

ingeb



Univerzitet u Sarajevu
Institut za genetičko
inženjerstvo i
biotehnologiju

I SIMPOZIJ GENETIČARA U BOSNI I HERCEGOVINI

• Knjiga apstrakata •

Sarajevo, Hotel „Europe“

17. – 18. februar 2011.

POZDRAVNA RIJEČ I DOBRODOŠLICA

Srdačno vas pozdravljam u ime *Instituta za genetičko inženjerstvo i biotehnologiju Univerziteta u Sarajevu* i u svoje lično ime te najiskrenije zahvaljujem što ste se odazvali našem pozivu. Posebno se zahvaljujem Federalnom ministarstvu obrazovanja i nauke i svim sponzorima koji su nas finansijski podržali. Također se zahvaljujem i uposlenicima Instituta koji su uložili veliki napor, trud i entuzijazam u organizaciji ovog za nas veoma važnog skupa.

Uvjeren sam da će Simpozij, koji predstavlja prvi skup genetičara različitih profila u Bosni i Hercegovini, biti višestruko značajan za istraživače i naučnike različitih specijalnosti, a pogotovo za naše mlađe saradnike, posdiplomce i asistente. Očekujemo da će Simpozij omogućiti sagledavanje aktuelnog stanja genetičkih istraživanja u Bosni i Hercegovini, kao i međusobno upoznavanje i povezivanje bh. genetičara u zemlji i inostranstvu, što je jedan od osnovnih preduslova za zajednički pristup nacionalnim, regionalnim i međunarodnim grantovima.

Simpozij počinje plenarnim predavanjima po programu koji ste dobili, a nastavak obuhvata usmena priopćenja i poster prezentacije podijeljene u četiri cjeline pripadajuće naučne specijalnosti: **Opća genetika, Genetika u biomedicini, Genetika u biotehnici i Genetika u forenzici**. Apstrakte, kao što vidite, već smo odštampali i podjelili, a prezentirane radove na sesijama publicirat ćemo u zborniku radova koji će biti distribuiran svim učesnicima Simpozija.

Kao što ste obaviješteni, u toku simpozija održat ćemo i osnivačku skupštinu Udruženja genetičara u Bosni i Hercegovini na kojoj će biti donesena odluka o osnivanju Udruženja. Zatim će se održati okrugli sto o stanju, kapacitetima i perspektivama genetike u Bosni i Hercegovini, kao i ulozi ove nauke na globalnom nivou. Cilj okruglog stola je da se, u svjetlu suvremenih genetičkih trendova, procijene kadrovski i tehnološki potencijali za razvoj genetičkih istraživanja u BiH, te da se, na osnovu usvojenog izvještaja, naznače smjernice budućih pravaca njihovog razvoja.

Na kraju, svima vama, uz iskrenu dobrodošlicu, želim puno uspjeha u radu, ugodan boravak u ovom ambijentu i još jednom najiskrenije zavaljujem što se odazvali našem pozivu.

Prof. dr. *Kasim Bajrović*,

Predsjednik Organizacionog odbora Simpozija

Organizator Simpozija

*Institut za genetičko inženjerstvo i biotehnologiju (INGEB);
Udruženje genetičara u Bosni i Hercegovini – u osnivanju*

Organizacijski odbor Simpozija

Prof. dr. *Kasim Bajrović*, naučni savjetnik, predsjednik
Mr. *Anja Haverić*, viši stručni saradnik, sekretar
Prof. dr. *Rifat Hadžiselimović*, naučni savjetnik
Sabaheta Šaćiragić, dipl. iur.
Prof. dr. *Damir Marjanović*, viši naučni saradnik
Doc. dr. *Naris Pojskić*, viši naučni saradnik
Doc. dr. *Lejla Kapur-Pojskić*, naučni saradnik
Doc. dr. *Adaleta Durmić-Pašić*, naučni saradnik
Doc. dr. *Lada Lukić Bilela*, naučni saradnik
Dr. *Sanin Haverić*, naučni saradnik
Dr. *Amra Kazić*, viši stručni saradnik
Mr. *Jasmina Čakar*, viši stručni saradnik
Mr. *Belma Kalamujić*, viši stručni saradnik
Mr. *Naida Lojo Kadrić*, viši stručni saradnik
Mr. *Lejla Kovačević*
Mr. *Dženisa Buljugić*
Anisa Rahmanović, stručni saradnik
Jasmin Ramić, stručni saradnik
Elma Silajdžić, stručni saradnik
Una Tulić, stručni saradnik
Ksenija Radić, stručni saradnik
Lejla Lasić, stručni saradnik
Mirela Džehverović

Naučni odbor Simpozija

Prof. dr. *Rifat Hadžiselimović*, naučni savjetnik
Prof. dr. *Kasim Bajrović*, naučni savjetnik
Prof. dr. *Damir Marjanović*, viši naučni saradnik
Doc. dr. *Naris Pojskić*, viši naučni saradnik
Doc. dr. *Lejla Kapur-Pojskić*, naučni saradnik
Doc. dr. *Adaleta Durmić-Pašić*, naučni saradnik
Dr. *Sanin Haverić*, naučni saradnik
Mr. *Anja Haverić*, viši stručni saradnik
Mr. *Jasmina Čakar*, viši stručni saradnik
Mr. *Belma Kalamujić*, viši stručni saradnik
Anisa Rahmanović, stručni saradnik

**Inicijativu, organizaciju i realizaciju
Simpozija je podržalo**

Federalno ministarstvo
obrazovanja i nauke

Sponzori Simpozija:

AlphaChrom d.o.o.

Inel – bh d.o.o.

Mikro + Polo d.o.o.

Biosistemi grupa d.o.o.

R&S d.o.o.

Program Simpozija

17. februar 2011.

8.00 –

Registracija učesnika

8.00 – 9.00

Postavljanje postera

9.00 – 9.15

Pozdravna riječ organizatora

Prof. dr. Kasim Bajrović, naučni savjetnik

9.15 – 13.45

Plenarna predavanja

Predsjedništvo: prof. dr. Rifat Hadžiselimović, prof. dr. Kasim Bajrović, mr. Anja Haverić

Genetika u Bosni i Hercegovini – kratak pregled razvoja

Akademik prof. dr. Ljubomir Berberović

Primjena molekularne citogenetike i protočne citometrije u istraživanju procesa specijacije i mikroevolucije kod biljaka

Prof. dr. Sonja Šiljak Yakovlev

Upotreba genetički modificiranih T limfocita u tretmanu melanoma

Prof. dr. Zoran Galić

Prenatalna dijagnostika genetičkih oboljenja – mogućnosti i perspektive

Prof. dr. Nenad Bukvić

Primjena SSR markera u radu sa germplazmom autohtonih voćaka u BiH

Prof. dr. Mirsad Kurtović

11.00 – 11.30

Pauza

Proteini toplotnog stresa (Hsp) – struktura i uloga

Prof. dr. Stojko Vidović

Pristupni modeli u identifikaciji gena u oligogenskom i poligenskom modelu nasljeđivanja

Doc. dr. Lejla Kapur-Pojskić, naučni saradnik

Mitochondrijska genomika i energetska metabolizam *Porifera*

Doc. dr. Lada Lukić Bilela, naučni saradnik

Analiza genetskih varijacija u dijagnozi i terapiji Tipa 2 dijabetesa i metaboličkog sindroma

Doc. dr. Sabina Semiz

Novi trendovi u molekularnoj dijagnostici hematoloških oboljenja

Dr. Amina Kozarić

Tri stoljeća humanih populaciono genetičkih istraživanja u BiH

Prof. dr. Damir Marjanović, viši naučni saradnik

13.45 – 15.00

Ručak

15.00 – 17.30

Sesija: Opća genetika

Predsjedništvo: prof. dr. Sonja Šiljak-Yakovlev, doc. dr. Adisa Ahmić, dr. Sanin Haverić

Genekološki aspekti konzervacije ugroženog genofonda (Bosna i Hercegovina, Balkanski poluotok)

Akademik prof. dr. Sulejman Redžić

Uticaj klimatskih promjena na živi svijet i njegovu genetičku strukturu

Dr. Amra Kazić, viši stručni saradnik

Polimorfizmi mitohondrijalne DNK u lokalnim ljudskim populacijama tuzlanske regije

Doc. dr. Adisa Ahmić

Analiza genetičke heterogenosti lokalnih ljudskih populacija Tuzlanskog kantona s obzirom na kompleks od deset kvalitativnih fenotipskih svojstava

Doc. dr. Hajrija Hamidović

16.00 – 16.30

Pauza

Organizacija i veličina genoma kod fakultativne serpentinofite *Narcissus poeticus* L.

Mr. Fatima Pustahija

Antropometrijska mjerenja novorođenčadi na području opštine Bosanska Krupa

Irma Šarić

Mikronukleus esej u ćelijama epitela bukalne sluznice – učešće u *HUMN_{XL}* kolaborativnom projektu

Dr. Sanin Haverić, naučni saradnik

Izlaganje postera

15.00 – 17.30

Sesija: Genetika u biotehnici

Predsjedništvo: doc. dr. Naris Pojskić, prof. dr. Mirsad Kurtović, doc. dr. Lada Lukić Bilela

Značaj i primjena molekularne genetike u očuvanju izvornih vrsta domaćih životinja u BiH

Doc. dr. Almira Softić

Tranzijentna (prolazna) ekspresija L1 proteina Humanog papiloma virusa tipova 8 i 16 u biljkama

Dr. Slavica Matić

Genetska i pomološka varijabilnost autohtonih sorti jabuka u Bosni i Hercegovini

Dr. Fuad Gaši

Inicijativa: *Testudo hermanni ssp. hercegovinensis*

Mr. Mersad Omanović

16.00 – 16.30

Pauza

Genetički polimorfizmi u diabetesu: uticaj na terapiju oralnim antidiabeticima

Una Glamočlija

Genotipizacija autohtonih sorti vinove loze iz Hercegovine pomoću SSR markera

Mario Leko

Značaj procjene genetičkog diverziteta za potrebe konzervacije i zaštite bioloških resursa – prikaz slučaja: *Salamandra atra prenjensis*, Mikšić 1969

Doc. dr. Naris Pojskić, viši naučni saradnik

Izlaganje postera

18. februar 2011.

