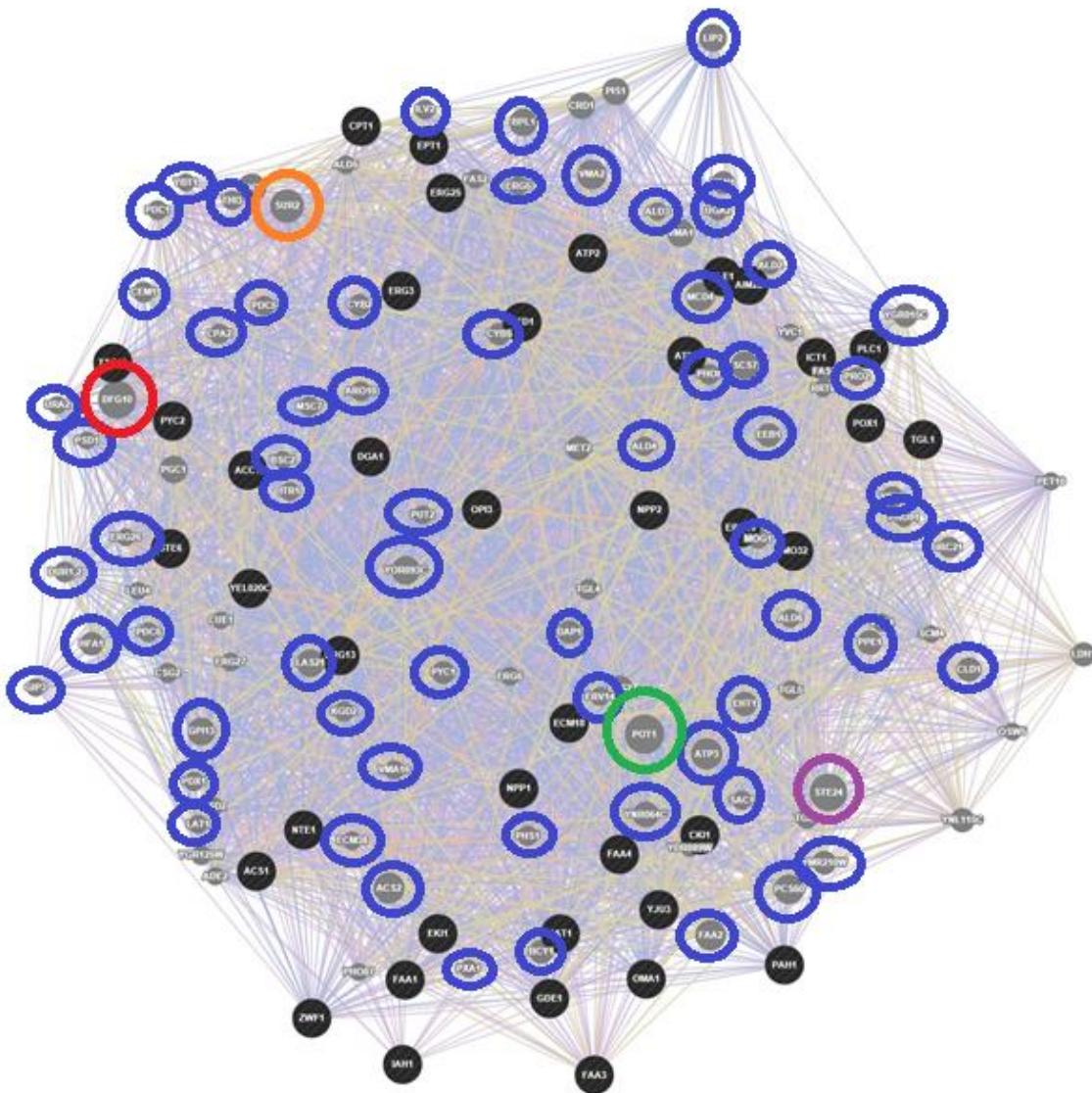
PRILOGA S

Interakcijska mreža geno kvasovke, ki sodelujejo v metabolizmu lipidov in imajo ortologne gene pri človeku in petdeset dodanih genov. Obkroženi so vsi geni, ki imajo pri človeku ortologa. Z zeleno barvo je obkrožen ortolog človeškega gena *ACAA1*, z rdečo ortolog gena *SRD5A3*, z vijolično je obkrožen ortolog gena *ZMPSTE24*, ter z oranžno barvo je obkrožen ortolog gena *MSMO1*. Omenjeni geni in njihovi ortologi so podrobnejše opisani v besedilu.