8.00 –

Registracija učesnika

8.00 – 9.00

Postavljanje postera

9.00 – 13.30

Sesija: Genetika u biomedicini

Predsjedništvo: doc. dr. Lejla Kapur-Pojskić, prof. dr. Zoran Galić, doc. dr. Amina Kozarić

Izolacija i kultivacija mezenhimalnih matičnih ćelija koštane srži i procjena osteoinduktivnih efekata u *in vivo* i *in vitro* uvjetima

Prof. dr. Amira Redžić

Nove homologne sekvence steroidne 5 α -reduktaze tipa I (SRD5A1) na ljudskim hromozomima 6 i 8

Prof. dr. Izet Eminović

Medicinska genetika u modernoj kliničkoj praksi genetički sindromi: od sumnje do potvrde

Prof. dr. Nenad Bukvić

Povećani nivo IMP-L2 proteina, koji je homolog tumor supresorskog IGFBP7, produžuje život vinskoj mušici

Dr. Nazif Alić

Osnivanje prve tumorske banke svježih uzoraka u BiH

Doc. dr. Amina Kozarić

Molekularno biološke karakteristike hemaglutininske molekule BiH izolata *A/Cygnus olor*/BIH/1/2006 (H5N1)

Doc. dr. Teufik Goletić

Proteinska analiza ekspresije cAMP-ovisne Proteinske Kinaze A (PKA), potencijalnog molekularnog biomarkera za ranu detekciju karcinoma dojke

Mr. Daria Ler

11.00 – 11.30

Pauza

Ispitivanje IVS14+1G>A polimorfizma DPYD gena u grupi bosanskih pacijenata tretiranih sa 5-fluorouracilom i capecitabine-om

Mr. Timur Cerić

Citogenetička studija tipova i učestalosti hromosomskih promjena

Mr. Izeta Aganović-Mušinović

Izolacija i karakterizacija monoklonskih antitijela specifičnih na *m74* genski produkt mišjeg citomegalovirusa

Faruk Skenderi

Analiza polimorfizama HSD11B1 gena kod pacijenata s metaboličkim sindromom

Tanja Dujjić

Polimorfizami LPIN1 gena asocirani sa metaboličkim sindromom i diabetesom tipa 2

Tamer Bego

Metod za detekciju i praćenje markera minimalne ostatne bolesti kod pacijenata na terapiji pametnim (biotehnološkim) lijekovima

Doc. dr. Lejla Kapur-Pojškić, naučni saradnik

Genetički postupci u medicinskoj dijagnostici

Dr. Ivan Krešimir Lukić

Izlaganje postera

9.00 – 13.00

Sesija: Genetika u forenzici

Predsjedništvo: prof. dr. Damir Marjanović, mr. Ana Bilić, Rijad Konjhodžić

Diverzitet nuklearnih mikrosatelitnih DNK markera u referentnom uzorku stanovništva sjeveroistočne Bosne

Doc. dr. Vesna Hadžiavdzić

Dokazna vrijednost DNK profiliranja

Dr. Mladen Milosavljević

Rad i uloga ICMP-a u procesu identifikacije nestalih osoba

Mr. Ana Bilić

ICMP – Uloga akreditacije i upravljanje kvalitetom u forenzičkoj laboratoriji

Dijana Kadrić Tanković

ICMP – Obrada i testiranje koštanih uzoraka u svrhu forenzičke analize

Prof. dr. Stojko Vidović

10.30 – 11.30

Pauza

ICMP – Genetska analiza

Mr. Lejla Smajlović

ICMP – Statistička obrada rezultata i DNK izvještaj

Zlatan Bajunović

Odabir, analiza, i upotreba autozomalnih SNP - ova u forenzici

Rijad Konjhodžić

Neophodnost uspostavljanja forenzične DNK baza podataka u Bosni i Hercegovini

Prof. dr. Damir Marjanović, viši naučni saradnik

Izlaganje postera

13.45 – 15.00

Ručak

15.00 – 17.00

Osnivačka skupština Društva genetičara

Okrugli sto: Kadrovski i tehnološki kapaciteti i razvoj genetičkih istraživanja u BiH

PLENARNA PREDAVANJA

Predsjedništvo **Prof. dr. Rifat Hadžiselimović, naučni savjetnik**
Institut za genetičko inženjerstvo i
biotehnologiju, UNSA

Prof. dr. Kasim Bajrović, naučni savjetnik
Institut za genetičko inženjerstvo i
biotehnologiju, UNSA

Mr. Anja Haverić, viši stručni saradnik
Institut za genetičko inženjerstvo i
biotehnologiju, UNSA

GENETIKA U BOSNI I HERCEGOVINI – KRATAK PREGLED RAZVOJA

Berberović Lj.

Akademija nauka i umjetnosti BiH, Sarajevo

Ključne riječi: klasična istraživanja (mikroevolucija, populaciona genetika, citogenetika), visokoškolska nastava genetike, molekularna genetika i biotehnologija (institucije i istraživanja, nastanak i razvoj).

Klasična genetička istraživanja u Bosni i Hercegovini poslije drugog svjetskog rata bila su predstavljena uglavnom radovima iz širih oblasti poljoprivrede i stočarstva, sa temama pretežno aplikativnog karaktera. Počeci moderne fundamentalne genetike u BiH padaju u šezdesete godine prošlog vijeka, a vezani su za teme iz mikroevolucije puževa, citogenetike i hibridizacije riba, te kariologije nekih biljnih vrsta. Ubrzo su u okvirima bioantropoloških studija pokrenuta sistematska istraživanja populacijske genetike bosanskohercegovačkog stanovništva. Najveći dio svih pomenutih istraživanja izveden je u okviru Odjeljenja za genetiku i citotaksonomiju u Biološkom institutu Univerziteta u Sarajevu, koje je osnovano 1973. godine. Odjeljenje je realizovalo niz istraživačkih projekata finansiranih putem zajednice za nauku BiH, u saradnji sa Odsjekom za biologiju Prirodno-matematičkog fakulteta kao i sa drugim fakultetima bioloških nauka Univerziteta u Sarajevu.

Opšta (fundamentalna) genetika za studente biologije je kao zaseban predmet unesena u nastavni plan i program sarajevskog Prirodno-matematičkog fakulteta 1976. godine, dok je prije toga predavana u okviru predmeta „Organska evolucija sa genetikom“. Sa izdvajanjem visokoškolske nastave genetike u zaseban kurikulum, nastali su mnogo povoljniji uslovi za brže i uspješnije kadrovsko jačanje genetičke struke, kao i za povećanje obima i kvaliteta naučno-istraživačkog rada u toj oblasti.

Ključni korak za cjelokupan budući razvoj genetike u Bosni i Hercegovini bilo je osnivanje Centra (docnije Instituta, INGEB) za genetičko inženjerstvo i biotehnologiju (1988). Centar je nastao kao rezultat organizovane i koordinirane aktivnost brojnih naučnih, privrednih i društveno-političkih subjekata na pokretanju i institucionalizaciji istraživanja u oblasti molekularne genetike (1982.-1988.), pod vodstvom Akademije nauka i umjetnosti BiH. Ova višegodišnja kontinuirana aktivnost solidno je prikazana u publikaciji objavljenoj povodom dvadesetogodišnjice INGEB-a. Nju je pratio, a dijelom joj prethodio, niz naučno-popularnih, stručnih i žurnalističkih napisa o genetičkom inženjerstvu i biotehnologiji, koji su poslužili za informisanje šire kulturne i društvene javnosti o značaju tih novih sektora nauke i privrede za opšti društveno-ekonomski razvoj.

Kontakt: bhbiodiversity@yahoo.com

PRIMJENA MOLEKULARNE CITOGENETIKE I PROTOČNE CITOMETRIJE U ISTRAŽIVANJU PROCESA SPECIJACIJE I MIKROEVOLUCIJE KOD BILJAKA

Šiljak-Yakovlev S.^{1,2}, Bašić N.^{2,3}, Bogunić F.^{2,3}, Muratović E.², Pustahija F.^{1,2,3}

¹ Univ. Paris-Sud, Laboratoire Ecologie, Systematique, Evolution, Orsay, France

² Odsjek za biologiju, Univerzitet u Sarajevu, Prirodno-matematički fakultet, Laboratorija za proučavanje i zaštitu endemičnih resursa, Sarajevo, BiH

³ Šumarski fakultet, Univerzitet u Sarajevu, Sarajevo, BiH

Ključne riječi: B hromozomi, heterohromatin, hibridizacija, količina nuklearne DNK, organizacija ribozomalnih gena, poliploidija

Količina nuklearne DNK ili veličina genoma predstavlja jedan od važnih karaktera u istraživanjima genetike, evolucije i specijacije u okviru kompleksa bliskih vrsta kao i u evaluaciji biodiverziteta na širem planu. Protočna citometrija omogućava brz i precizan pregled veličine genoma, nivoa ploidijske, identifikaciju hibrida i detekciju malih ili pak značajnih razlika u količini DNK kako na inter-individualnom tako i na populacionom i inter-populacionom nivou. Tokom realizacije projekta „Baza podataka o količini DNK i broju hromozoma balkanske flore“, zahvaljujući primjeni širokog uzorka, otkriveno je prisustvo poliploidije, hibridizacije, aneuploidije, endoreduplikacije i B hromozoma u mnogim kompleksima vrsta. Najinteresantniji slučajevi su detaljnije studirani primjenom metoda molekularne citogenetike: fluorescentna *in situ* hibridizacija (FISH), za određivanje broja i lokacije dvije familije ribozomalnih gena (5S i 18S-5.8S-26S), i fluorohrom banding, za detekciju regiona DNK bogate G-C ili A-T bazama. Bit će prikazana neka ključna istraživanja sa primjerima različitih citogenetičkih mehanizama koji se odvijaju tokom adaptacije i specijacije kod odabranih kompleksa biljnih vrsta.

Kontakt: sonia.yakovlev@u-psud.fr

UPOTREBA GENETIČKI MODIFICIRANIH T LIMFOCITA U TRETMANU MELANOMA

Galić Z.

Department of Medicine, University of California, Los Angeles, SAD

Imunoterapija je medicinski tretman koji se bazira na potenciranju određenih funkcija imunog sistema u cilju eradikacije specifičnih oboljenja. Ovaj, uglavnom još uvijek eksperimentalan pristup je osobito atraktivan za tretman tumora, sa obzirom da kancerogena tkiva često koriste različite mehanizme kojima direktno i indirektno umanjuju i inhibiraju efekat imunog odgovora. T limfociti igraju ključnu ulogu u destrukciji kancerogenih ćelija u organizmu, a upravo je aktivnost ovih ćelija često kompromitovana kod pacijenata sa tumorima. Cilj našeg istraživanja je da uspostavimo imunoterapiju kojom bi se inducirala antitumorska citotoksična aktivnost T limfocita. Jedan od pristupa je da se poveća broj i afinitet T limfocita specifičnih za ćelije melanoma, koje koristimo kao eksperimentalni model u našem istraživanju. Ukratko, gen koji kodira T ćelijski receptor sa visokim afinitetom za antigen ćelija melanoma je putem virusnog vektora ubačen u T limfocite koji su izolovani iz pacijenata sa metastatičnom melanomom. Ove ćelije su nakon ekspanzije i aktivacije vraćene nazad u pacijente, a progresija tumora i prisustvo genetički modificiranih limfocita su praćeni putem analize krvi, PET imidžinga i biopsija tumora. Preliminarni rezultati na ograničenom broju pacijenata ukazuju na prvobitnu regresiju tumora, koja je praćena naknadnim rastom kancerogenog tkiva. Ovi rezultati ilustruju potencijal imunoterapije za tretman melanoma, ali isto tako ukazuju na prisustvo problema koje je potrebno prevazići da bi se postigla kompletna eradikacija kancerogenog tkiva. Alternativni imunoterapeutske pristupi za tretman melanoma koji uključuju korištenje matičnih ćelija krvi i embrionalne matične ćelije će također biti prezentirani.

Kontakt: z.galic@ucla.edu

PRENATALNA DIJAGNOSTIKA GENETIČKIH OBOLJENJA – MOGUĆNOSTI I PERSPEKTIVE

Bukvić D.¹, Jovičić D.², Bukvić N.³

¹ Opšta Bolnica Nikšić, Odjeljenje za Ginekologiju, Nikšić, Crna Gora

² Fakultet za primjenjenu Ekologiju "Futura", Univerzitet "Singidunum", Beograd, Srbija

³ Azienda Ospedaliero-Universitaria, Dipartimento di Diagnostica di Laboratorio - 2° Laboratorio, Sezione di Citogenetica e Biologia Molecolare, Foggia, Italia

Ključne riječi: prenatalna dijagnostika, genetička oboljenja, genetičko savjetovalište

Sposobnost detekcije fetalnih anomalija predstavlja interes prenatalne dijagnostike koja podrazumjeva sve instrumentalne, laboratorijske i kliničke procedure/tehnike koje se koriste u toku trudnoće od momenta koncepcije do momenta neposredno prije rođenja. U isto vrijeme ona predstavlja i prihvatljivu opciju odabranu od strane velikog broja parova iz grupe onih koji imaju visok rizik za dobijanje djeteta sa ozbiljnim nasljednim oboljenjem. Donedavno, ovi parovi su bili "prisiljeni" da jednostavno prihvate pomenuti visoki rizik ili da razmotre neki drugi vid reproduktivnih opcija (kontracepcija, sterilizacija, prekid trudnoće itd.). Današnje mogućnosti da napravimo ranu dijagnozu velikog broja genetičkih oboljenja, najvećim djelom vrlo teških, predstavlja važan vid prevencije. Dakle, prenatalna dijagnostika je značajno promjenila genetičko savjetovanje i reproduktivno ponašanje ovih parova.

Fokus ovog rada je da prikaže praktični aspekt prenatalne dijagnostike, tehnike koje danas stoje na raspolaganju (invazivne i neinvazivne) te da razmotri moguće indikacije za svaku od tih metoda. Poseban osvrt će biti dat, sa aspekta specijaliste medicinske genetike, važnosti i procedura u genetičkom savjetovalištu, odabiru i izvođenju dijagnostičkih procedura sa naročitom pažnjom na genetičke tehnike (citogenetičke, tehnike molekularne citogenetike, te tehnike molekularne genetike) imajući u vidu kliničku važnost, dijagnostičke mogućnosti i rizik za trudnoću.

Upotreba gore pomenutih metoda otvara i neka etička pitanja, kao što je pitanje selektivnog prekida trudnoće (kompleksan i emotivno težak) na bazi abnormalnosti uočenih na fetusu kao i onih koji se odnose na autonomna i individualna prava. Ne smijemo zaboraviti činjenicu da kako roditelji imaju prava, zajedno sa zdravstvenim radnicima, tako i fetus ima prava, ali nažalost ne i način da ih iskaže i ostvari.

Kontakt: nenadbukvic@virgilio.it

PRIMJENA SSR MARKERA U RADU SA GERMLAZMOM AUTOHTONIH VOĆAKA U BIH

Kurtović M.¹, Gaši F.¹, Drkenda P.¹, Salkić B.², Skender A.³, Hadžiabulić S.⁴, Maličević A.¹

¹ Poljoprivredno-prehrambeni fakultet, Sarajevo

² Voćni rasadnik "Srebrenik", Špionica

³ Biotehnički fakultet, Bihać

⁴ Agromediteranski fakultet, Mostar

Ključne riječi: molekularni markeri, fenotipski markeri, mikrosateliti, SSR, autohtona germplazma

Upotreba molekularnih markera u analizi germplazme poljoprivrednih kultura predstavlja dobro ispitan, a u posljednjoj deceniji, čak i standardan pristup u radu sa ovim tipom materijala. S obzirom na dužinu vremenskog perioda, od sadnje do pune rodosti, koji je neophodan da pojedine voćarske kulture u potpunosti ispolje svoje specifične morfološke karakteristike, primjena molekularnih markera u identifikaciji i karakterizaciji, kao metode koja ne ovisi o stadiju razvoja i fenofazi analizirane biljke, znatno je praktičnija od primjene fenotipskih markera. Iz skupine molekularnih markera koji se koriste za navedene analize, posebno mjesto zauzimaju mikrosatelitski markeri, koji zbog svoje robustnosti, reproducibilnosti i pouzdanosti često predstavljaju najprimjereniji molekularni alat. U ovom radu dat je pregled naših dosadašnjih aktivnosti, obavljenih primjenom SSR markera na germplazmu autohtonih voćaka u BiH, i to na kultivarima smokve, jabuke, šljive, kestena i kruške. Takođe, predstavljene su i planirane aktivnosti, iz ove oblasti, na ovim kulturama, ali i na nekim novim iz grupe jagodastog voća. Pregled dosadašnjih aktivnosti obuhvaća i praktična iskustva stečena primjenom SSR markera na prethodno nabrojanim kulturama, kao i preporuke za istraživače koji žele primjeniti SSR markera na sličnom materijalu.

Kontakt: fudo01@yahoo.com

PROTEINI TOPLOTNOG STRESA (HSP) – STRUKTURA I ULOGA

Vidović S., Vulić I.

Katedra za humanu genetiku, Medicinski fakultet, Banja Luka, BiH

Ključne riječi: stres, proteini toplotnog stresa, Hsp, glukokortikoidni receptor, šaperoni

Sve žive ćelije odgovaraju na različite tipove stresa povećavanjem transkripcije specifičnih gena koji kodiraju klasu proteina nazvanih proteini toplotnog stresa (*Heat shock proteins - Hsp*). Stresni proteini predstavljaju filogenetski konzerviranu grupu ćelijskih proteina, koji su konstitutivno prisutni u normalnim uslovima, a njihova sinteza može biti indukovana pod djelovanjem različitih stresogenih uslova. Taj odgovor predstavlja prolazno reprogramiranje ekspresije gena i biološke aktivnosti, i služi da zaštiti osjetljive ćelijske komponente od oštećenja i pomogne u brzom oporavku poslije uklanjanja ili prestanka djelovanja stresa.

Glukokortikoidni hormoni ulaskom u ciljnu ćeliju vezuju se za solubilne receptorske proteine koji podliježu procesu aktivacije ili transformacije. Aktivirani kompleks hormon-receptor intereaguje sa elementima DNK, kao evolutivno očuvanim sekvencama lociranim u blizini promotora, koji odgovaraju na glukokortikoide aktivacijom ili inhibicijom transkripcije. Glukokortikoidni receptor u uslovima stresa se akumulira u jedrima ćelija i pokazuje aktivnost transkripcionog faktora, čak i u odsustvu hormona. Proteini Hsp su sastavni dio multiproteinskog kompleksa netransformisanog receptora (Hsp70), čija koncentracija se povećava u uslovima stresa, a imaju značaja u očuvanju biološke aktivnosti receptora.

Proteini stresa funkcionišu kao molekularni šaperoni koji vode savijanje, sastavljanje, translokaciju i degradaciju proteina. Kombinacija konstitutivnih šaperona i proteina toplotnog stresa ili drugih proteina indukovanih stresom modulira sredinu u kojoj se proteini savijaju i povezuje procese signalizacije u stresu sa proteinskom homeostazom. Zato ne iznenađuje da su brojna patološka stanja, kao što su rak, neurodegenerativne i kardiovaskularne bolesti povezana sa brojnim mutiranim i pogrešno savijenim proteinima koji prevazilaze ili deregulišu aktivnost šaperona.

U poslednje vrijeme sve više se primjenjuju razni preparati koji stimulišu sintezu Hsp proteina poslije napornih treninga u raznim vrstama sporta u cilju brzog oporavka mišićnih ćelija.

Kontakt: vstojko@gmail.com

PRISTUPNI MODELI U IDENTIFIKACIJI GENA U OLIGOGENSKOM I POLIGENSKOM MODELU NASLJEĐIVANJA

Kapur-Pojškić L., Hadžiselimović R.

Institut za genetičko inženjerstvo i biotehnologiju, Univerzitet u Sarajevu

Ključne riječi: GWAS, psihoza, PTSD, kompleksne osobine

Veliki broj kvantitativnih osobina su u svojoj osnovi kompleksne etiologije. To znači da je za njihovu realizaciju neophodno, ali ne i presudno postojanje genetičkog faktora. Stoga identifikacija i karakterizacija gena uključenih u odabrani model nasljeđivanja predstavlja poseban izazov u savremenoj genetici.

Genomske asocijacijske studije (GWAS) najuspješniji su model identifikacije odgovornih gena u oligogenskim i poligenkim modelima nasljeđivanja. Ovaj pristup ipak zahtijeva temeljito poznavanje biologije istraživanog fenomena kako bi se eliminirala mogućnost identifikacije lažno pozitivnih signala.

Ovaj rad ima za cilj prezentaciju najeklatantnijih primjera primjene ove strategije u identifikaciji gena za najčešća oboljenja kod čovjeka. Pristup je ipak univerzalan i primjenjiv u procesu determinacije pojedinačnih udjela većeg broja genetičkih faktora u istraživanju kompleksnih (kvantitativnih, poligenkih) bioloških fenomena.

Kontakt: lejla.kapur@ingeb.ba

MITOHONDRIJSKA GENOMIKA I ENERGETSKI METABOLIZAM PORIFERA

Lukić-Bilela L.^{1,2,3}

¹ Odsjek za biologiju, Prirodno-matematički fakultet, UNSA, BiH

² INGEb, Sarajevo, BiH

³ Biospeleološko društvo u Bosni i Hercegovini (BIOSPELD), Sarajevo, BiH

Ključne riječi: Porifera, mitohondrijska DNA (mtDNA), genomika, evolucija

Spužve (Porifera) su jedna od najjednostavnijih skupina višestaničnih životinja, bez organskih sustava i pravih tkiva koje posjeduju Eumetazoa. Odlikuje ih izniman stanični motilitet i totipotentnost te sposobnost stalnog remodeliranja i regeneracije.

Fosilni tragovi spužava nađenih u sedimentnim stijenama Arabijskog poluotoka datiraju iz kasnog Prekambrija, starosti 635-750 milijuna godina. Usprkos jednostavnoj građi, ustanovljena je iznenađujuća složenost genoma te velika sličnost između sačuvanih gena/proteina spužve i čovjeka. Bazalni položaj u filogenetskom stablu Metazoa i posjedovanje brojnih gena koji u odvedenim višestaničnim životinjama kodiraju važne proteine, sudionike fundamentalnih staničnih procesa, razlog su korištenja spužava kao modelnih organizama u brojnim molekularno-genetičkim studijama.

Mitohondrije su organele specijalizirane za proizvodnju energije u eukariotskim stanicama, porijekla od endosimbiontskih α -proteobakterija. Kod spužava su pretežito locirane oko kanala obloženih hoanocitama, gdje se odvija i najveća produkcija adenozin-trifosfata (ATP). Mitohondrijski geni se intenzivno koriste u populacijsko-genetičkim studijama i filogenetskim analizama zbog visoke stope nukleotidnih promjena posebno prisutnih u mitohondrijskim genomima životinja.