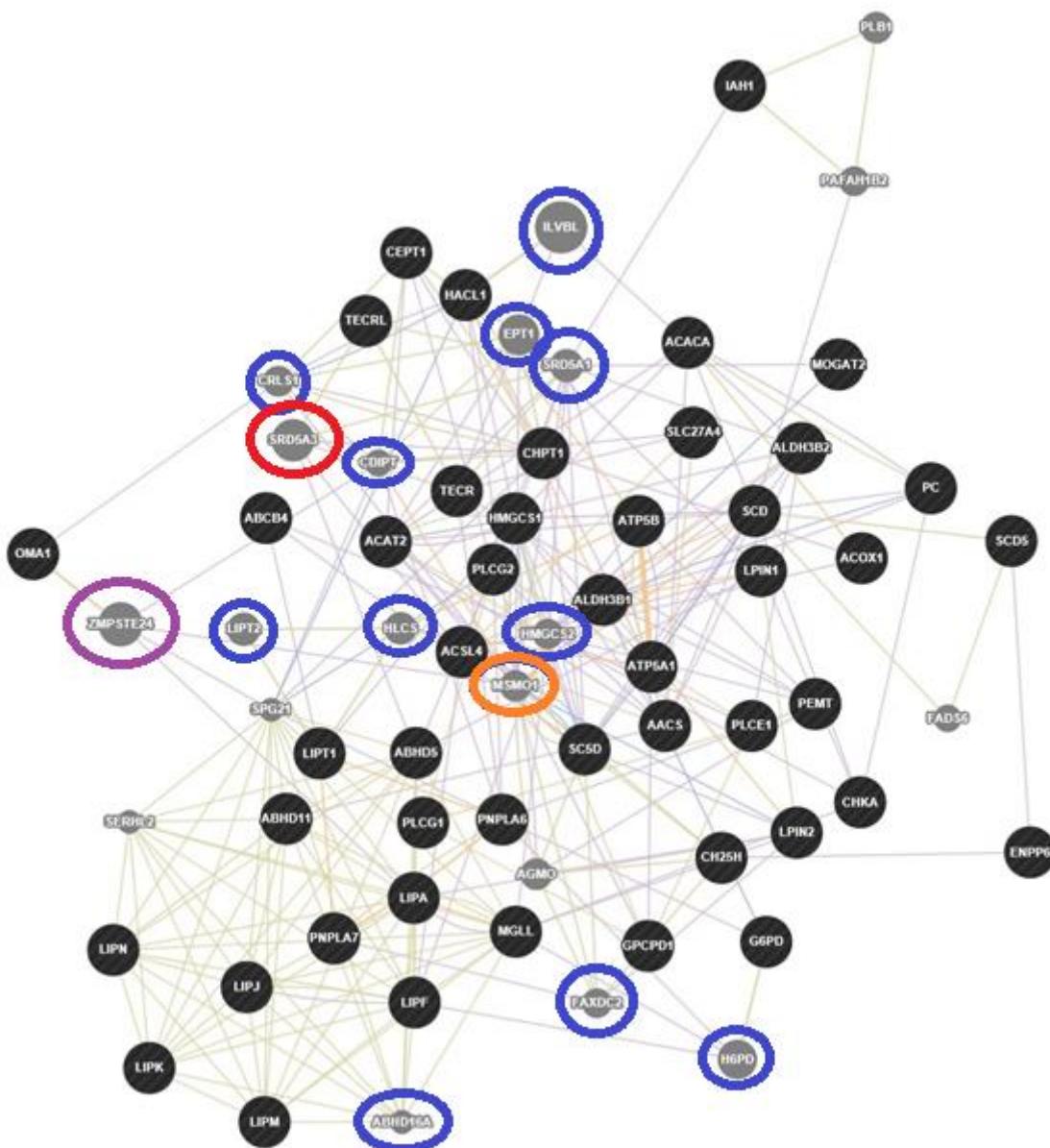
PRILOGA T

Interakcijska mreža genov kvasovke, ki sodelujejo pri metabolizmu lipidov in imajo ortologne gene pri človeku in sto dodanih genov. Obkroženi so vsi geni, ki imajo pri človeku ortologa. Z zeleno barvo je obkrožen ortolog človeškega gena *ACAA1*, z rdečo ortolog gena *SRD5A3*, z vijolično je obkrožen ortolog gena *ZMPSTE24*, ter z oranžno barvo je obkrožen ortolog gena *MSMO1*. Omenjeni geni in njihovi ortologi so podrobneje opisani v besedilu.