Postoje značajne razlike u arhitekturi mitohondrijskih genoma i sastavu gena. Istraživanjem mitohondrijske DNA (mtDNK) najjednostavnijih višćelijskih organizama stječu se nove spoznaje o ranim fazama evolucije mitohondrijskih genoma. S obzirom na kompaktnost u organizaciji genoma, reducirani genski sastav, odsustvo introna i sačuvanost u redoslijedu gena, mtDNA Porifera pokazuje obilježja mitohondrijskog genoma karakterističnog za mnogostanične životinje. No, mtDNA spužava pokazuje i nekoliko ancestralnih odlika, poput prisustva dodatnih gena (*atp9*), brojnih i dugih intergenskih regija, minimalno izmijenjenog genetičkog koda te strukture gena za rRNA i tRNA sličnih onima iz bakterija.

Stoga je evidentno evolucija tipičnog animalnog mitohondrijskog genoma višestupanjski proces, gdje je do postizanja kompaktnosti u organizaciji genoma i smanjivanja broja gena došlo prije redukcije tRNA i rRNA struktura i uvođenja daljih promjena u upotrebi genetičkog koda.

Kontakt: lada.lukic@ingeb.ba

ANALIZA GENETSKIH VARIJACIJA U DIJAGNOZI I TERAPIJI TIPA 2 DIJABETESA I METABOLIČKOG SINDROMA

Semiz S.¹, Dujić T.¹, Bego T.¹, Ostanek B.², Prnjavorac B.^{1,3}, Malenica M.¹, Mlinar B.², Marc J.² Jevrić-Čaušević A.¹

¹ Katedra za biohemiju i kliničke analize, Farmaceutski fakultet, Univerzitet u Sarajevu, BiH

² Katedra za kliničku biohemiju, Farmaceutski fakultet, Univerzitet u Ljubljani, Slovenija

³ Opšta bolnica Tešanj, BiH

Ključne riječi: farmakogenetika, dijabetes, metabolički sindrom, genetski polimorfizam, enzimi koji metaboliziraju lijekove, receptori, metabolizam

Etničke i individualne genetske varijacije značajno doprinose u razvoju Tipa 2 diabetes mellitusa (T2DM), metaboličkog sindroma (MetS), kao i razlikama u odgovoru na terapiju ovih kompleksnih poremećaja. Analiza genetskih polimorfizama na nivou enzima koji metaboliziraju lijekove, transportera i receptora koji učestvuju u dispoziciji lijekova, ima veliki potencijal u primjeni efikasnih i sigurnih lijekova u terapiji T2DM, MetS i njihovih kardiovaskularnih komplikacija.

U ovoj studiji smo prvi put u populacionoj grupi iz Bosne i Hercegovine (BiH) karakterizirali specifične genetske varijacije enzima koji metaboliziraju lijekove, citohrom P450 (CYP), te varijacije drugih gena kandidata, uključujući PPARG, LIPIN 1 i HSD11B1, koji imaju značajnu ulogu u djelovanju oralnih antidijabetika, metabolizmu lipida ili diferencijaciji adipocita. U našoj studiji je učestvovalo 76 pacijenata Opšte bolnice Tešanj sa dijagnosticiranim T2DM ili MetS, te 37 zdravih kontrola. U cilju detekcije navedenih polimorfizama, korištena je RT-PCR analiza uz aplikaciju specifičnih TaqMan SNP testova (*Applied Biosystems*) ili metoda taljenja DNK visoke rezolucije. Rezultati naše studije su pokazali da je frekvencija svih mutiranih alela, osim CYP2C9*2, kod BiH populacije u skladu sa ranije objavljenim podacima o genotipu bjelaca. Međutim, nije primjećena signifikantna razlika u frekvenciji svih ispitivanih alela između T2DM, MetS pacijenata i kontrolnih ispitanika. Naši rezultati su također pokazali da su polimorfizmi HSD11B1, LIPIN1 i PPARG povezani sa nivoom inzulina, HDL, LDL i ukupnog holesterola u krvi pacijenta, kao i specifičnim antropometrijskim parametrima, sugerirajući potencijalnu ulogu ovih gena u patogenezi T2DM i MetS. Interesan je uočeni zaštitni uticaj specifičnih polimorfizama PPARG i HSD11B1 gena na metabolički fenotip.

Navedene analize je neophodno uraditi kod znatno većeg broja pacijenata da bi se uočila potencijalna veza između genetskih varijanti i rizika razvoja dijabetesa i metaboličkog sindroma kod BiH populacije. Naši rezultati također ukazuju na značaj analize genetskih varijacija kod specifičnih etničkih skupina, te ova i slične buduće studije mogu bitno uticati na primjenu farmakogenetike i personaliziranih lijekova u kliničkoj praksi u BiH.

Kontakt: sabinasemiz@hotmail.com

NOVI TRENDVI U MOLEKULARNOJ DIJAGNOSTICI HEMATOLOŠKIH OBOLJENJA

Kozarić A.

Klinički Centar Univerziteta u Sarajevu, OJ Klinička patologija i citologija, Sarajevo

U zadnjih 30 godina postaje sve evidentnije da molekularna genetska dijagnostika u medicini je od kritične važnosti za dijagnosticiranje, prognozu bolesti i pružanje efektivne terapije. Ogromna količina informacija o genetskim, genomskim i proteomskim profilima raznih bolesti se akumulira, tako da razumijevanje molekularne osnove tih bolesti postaje nužno za pružanje terapijske usluge pacijentima. Većina hematoloških oboljenja zahtijeva citogenetsku i molekularnu dijagnostiku. Osim dijagnosticiranja bolesti, citogenetske i molekularne analize daju i prognozu bolesti (preživljenje) i upotrebu određene terapije. U ovom predavanju govorićemo o standardnim molekularnim testovima kao i novim testovima nužnih za dijagnosticiranje hematoloških oboljenja.

Kontakt: amina.kurtovic@gmail.com

TRI STOLJEĆA HUMANIH POPULACIONO GENETIČKIH ISTRAŽIVANJA U BIH

Marjanović D.

Institut za genetičko inženjerstvo i biotehnologiju, Univerzitet u Sarajevu

Ključne riječi: populaciona genetika, genetički marker, “bosansko genetičko blago”

Moderna Bosna i Hercegovina predstavlja multireligijsku i multietničku državu sa izuzetno burnom poviješću. Određeni arheološki nalazi sugeriraju da je njen teritorij kontinuirano naseljen još od odoba Paleolitika. Tokom tog vremena, zajedničkim djelovanjem različitih faktora oblikovan je biološki diverzitet recentne bh. humane populacije. Prisustvo relativno velikog broja manje ili više izoliranih lokalnih populacija promoviralo je lokalno stanovništvo kao izuzetno zanimljiv predmet populaciono-genetičkih istraživanja najširega spektra. Kao prva zvanično zavedena antropološka studija javlja se ispitivanje koje su sproveli austrijski ljekari još krajem 19. stoljeća. Na osnovu dobivenih rezultata ovo istraživanje se uistinu može uzeti kao inicijalni momenat “razotkrivanja” genetičke strukture bosanskohercegovačkoga stanovništva. Nakon toga je sproveden čitav niz zanimljivih istraživanja koja su se u svojim ranijim fazama zasnivala prvenstveno na observaciji fenotipskih karakteristika. U novije vrijeme realiziran je veliki broj studija koji je ispitivao “bosansko genetičko blago” primjenom velikoga broja molekularnih markera. No, čak i danas, nakon svih tih populaciono-genetičkih “skrininga” Bosna i Hercegovina i dalje krije veliki broj “genetičkih unikata” koji čekaju da budu otkriveni i opisani.

Kontakt: damir.marjanovic@ingeb.ba

Sesija

OPĆA GENETIKA

Predsjedništvo

Prof. dr. Sonja Šiljak-Yakovlev
Univ. Paris-Sud, Laboratoire Ecologie, France

Doc. dr. Adisa Ahmić
Prirodno-matematički fakultet, UNTZ

Dr. Sanin Haverić, naučni saradnik
Institut za genetičko inženjerstvo i
biotehnologiju, UNSA

GENEKOLOŠKI ASPEKTI KONZERVACIJE UGROŽENOG GENOFONDA (BOSNA I HERCEGOVINA, BALKANSKI POLOTOK)

Redžić S.^{1,2}

¹ Akademija nauka i umjetnosti BiH, Sarajevo

² Prirodno-matematički fakultet, Univerzitet u Sarajevu

Ključne riječi: genogeografija, genekologija, genekografija, genetički resurs, ugroženi genofond, flora, fauna, fungia

Genofond sadržan u mnogim taksama biljaka, gljiva i životinja danas je veoma ugrožen. To su procjene mnogih relevantnih međunarodnih tijela, kao što je Međunarodna unija za zaštitu prirode (IUNC). Gubitak biodiverziteta na svim nivoima, danas je ključni okolinski i ekološki problem. Podjednako sa lica Zemlje nestaju vrste u divljini (na njihovim prirodnim staništima) kao i domestificirane vrste biljaka i životinja (genetički resursi). Kao glavni do sada prepoznati razlozi takvim trendovima su: (i) konverzija prirodnih staništa (ii) globalne promjene i (iii) genetičko zagađenje koje uvjetuje stanovitu genetičku eroziju. To nameće potrebu razvoja metoda i obrazaca takvog upravljanja koje će rezultirati efikasnijom zaštitom kako ugroženog tako i ranjivog genofonda. U cilju postizanja zadovoljavajućih rezultata neophodno je identificirati oblike zaštite. To su: (i) konzervacija i (ii) restauracija. Danas su na sceni dva ključna oblika konzervacije: (i) konzervacija u *in situ* i (ii) konzervacija u *ex situ* uvjetima. Biodiverzitet Bosne i Hercegovine je dobar primjer za procjenu konzervacijskog statusa i determinaciju mjera efikasnije zaštite. Ugroženi biodiverzitet biljaka se diferencira na: (i) floru na prirodnim staništima i (ii) biljne genetičke resurse (domesticirane biljne vrste). Glavni razlozi ugroženosti u prirodnim uvjetima su degradacija staništa i dezintegracija areala. Ključne posljedice takvog stanja su dezintegracija prirodnih populacija i nemogućnost fluktuacije gena potrebne za osiguranje kontinuiteta organske vrste, te značajno smanjenje stope rekombinacija koje utiču na smanjenje varijabilnosti, a samim tim bitno reduciraju i adaptivnu vrijednost genetičkih sistema. Kao primjeri mogu poslužiti konkretne populacije endemičnih i ugroženih vrsta (*Alyssum moelendorffianum*, *Thymus aureopunctatus*, *Acinos orontium*, *Halacsya sendtneri*, *Soldanella alpina*, *Dryas octopetala*). Na primjerima navedenih taksona demonstrirana je vjerovatnoća protoka gena u nasilno razdvojenim dijelovima populacija kao jednog od ključnih indikatora za procjenu totalne ugroženosti.

Biljni genetički resursi su danas najugroženija kategorija biodiverziteta. To je naročito izraženo u BiH i širem ekološko-geografskom okruženju. Osim što su izgubljene mnoge izvorne linije biljaka koje se koriste u dobijanju hrane, nestali su i njihovi brojni potomci. Iz ove kategorije u BiH je utvrđeno 124 vrste (povrće, voće, ukrasne, ljekovite i začinske biljke). Zaštita ovog genofonda nalaže razvoj efikasnih mjera *ex situ* konzervacije (taksonomska identifikacija, ekološka kategorizacija, formiranje baza podataka, procjena i determinacija genetičkih potencijala, procjena stupnja ugroženosti, identifikacija prioriteta konzervacije, formiranje banaka gena na bazi „germplazme“, mogućnosti selekcije adaptibilnijih genotipova konkretnim uvjetima staništa, te reintrodukcija kritično ugroženih oblika).

Efikasna *in situ* konzervacija podrazumjeva: (i) konzervacijski „screening“ flore na regionalnom, nacionalnom i lokalnom nivou, (ii) identifikaciju potencijalno ugroženih taksona, (iii) procjenu konzervacijskog statusa (formiranje tzv. „crvene liste“ biljaka), te (iv) razvoj mjera za zaustavljanje negativnih trendova u prirodnim populacijama.

Za procjenu konzervacijskog statusa od osobitog značaja je determinacija ekološkog i genetičkog reprodukcijskog kapaciteta, procjena najmanje populacije koja može generirati dovoljnu količinu gena i njihov protok u prirodnim uvjetima. Kao prvi korak postizanju naprijed definiranih potreba i ciljeva je „crvena lista“ koju treba bazirati u prvom redu na genekološkim osnovama. U postizanju takvog cilja neophodan je multidisciplinarni pristup iskazan kroz savremene grane konzervacijske ekologije i genetike, kao i drugih disciplina konzervacijske biologije.

Kontakt: sredzic@pmf.unsa.ba

UTICAJ KLIMATSKIH PROMJENA NA ŽIVI SVIJET I NJEGOVU GENETIČKU STRUKTURU

Kazić A.

Institut za genetičko inženjerstvo i biotehnologiju, Univerzitet u Sarajevu

Ključne riječi: genetički diverzitet, invazivne i native vrste, genetička varijabilnost, arhivske kolekcije

Trenutni pravci globalnih klimatskih promjena mogu imati izražen efekat na biodiverzitet globalnog, regionalnog i lokalnog nivoa. To se ogleda kako kroz promjene diverziteta ekosistema i vrsta, tako i kroz genetički diverzitet, odnosno genetičku strukturu živog svijeta kao nasljedne osnove svakog organizma. Fragmentacija populacija i genetički drift najčešće vode ka smanjenju genetičke varijabilnosti i heterozigotnosti, što nadalje vodi ka homogenizaciji genetičke strukture populacija i vrste, odnosno smanjenju genetičkog diverziteta i adaptivne vrijednosti pojedinih organizama.

Nedvojbeno je da će efekat klimatskih promjena biti drugačiji na vrste koje su sesilne ili mobilne, odnosno vrste sa uskom i širokom ekološkom valenom. Invazije vrstama i podvrstama, uzrokovane klimatskim promjenama i često u kombinaciji sa antropogenim faktorom, utiču kako na genetički diverzitet tako i na diverzitet vrsta. Na samom početku invazije, često dolazi do kratkoročnog povećanja lokalnog i regionalnog biodiverziteta, ali veoma brzo iza toga do njegovog pada (najčešće "na račun" nativnih vrsta i podvrsta), što se očituje padom biodiverziteta ne samo na lokalnom i regionalnom nivou, već i na globalnom nivou.

Istraživanjem biogeografije i genetičke strukture biljaka i životinja iz arhivskih kolekcija moguće je dobiti vitalne informacije o njihovom rasprostranjenju i genetičkom nasljednom materijalu karakterističnom u prošlosti - 5, 10, 50 ili 100 godina ranije. Takve spoznaje nam mogu biti značajni pokazatelji promjena koje su se desile u posljednjih nekoliko godina ili decenija na određenom geografskom području, indicirajući moguće efekte klimatskih promjena na lokalnom i regionalnom nivou za pojedine vrste. Nadalje, u kombinaciji sa proučavanjem paleontološkog materijala, moguće je da dobijemo detaljnije informacije o biotičkom odgovoru na globalne klimatske promjene, odnosno efektima klimatskih promjena iz prošlosti.

Kontakt: amra.kazic@ingeb.ba; amrakazic@hotmail.com

POLIMORFIZMI MITOHONDRIJALNE DNK U LOKALNIM LJUDSKIM POPULACIJAMA TUZLANSKE REGIJE

Ahmić A.¹, Pojskić N.², Hadžiselimović R.^{2,3}, Silajdžić E.², Kalamujić B.², Bajrović K.²

¹ Prirodno-matematički fakultet, Univerzitet u Tuzli

² Institut za genetičko inženjerstvo i biotehnologiju, Univerzitet u Sarajevu

³ Prirodno-matematički fakultet, Univerzitet u Sarajevu

Ključne riječi: polimorfizmi mtDNK, zapadno-evroazijske mtDNK haplogrupe, haplogrupno-specifični PCR-RFLP markeri, genetička diferencijacija, genetička distanca, genetička homogenost

Polimorfizmi mtDNK determinisani u terminima mtDNK haplogrupa analizirani su u uzorku bosansko-hercegovačke populacije sa prostora tuzlanske regije. Analiza je obuhvatila ukupno 245 mtDNK uzoraka (rodbinskih nesrodnih individua) iz 13 općina: Tuzla, Živinice, Banovići, Kladanj, Gradačac, Gračanica, Kalesija, Srebrenik, Doboj-Istok, Čelić, Sapna i Teočak. Kategorizacija polimorfizama mtDNK je izvršena primjenom haplogrupno-specifičnih PCR-RFLP markera kodiranog regiona mtDNK. Analiza promatranih haplogrupno-specifičnih markera je pokazala da skoro svi analizirani uzorci mtDNK (95,11%) pripadaju zapadno-evroazijskim mtDNK haplogrupama, odnosno identifikovano je svih devet zapadno-evroazijskih mtDNK haplogrupa: H, V, T, I, J, K, U, X i W. Odsustvo statistički značajne genetičke diferencijacije, odsustvo statistički značajnih razlika u frekvenciji mtDNK haplogrupa i male vrijednosti genetičke distance ukazale su na genetičku homogenost svih 13 populacija ovog bosansko-hercegovačkog područja u terminima identifikovanih mtDNK haplogrupa. Osobenost populacija tuzlanske regije u odnosu na promatrane evropske populacije ističe se u blago povećanoj frekvenciji paleolitske haplogrupe H i autohtone evropske haplogrupe V.

Kontakt: adisa.ahmic@untz.ba

ANALIZA GENETIČKE HETEROGENOSTI LOKALNIH LJUDSKIH POPULACIJA TUZLANSKOG KANTONA S OBZIROM NA KOMPLEKS OD DESET KVALITATIVNIH FENOTIPSKIH SVOJSTAVA

Hamidović H., Hadživadić V., Ahmić A.

Prirodno - matematički fakultet, Univerzitet u Tuzli, BiH

Ključne riječi: genetička distanca, genetička struktura, faktori genetičke heterogenosti

Analizirana je genetička heterogenost šest lokalnih ljudskih populacija sa područja Tuzlanskog kantona (Džakule, Međiđa Donja, Banović Selo, Bašigovci, Stupari i Teočak), s obzirom na deset kvalitativnih fenotipskih svojstava (oblik ušne resice, savitljivost lateralnih rubova jezika u žlijeb, savitljivost jezika unazad, hiperekstenzibilnost proksimalnog i distalnog zgloba palca, defektno viđenje crvene i zelene boje, digitalni indeks, dlakavost srednje digitalne falange i savitljivost distalne falange malog prsta). Analizirani podaci prikupljeni su neposrednim posmatranjem i anketiranjem učenika osnovnoškolskog uzrasta. Obrada podataka je obuhvatila procjenu učestalosti recesivnih fenotipova za svako posmatrano svojstvo po lokalitetima, analizu Wahlundove varijanse, analizu kompleksne genetičke distance, analizu međupopulacijske genetičke distance s obzirom na ukupno posmatrani kompleks od deset kvalitativnih fenotipskih svojstava, te analizu prosječne genetičke distance i nekih mogućih faktora genetičke heterogenosti. Na osnovu dobivenih vrijednosti genetičke udaljenosti među posmatranim populacijama može se zaključiti da se radi o relativno niskom stepenu genetičke heterogenosti. Analizom genetičke distance deset fenotipskih svojstava u izučavanim populacijama Tuzlanskog kantona utvrđena je najniža genetička distanca između populacija Banović Selo i Teočak, a najviša između populacija Međiđa Donja i Bašigovci.

Kontakt: hajrija.hamidovic@untz.ba

ORGANIZACIJA I VELIČINA GENOMA KOD FAKULTATIVNE SERPENTINOFITE *NARCISSUS POETICUS* L.

Pustahija F.^{1,2,3}, Šolić E. M.⁴, Međedović S.², Šiljak-Yakovlev S.^{1,3}

¹ Univ. Paris-Sud, Laboratoire Ecologie, Systematique, Evolution, Orsay, France

² Šumarski fakultet, Univerzitet u Sarajevu, BiH

³ Odsjek za biologiju, Univerzitet u Sarajevu, Prirodno-matematički fakultet, Laboratorija za proučavanje i zaštitu endemičnih resursa, Sarajevo, BiH

⁴ Institut "Planina i more", Makarska, Hrvatska

Ključne riječi: *Narcissus poeticus*, B hromosomi, triploid, hromosomalna translokacija, FISH, fakultativna serpentinofita

Bijeli narcis (*Narcissus poeticus* L.) je nativan u JZ i JI Europi gdje pretežno raste na krečnjačkom supstratu. Ova vrsta predstavlja jednu od fakultativnih serpentinofita na području Bosne i Z Srbije. Bulbusi su sakupljeni u 13 prirodnih populacija u Bosni i Hercegovini, Hrvatskoj i Srbiji: tri na serpentinskim i deset na krečnjačkim podlogama (četiri na kontinentalnim planinskim i subalpinskim livadama, četiri na kraškim poljima i dvije na primorskim planinskim livadama). Kariotip i organizacija heterohromatina i ribosomalnih gena su analizirani fluorohrom bandingom (CMA - hromomicin A3, DAPI - 4',6 diamino-2-fenilindol, Hoechst 33258) i dvostrukim FISH (*Fluorescentna In Situ Hibridizacija*) eksperimentom uz korištenje 18S-5.8-26S i 5S rDNK proba. Veličina genoma je određivana pomoću protočne citometrije. U svim istraživanim populacijama je uočen hromosomski broj $2n=14$. Populacije koje obitavaju u stresnim okolišnim uvjetima se karakterišu interindividualnom varijabilnošću, nastalom usljed prisustva prekobrojnih hromosoma (B hromosomi), triploida, hromosomalnih translokacija i variranja u broju pruga konstitutivnog heterohromatina. Jedan do tri B hromosoma su uočeni u devet istraživanih populacija i predstavljaju tri morfotipa i četiri obrasca GC bogatih regiona i 18S ribosomalnih gena. Aktivnost 18S ribosomalnih gena na B hromosomima potvrđena je sa bojenjem nukleolusa srebrenim nitratom. Dvije populacije (serpentinska i kraška) su posjedovale triploidne individue, dok su jedinke sa hromosomalnim translokacijama pronađene u krajnje kontrastnim populacijama: subalpskoj i dvjema serpentinskim. Veličina genoma za diploide se kretala u dijapazonu od 23.97 do 25.84 pg, za diploide sa B hromosomima od 24.31 do 26.86 pg, za triploide od 34.51 do 35.32 pg, dok je triploidna jedinka sa 3 B hromosoma imala $2C=38.80$ pg. Ova studija podržava hipotezu da jedinke koje preživljavaju u atipičnim prirodnim habitatima često generiraju B hromosome i veće nivoe ploidijske, što može predstavljati određene adaptivne prednosti. Dobiveni rezultati podstiču na detaljnija istraživanja o mogućoj ulozi B hromosoma i dodatnih lokusa ribosomalnih gena u procesima adaptacije i specijacije.