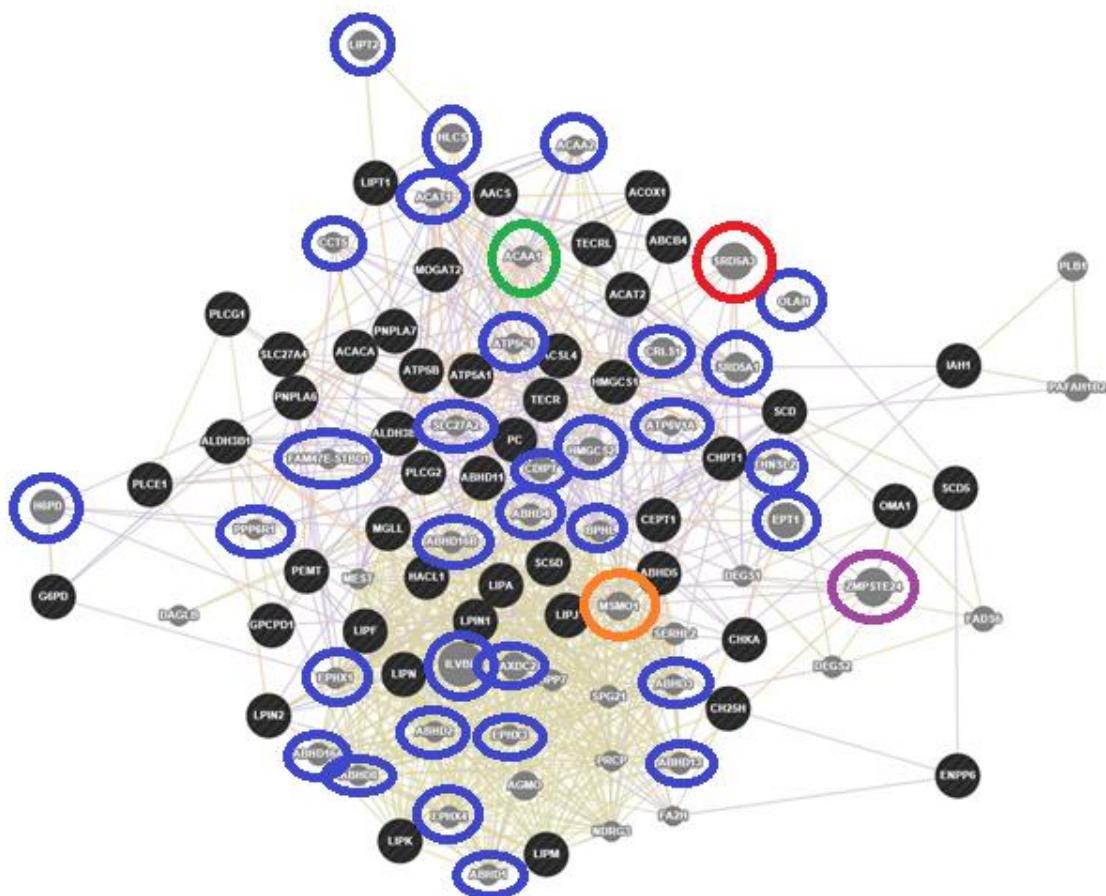
PRILOGA U

Interakcijska mreža genov človeka, ki sodelujejo pri metabolizmu lipidov in imajo ortologne gene pri človeku in dvajset dodanih genov. Obkroženi so vsi geni, ki imajo homologni gen pri kvasovki. Z rdečo barvo je obkrožen gen *SRD5A3*, z vijolično gen *ZMPSTE24* ter z oranžno barvo gen *MSMO1*. Omenjeni geni in njihovi ortologi so podrobneje opisani v besedilu.



PRILOGA V

Interakcijska mreža genov človeka, ki sodelujejo pri metabolizmu lipidov in imajo ortologne gene pri kvasovki in petdeset dodanih genov. Obkroženi so vsi geni, ki imajo homologni gen pri kvasovki. Z rdečo barvo je obkrožen gen *SRD5A3*, z vijolično gen *ZMPSTE24*, z oranžno barvo gen *MSMO1* ter z zeleno barvo je označen gen *ACAA1*. Omenjeni geni in njihovi ortologi so podrobneje opisani v besedilu.



PRILOGA Z

Interakcijska mreža genov človeka, ki so vpleteni v metabolizem lipidov in imajo ortologne gene pri kvasovki in sto dodanih genov. Obkroženi so vsi geni, ki imajo homologni gen pri kvasovki. Z rdečo barvo je obkrožen gen *SRD5A3*, z vijolično gen *ZMPSTE24*, z oranžno barvo gen *MSMO1* ter z zeleno barvo je označen gen *ACAA1*. Omenjeni geni in njihovi ortologi so podrobneje opisani v besedilu.