Kontakt: fspustahija@yahoo.com

ANTROPOMETRIJSKA MJERENJA NOVOROĐENČADI NA PODRUČJU OPŠTINE BOSANSKA KRUPA

Šarić I.¹, Murić I.¹, Bećiraj A.¹, Dekić R.²

¹ Biotehnički fakultet, Bihać

² Prirodno – matematički fakultet, Univerzitet u Banja Luci

Ključne riječi: antropologija, novorođenčad, kvantitativne osobine

Sve osobine koje nas čine jedinstvenim i različitim od drugih su u prvom redu posljedica djelovanja faktora nasljeđivanja, ali pod uticajem određenih uslova sredine. Mjerenja u antropologiji su polazne osnove za istraživački rad i dokazivanje uticaja nasljednih i sredinskih faktora na ekspresivnost gena u neku konkretnu osobinu. U ovom radu analizirane su metričke osobine novorođenčadi sa područja opštine Bosanska Krupa. Praćeni su slijedeći parametri: tjelesne masa, tjelesne dužina, obimi glava i obimi grudi novorođenčadi. Analizirane su srednje vrijednosti i koeficijenti korelacije u odnosu na redni broj poroda, mjesto življenja majki i godine starosti majki. Statistička obrada podataka je ukazala na to da različiti faktori, uz pretpostavljena dejstva, imaju značaj na ispoljavanje posmatranih osobina novorođenčadi.

Kontakt: saricirma@hotmail.com

MIKRONUKLEUS ESEJ U ČELIJAMA EPITELA BUKALNE SLUZNICE – UČEŠĆE U HUMN_{XL} KOLABORATIVNOM PROJEKTU

Haverić A., Rahmanović A., Haverić S.

Institut za genetičko inženjstvo i biotehnologiju, Univerzitet u Sarajevu

Ključne riječi: mikronukleusi, genotoksični i citotoksični efekti, genotoksikološki monitoring

Mikronukleusi kao biomarkeri genotoksičnosti se uspješno analiziraju u humanim limfocitima periferne krvi od 1985. Vremenom je izvorna metoda njihove primjene višekratno nadograđivana, pružajući veći broj informacija o genotoksičnim i citotoksičnim efektima. S obzirom na efikasnost ovog metoda u kulturi humanih limfocita citogenetičari i genotoksikolozi već godinama nastoje optimizirati metode analiziranja mikronukleusa i drugih efekata genotoksičnosti i citotoksičnosti u drugim tipovima ćelija, posebno onih kod kojih je posmatranje hromosoma otežano. U normalnim fiziološkim uslovima ćelije epitela bukalne sluznice predstavljaju prvu barijeru štetnim agensima i patogenima pri njihovom prodiranju u respiratorni i digestivni trakt. Iako je primjena mikronukleus eseja u epitelnim ćelijama bukalne sluznice prilikom genotoksikoloških monitoringa humanih populacija, tokom posljednje decenije postala učestala u brojnim istraživačkim laboratorijama, jedinstven protokol nije uspostavljen do pojave međunarodnog kolaborativnog projekta Micronucleus frequency in human exfoliated cells (HUMN_{XL}). U ovom radu će biti prezentirani rezultati komparativne analize parametara genotoksičnosti i citotoksičnosti u ćelijama epitela bukalne sluznice nakon bojenja giemskom i akridin oranžom, te praktični doprinos Laboratorije za citogenetiku i genotoksikologiju u HUMN_{XL} projektu. Mikronukleus esej u ćelijama epitela bukalne sluznice predstavlja jednostavan, brz, senzitivan, pouzdan i jeftin metod u genotoksikološkim monitorinzima. Može se preporučiti njegova primjena u komparativnim genotoksikološkim studijama i monitorinzima populacija za koje je suspektna izloženost genotoksičnim efektima u životnoj sredini.

Kontakt: sanin.haveric@ingeb.ba

**BAZA PODATAKA O VELIČINI GENOMA I BROJU HROMOSOMA VRSTA BALKANSKE FLORE –
PRVI KORAK U EVALUACIJI BIODIVERZITETA I KONZERVACIJI –**

Šiljak-Yakovlev S.^{1,2}, Pustahija F.^{1,2,3}, Šolić E. M.⁴, Bogunić F.^{2,3}, Muratović E.², Bašić N.^{2,3}, Catrice O.⁵, Brown S. C.⁵

¹ Univ. Paris-Sud, Laboratoire Ecologie, Systematique, Evolution, Orsay, France

² Odsjek za biologiju, Univerzitet u Sarajevu, Prirodno-matematički fakultet, Laboratorija za proučavanje i zaštitu endemičnih resursa, BiH

³ Šumarski fakultet, Univerzitet u Sarajevu, BiH

⁴ Institut "Planina i more", Makarska, Hrvatska

⁵ Compartimentation Cellulaire, Institut des Sciences du Vegetal, Gif-sur-Yvette, France

Ključne riječi: Balkan, biodiverzitet, količina nuklearne DNK, protočna citometrija

Veličina genoma je važan karakter u evaluaciji biodiverziteta te u sistematici i evoluciji vrsta. Protočna citometrija omogućava brz i precizan način određivanja veličine genoma i nivoa ploidije, identifikaciju hibrida te detekciju malih razlika u sadržaju DNK. Balkansko poluostrvo predstavlja jedno od glavnih *hotspot* područja biodiverziteta u Europi, ali se smatra i najvažnijim evropskim refugijumom u kojem su mnoge biljne vrste preživjele tokom perioda glacijacija i interglacijacija. Zbog toga region Balkana predstavlja prirodni laboratorij za evolutivne studije mnogih biljnih grupa. Citogenetički pristup, kao jedan od pristupa u uspostavljanju DNK baze Balkana, omogućava produbljivanje znanja o izuzetnom bogatstvu biljnih vrsta te razvoj strategije pravilnog upravljanja i konzervacije ovih unikatnih genetičkih resursa i specifičnih habitata. U prvoj fazi je određena veličina genoma za 343 taksona (242 nove vrijednosti), i to uglavnom iz Bosne i Hercegovine, Hrvatske, FYR Makedonije, Crne Gore i Srbije. Općenito, 2C-vrijednosti DNK svakog taksona su mjerene u više populacija i, u slučaju sličnih očitavanja, predstavljene su samo sa jednom vrijednošću. Kod nekih taksona su uočene značajne varijacije u veličini genoma na intraspecijskom nivou, koje mogu biti rezultat poliploidije i/ili hibridizacijskih procesa, kao i prisustva B hromosoma. U ovakvim slučajevima su prikazani rezultati mjerenja u više populacija. Količina DNK i sastav baza (GC%) su određeni pomoću protočne citometrije, a broj hromosoma standardnim metodama. Veličina genoma analiziranih taksona se kretala u dijapazonu od 1C=0.14 pg za *Selaginella helvetica* do 1C=48.00 pg za *Fritillaria gracilis*. Na osnovu Leitchevog kriterijuma 49% istraživanih taksa pripadaju grupi sa veoma malim, 24% sa malim, 19% sa srednjim, 6.7% sa velikim i 1.2% sa veoma velikim C-vrijednostima veličine genoma. Zadnje dvije grupe čine četinjače i monokotiledone vrste. U okviru ove studije su po prvi put izmjerene 2C-vrijednosti za jednu porodicu, 53 roda (9 monokotiledonih i 44 eudikotiledonih) i 242 taksona (210 na specijskom i 27 na intraspecijskom nivou te 5 hibrida).

Kontakt: sonia.yakovlev@u-psud.fr

ALAMAR BLUE ESEJ U TESTIRANJIMA CITOTOKSIČNOG POTENCIJALA HEMIJSKIH AGENASA NA RAZLIČITIM HUMANIM ĆELIJSKIM LINIJAMA

Haverić S., Čakar J., Haverić A., Rahmanović A.

Institut za genetičko inženjerstvo i biotehnologiju, Univerzitet u Sarajevu

Ključne riječi: citotoksičnost, mitozu, tumorske ćelijske linije

Alamar blue test je dizajniran za mjerenje i kvantifikaciju proliferacije humanih i animalnih ćelijskih linija, bakterija i gljiva. Uz pomoć ovoga bioeseja utvrđena citotoksičnost testiranog agensa može se postaviti u relaciju sa različitim klasama hemikalija. Komparacijom alamar blue testa sa ostalim kolorimetrijskim testovima, dokazana je njegova veća senzitivnost i egzaktnost. Alamar blue test ima značajnu ulogu u ispitivanjima potencijalne citotoksičnosti biljnih ekstrakata koji se koriste u tradicionalnoj medicini, te u istraživanjima antitumorskog potencijala novih potencijalnih antitumorskih spojeva. U ovom radu predstavljamo modificirani protokol za alamar blue test, prilagođen za testiranja na manjem broju uzoraka. Testiranje se provodi u ćelijskim kulturama, koje se održavaju u sterilnim polistirenskim petri posudicama u kompletnom RPMI ili DMEM mediju zapremine 3 ml. Testna supstanca se dodaje 24 sata nakon početka eksperimenta, a signalna boja alamar blue 20 sati prije kraja eksperimenta. Fotometrijsko očitavanje redukcije alamar blue signalne boje, kao posljedice metaboličke aktivnosti vijabilnih ćelija vrši se uz pomoć spektrofotometra, na talasnim dužinama 570 i 600 nm. Na osnovu rezultata fotometrijskog očitavanja, izračunavaju se procenti redukcije alamar plavo boje i inhibicije ćelijskog rasta, prema standardnim formulama. Također, u radu su predstavljeni rezultati eksperimenata u kojima se ispitivao citotoksični potencijal različitih hemijskih spojeva i biljnih ekstrakata opisanom metodom alamar blue testa. Jednostavna primjena alamar blue testa prema proceduri modificiranoj u odnosu na protokol predložen od proizvođača, te lako mjerljivi, komparabilni i egzaktni rezultati, potvrdili su da je riječ o testu koji, koristeći netoksični reagens, olakšava proces optimizacije testa u eksperimentima koji ispituju metaboličku aktivnost ćelija ili citotoksične agense.

Kontakt: sanin.haveric@ingeb.ba

INDUKCIJA IZMJENA SESTRINSKIH HROMATIDA U HUMANIM LIMFOCITIMA PERIFERNE KRVI TRETIRANIM KALIJUM TETRAFLUOROTRIBORATOM

Haverić S.¹, Haverić A.¹, Rahmanović A.¹, Maksimović M.², Galić B.², Bajrović K.¹

¹ Institut za genetičko inženjerstvo i biotehnologiju, Univerzitet u Sarajevu

² Odsjek za Hemiju, Prirodno-matematički fakultet, Univerzitet u Sarajevu

Ključne riječi: mutageni efekti, hromosomi, halogenirani boroksin

Izmjene sestrinskih hromatida predstavljaju razmjene DNK između replikacijskih produkata na homolognim lokusima, a obično su locirane na gimza-negativnim prugama. Ukoliko je frekvencija ovih razmjena niska smatraju se normalnom pojavom. Dodavanjem bromodeoksiuridina koncentracija između 10^{-4} i 10^{-5} M u ćelijske kulture, broj izmjena sestrinskih hromatida obično varira između 5 i 15 po mitozu. U ovom radu je analiziran uticaj halogeniranog boroksina (kalijum tetrafluorotriborat) na frekvenciju izmjena sestrinskih hromatida u kulturama humanih limfocita periferne krvi, kao mjera njegovog mutagenog potencijala. U cilju postizanja različitog intenziteta obojenosti sestrinskih hromatida, limfociti periferne krvi kultivirani za analizu frekvencija izmjena sestrinskih hromatida, tretirani su bromodeoksiuridinom čija je finalna koncentracija u kulturama iznosila 10 µg/ml. Preparati su bojani 5 minuta u vodenoj otopini boje akridin oranž koncentracije 0,1 mg/ml. Preparati su potom ispirani vodom i inkubirani 1 minut u fosfatnom puferu. Na mokra predmetna stakla stavljano je pokrovno stakalce i preparati su odmah analizirani uz pomoć epifluorescentnog mikroskopa pod imerzionim objektivom (povećanje 1000x) sa U-MWIBA3 filterom. Analiza preparata je podrazumijevala utvrđivanje frekvencije izmjena sestrinskih hromatida na 20 metafaza po uzorku. Ukoliko to nije bilo moguće analizirane su sve uočene kvalitetne metafaze. Frekvencije izmjena sestrinskih hromatida u kulturama humanih limfocita periferne krvi tretiranih halogeniranim boroksinom koncentracija 0,05 i 0,1 mg/ml statistički su značajno povećane u odnosu na kontrolu.

Kontakt: sanin.haveric@ingeb.ba

ALU POLIMORFIZAM U STANOVNIŠTVU BOSNE I HERCEGOVINE

Silajdžić E., Lasić L., Kalamujić B., Pojskić N.

Institut za genetičko inženjerstvo i biotehnologiju, Univerzitet u Sarajevu

Ključne riječi: Alu insercijski polimorfizmi, Bosna i Hercegovina, populacijsko-genetička analiza

Alu insercijski elementi predstavljaju najbrojniju familiju SINE klase retrotranspozona u humanom genomu. Osnovne prednosti Alu elemenata, kao molekularno-genetičkih markera, su jedinstvenost insercije na specifično mjesto u genomu i činjenica da ne postoji mehanizam kojim bi se oni mogli ukloniti. Polimorfni Alu elementi su specifični samo za humani genom i ne postoje kod ostalih primata. U ovoj studiji je analizirano deset autosomalnih Alu polimorfni lokusa (A25, ACE, APO, B65, D1, FXIIIB, HS2.43, HS4.65, TPA25 i PV92) unutar ukupne populacije Bosne i Hercegovine, kao i u subpopulacijama definisanim prema regionalnoj (Krajina, Posavina, Sjeveroistočna Bosna, Istočna Bosna, Srednja Bosna, Centralna Bosna, Sarajevska regija, Centralna Hercegovina, Zapadna Hercegovina, Istočna Hercegovina), odnosno etničkoj (Bošnjaci, bosanski Hrvati, bosanski Srbi) pripadnosti ispitanika. Uzorak je obuhvatao 506 individua koje nisu bile u bliskom srodstvu. Detektovane vrijednosti frekvencije insercijskog alela za sve analizirane Alu polimorfne lokuse u populaciji Bosne i Hercegovine, kao i u promatranim subpopulacijama, su u saglasnosti sa dostupnim podacima o vrijednostima frekvencije insercijskog alela karakterističnim za evropske populacije. Genski diverzitet za ukupnu bosanskohercegovačku populaciju iznosi 0.3231, što je u okvirima opšte evropske populacije (~0.3085). Populacija Bosne i Hercegovine je, s obzirom na analizirane Alu polimorfne lokuse, relativno homogena. Analize genetičke diferencijacije ukazuju na odsustvo regionalne izdijeljenosti subpopulacija ($\theta=0\%$). U promatranim etničkim skupinama nije detektovana genetička diferencijacija ($\theta=0.03\%$), što je u saglasnosti sa prethodno izvedenim studijama u kojima su analizirani isti parametri, ali na osnovu drugih molekularnih markera (autosomalni STR, STR-Y, NRY-Y, mtDNK). Također, na osnovu Alu markera, nije primjećena statistički značajna genetička distanca između tri etničke skupine. Komparacija ukupne bosanskohercegovačke populacije sa evropskim i svjetskim populacijama pokazuje grupisanje sa promatranim balkanskim populacijama, uz jasno izdvajanje azijskih i afričkih populacija. Većina analiziranih lokusa pokazuje umjerenu interpopulacijsku diferencijaciju, s tim da na genetičku diferencijaciju populacija najviše utičaju lokusi PV92 i FXIIIB, a najmanje lokus HS2.43.

Kontakt: elma.silajdzic@ingeb.ba

MOLEKULARNA GENOTIPIZACIJA KRVNIH GRUPA Rh, MN, DUFFY, KIDD, KELL I LUTHERAN SISTEMA U STANOVNIŠTVU BOSNE I HERCEGOVINE

Lasić L., Silajdžić E., Kalamujić B., Pojskić N.

Institut za genetičko inženjerstvo i biotehnologiju, Univerzitet u Sarajevu

Ključne riječi: populacijsko genetička analiza, krvne grupe, Bosna i Hercegovina

Krvne grupe se mogu definisati klasifikacijom zasnovanom na prisustvu ili odsustvu nasljednih antigenskih supstanci na površini crvenih krvnih zrnaca. Ovi antigeni mogu biti proteini, karbohidrati, glikoproteini ili glikolipidi što zavisi od sistema krvne grupe. Neki od ovih antigena su, također, prisutni na površini drugih tipova ćelija različitih tkiva. Nekoliko ovih antigena koji se nalaze na površini crvenih krvnih zrnaca, koji potiču od jednog gena (ili blisko vezanih gena) zajedno formiraju sistem krvne grupe. U ovoj studiji je analizirano šest krvnih grupa (Rh, MN, Duffy, Kidd, Kell i Lutheran) unutar ukupne populacije Bosne i Hercegovine, kao i u subpopulacijama definisanim prema regionalnoj (Zapadna Hercegovina, Istočna Hercegovina, Istočna Bosna, Posavina, Srednja Bosna, Centralna Bosna, Sarajevska regija, Krajina, Sjeveroistočna Bosna i Centralna Hercegovina), odnosno etničkoj (Bošnjaci, bosanski Hrvati, bosanski Srbi) pripadnosti ispitanika. Za neke od navedenih sistema krvnih grupa prvi put je izvršena procjena učestalosti u stanovništvu Bosne i Hercegovine. Uzorak je obuhvatio 450 nesrodnih individua. Detekcija analiziranih krvnih grupa primjenom PCR-SSP (Polymerase Chain reaction-Allele specific primers) i PCR-RFLP (Polymerase Chain reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism) metoda pokazala se kao adekvatna. Detektovane alelne frekvencije po analiziranim lokusima u svim posmatranim subpopulacijama imaju približne vrijednosti. Vrijednosti uočenog genskog diverziteta unutar deset promatranih regionalnih subpopulacija su male, kao i uočena heterozigotnost. Populacija Bosne i Hercegovine je, s obzirom na analizirane krvne grupe, relativno homogena. Analize genetičke diferencijacije ukazuju na malu izdjeljenost subpopulacija ($\theta=1.47\%$). U promatranim etničkim skupinama nije detektovana genetička diferencijacija ($\theta=0.56\%$), što je u saglasnosti sa prethodnim studijama u kojima su analizirani isti parametri, ali na osnovu drugih molekularnih markera. Komparacijom unutarpopulacijskog genskog diverziteta bosanskohercegovačke populacije sa nekim evropskim populacijama, na osnovu tri promatrana lokusa (RhD, MN, Kell), sasvim je jasno da je nivo genskog diverziteta unutar bosanskohercegovačke populacije u okvirima evropskog opsega.

Kontakt: lejla.lasic@ingeb.ba

UTJECAJ RAZLIČITIH KONCENTRACIJA BAP I 2,4-D NA DVIJE ENDEMIČNE VRSTE RODA *Lilium* U KONTROLIRANIM USLOVIMA

Karalija E., Muratović E., Parić A.

Prirodno-matematički fakultet, Univerzitet u Sarajevu, BiH

Ključne riječi: *Lilium bosniacum*, *Lilium cattaniae*, odgovor genoma, *in vitro* regeneracija

U ovom radu istraživana je utjecaj različitih koncentracija BAP i 2,4-D u kontroliranim uslovima na stepen regeneracije dvije vrste roda *Lilium* (*Lilium bosniacum* i *Lilium cattaniae*). Regeneracija je inducirana u *in vitro* uslovima iz lukovica na MS podlozi uz dodatak različitih koncentracija BAP i 2,4-D (0,5 mg/l 2,4-D+4 mg/l BAP 1 mg/l 2,4-D+2 mg/l BAP 1 mg/l 2,4-D+1 mg/l BAP 2 mg/l 2,4-D+1mg/l BAP). *Lilium cattaniae* reagovao je na sve primjenjene tretmane, dok je *Lilium bosniacum* reagovao samo na dva tretmana. Ukupni stepen regeneracije bio je daleko izraženiji kod taksona *Lilium cattaniae* u poređenju sa stepenom regeneracije *Lilium bosniacum*.

Kontakt: erna.karalija@gmail.com

PROCJENA GENETIČKOG DIVERZITETA POPULACIJE PRENJSKOG DAŽDEVNJAKA (*Salamandra atra prenjensis*, Mikšić, 1969) U SVRHU NJEGOVE ZAŠTITE

Šunje E.¹, Kalamujić B.², Tulić U.², Pojskić N.²

¹ International University of Sarajevo (IUS)

² Institut za genetičko inženjerstvo i biotehnologiju, Univerzitet u Sarajevu

Ključne riječi: prenjski daždevnjak, populaciona genetika, genetički diverzitet

Prenjski daždevnjak, *Salamandra atra prenjensis* (Mikšić, 1969) je podvrsta u okviru vrste alpskog daždevnjaka *Salamandra atra* (Laurenti, 1768). Karakterističan je po dužini tijela koja nikada ne prelazi 14 cm i specifičnom rasporedu nepčanih zuba koji su povijeni prema unutra. Jedinke ove podvrste se ne nalaze ispod 1700 m nv. Pretežno naseljavaju planinu Prenj, ali su zabilježene i na planinama Čvrsnica i Treskavica. S ciljem procjene genetičkog diverziteta prenjskog daždevnjaka prikupljeno je 176 uzoraka, od čega su 164 jedinke sa 7 lokaliteta na planini Prenj, a 12 jedinki pripada slovenačkoj populaciji alpskog daždevnjaka. Za potrebe DNK analize od jedinki je uziman vrh repa. Za populaciono-genetičku studiju urađena je analiza osam mikrostelitnih lokusa (*SalE2*, *SalE6*, *SalE7*, *SalE8*, *SalE12*, *SalE14*, *Sal23* i *Sal 29*). Izvršena je procjena unutarpopulacijskih i međupopulacijskih odnosa. Lokus *Sal29* se pokazao kao monomorfan za prenjsku populaciju, dok slovenačka populacija nema niti jedan monomorfan lokus. Najpolimorfiji lokus u prenjskoj populaciji bio je *SalE12* (PIC=0.7848), dok je u slovenačkoj to bio *SalE2* (PIC=0.8865). U ukupnoj populaciji očekivana heterozigotnost (H_E) iznosila je 0.3781, dok je uočena heterozigotnost (H_O) bila 0.3369. U slovenačkoj populaciji vrijednosti očekivane (H_E) i uočene (H_O) heterozigotnosti iznosile su $H_E=0.7561$ i $H_O=0.6458$. U ukupnoj prenjskoj populaciji više od 50% lokusa ne odstupa $H-W$ ravnoteže, dok u slovenačkoj tačno 50% lokusa odstupa od $H-W$ ravnoteže.

Kontakt: eminabih@yahoo.com

PROCJENA MOLEKULARNO - GENETIČKOG DIVERZITETA VRSTE *Moltkia petraea* (Tratt.) Griseb U BOSNI I HERCEGOVINI

Hasičić S.¹, Kalamujić B.², Tulić U.², Silajdžić E.², Lasić L.², Pojskić N.²

¹ Prirodno-matematički fakultet, Univerzitet u Sarajevu

² Institut za genetičko inženjerstvo i biotehnologiju, Univerzitet u Sarajevu

Ključne riječi: genetički diverzitet, *Moltkia petraea*, *RFLP*, *ITS*, konzervacijska genetika

Moltkia petraea (Tratt.) Griseb., u narodu poznata kao modro lasinje, je ilirsko - jadranski endemični polugrm rasprostranjen na području Balkana u pukotinama krečnjačkih stijena. Predstavlja "živi fosil" pradačne tercijarne flore i od iznimnog značaja je za biodiverzitet naše zemlje. Nažalost staništa ovakvih vrsta su veoma narušena antropogenim uticajem što ugrožava njihov opstanak. Upotrebom molekularnih markera izvršena je genetička karakterizacija ukupno 74 individue istraživane vrste u cilju očuvanja i zaštite biljnog endemoreliktnog genofonda. Uzorci su prikupljeni sa pet lokaliteta na području Hercegovine. Korišten je *RFLP* metod baziran na *PCR*-u. Također određen je primarni slijed nukleotida *ITS1* i *ITS2* razmaknica te analiziran diverzitet nukleotida za 15 individua porijeklom iz različitih populacija. Rezultati ove studije dopunili su dosadašnja veoma oskudna znanja o genetičkom diverzitetu flore Bosne i Hercegovine. Istraživanja genetičkog diverziteta imaju za cilj očuvanje genetičke raznolikosti i smanjenje rizika od izumiranja ugroženih vrsta što predstavlja jedan od osnovnih zadataka konzervacijske genetike.

Kontakt: selma-ff@hotmail.com

Sesija

GENETIKA U BIOTEHNICI

Predsjedništvo

Doc. dr. Naris Pojskić, viši naučni saradnik
Institut za genetičko inženjerstvo i
biotehnologiju, UNSA

Prof. dr. Mirsad Kurtović,
Poljoprivredni fakultet, UNSA

Doc. dr. Lada Lukić Bilela, naučni saradnik
Prirodno-matematički fakultet, UNSA

ZNAČAJ I PRIMJENA MOLEKULARNE GENETIKE U OČUVANJU IZVORNIH VRSTA DOMAĆIH ŽIVOTINJA U BOSNI I HERCEGOVINI

Softić A., Šakić V., Katica V., Goletić T.

Zavod za zootehniku i peradarstvo, Veterinarski fakultet, Univerzitet u Sarajevu

Ključne riječi: autohtonost, molekularni markeri, genetika, zaštita

Izvornom (autohtonom) pasminom smatra se specifična skupina životinja, koja je u određenoj zemlji dovoljno dugo uzgajana, da bi se genetski adaptirala na tradicionalne proizvodne sisteme i okoliš (FAO, 1999). Uočeni problemi i strateške odrednice očuvanja biološkog naslijeđa razmatrane su na Konferenciji Ujedinjenih Nacija o okolišu i razvoju (UN Conference on Environment and Development) u Riu de Jeneiru 1992. godine, a zaključci su integrirani u pet temeljnih dokumenta i to: Deklaracija o okolišu i razvoju iz Ria (Rio Declaration on Environment and Development), Konvencija o biološkoj raznolikosti (CBD - The Convention on Biological Diversity), Konvencija o klimatskim promjenama (The Convention on Climate Change), Načela upravljanja, zaštite i održavanja svih tipova šuma (The Forest Principles) i Program održivog razvoja (Agenda 21.). Konvencija o biološkoj raznolikosti je globalno prihvaćen temeljni dokument o zaštiti biološke raznolikosti i na snazi je od decembra 1993. godine, a BiH je kao njen potpisnik preuzela obavezu da je provodi. ("Sl. glasnik BiH", broj: 13/02). U posljednjih pedeset godina na prostoru BiH evidentan je drastičan pad ukupnog broja ili potpuno nestajanje izvornih vrsta domaćih životinja. To je uglavnom rezultat promjena u poljoprivrednoj praksi i strategiji stočarske proizvodnje, a zatim i društveno-ekonomskih promjena na selu, ratne i postratne migracije seoskog stanovništva, te nepostojeće, nepotpune ili nedovoljne zakonske regulative za uzgoj, zaštitu i čuvanje genetskih animalnih resursa. Primjenom molekularnih markera u cilju determinacije izvornih vrsta domaćih životinja, mi smo istražili autohtonost bosansko-hercegovačko-hrvatskog pastirskog psa tornjaka. Ova istraživanja su dobra osnova za determinaciju ostalih izvornih vrsta domaćih životinja u BiH, čime bi se primjenom savremenih molekularnih metoda utvrdio stepen ugroženosti i predložile mjere za njihovu zaštitu.

Kontakt: almira.softic@vfs.unsa.ba

TRANZIJENTNA (PROLAZNA) EKSPRESIJA L1 PROTEINA HUMANOG PAPILOMA VIRUSA TIPOVA 8 I 16 U BILJKAMA

Matić S., Noris E.

Institute of Plant Virology-CNR, Torino, Italy

Ključne riječi: Humani papiloma virus, tranzijentna ekspresija, *Nicotiana benthamiana*

Humani papiloma virus (HPV) je jedan od najznačajnijih onkogenih virusa koji uzrokuje 5% svih vrsta raka. HPV-16 je jedan od uzročnika raka grlića materice, a HPV-8 je povezan sa 'non-melanoma' rakom kože kod imunokompetentnih, imunosupresivnih i HIV-om inficiranih osoba. HPV L1 protein ima sposobnost da se spontano složi u pentamere ili virusima-slične čestice (VLPs) koje su vrlo imunogene.

U ovom radu mi istražujemo mogućnost prolazne ekspresije HPV-8 i HPV-16 L1 proteina u biljkama *Nicotiana benthamiana* upotrebom ekspresijskih vektora: (a) *Tobacco mosaic virus* (TMV)-bazirani vektor sa različitim ciljnim signalima (za oba proteina) (*Icon Genetics*, Njemačka) i (b) *Cowpea mosaic virus*-izvedeni ekspresijski vektor pEAQ-HT (za HPV-16 L1 protein)*. HPV-8 L1 protein je tranzijentno ekspresovan korištenjem oba vektora, ali veći prinos je dobijen upotrebom pEAQ-HT vektora. HPV-8 L1 protein je ekspresovan najbolje TMV vektorom koji je imao apoplast kao odredišni signal. Polazeći od sintetskih gena optimizovanih sa 'human codon usage', HPV-16 L1 protein je ispitan za tranzijentnu ekspresiju kao osnovni protein bez dodataka ili kao nosač heterogenog M2e epitopa 'Influenza A' virusa u dvije različite strukturne pozicije.

U oba slučaja, HPV-16 L1 protein je tranzijentno ekspresovan i najbolja ekspresija u biljkama je dobijena upotrebom HPV-16 L1 himerične sekvence sa M2e epitopom ubačenim u α -spirali 4. Elektronsko mikroskopska istraživanja su pokazala slaganje L1 proteina u male VLPs približnog promjera 30 nm za oba virusa. Buduća istraživanja će utvrditi imunogenost dobijenih virusima-sličnih čestica i njihovu potencijalnu upotrebu kao biljno bazirane vakcine protiv HPV-8 i HPV-16.

Kontakt: s.matic@ivv.cnr.it

* Sainsbury F., Thuenemann E.C., Lomonosoff G.P. (2009). *Plant Biotechnol. J.* 7: 682-693.

GENETSKA I POMOLOŠKA VARIJABILNOST AUTOHTONIH SORTI JABUKA U BOSNI I HERCEGOVINI

Gaši F.¹, Šimon S.², Pojskić N.³, Kurtović M.¹, Pejić I.²

¹ Poljoprivredno-prehrambeni fakultet, Univerzitet u Sarajevu, BiH

² Agronomski fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Hrvatska

³ Institut za genetičko inženjerstvo i biotehnologiju, Univerzitet u Sarajevu, BiH

Ključne riječi: *Malus x domestica* Borkh., autohtoni genotipovi, mikrosateliti, fenotipska obilježja, genetska diferencijacija, genetski diverzitet

U radu se analizira genetska i pomološka varijabilnost genotipova autohtonog sortimenta jabuke u BiH i modernog sortimenta ove kulture koji se uzgaja ili trenutno introducira u BiH. U istraživanje je uključeno 39 primki (24 autohtonih i 15 stranih kultivara) koji su dio kolekcijskog nasada najveće BiH *ex situ* kolekcije jabuka unutar voćnog rasadnika „Srebrenik“ kod Tuzle. Predmet istraživanja su genetska struktura autohtonog i inozemnog sortimenta analizirana pomoću 10 mikrosatelitskih markera (SSR), te najvažnija morfološka, fenološka, pomološka i prehrambeno-tehnološka svojstva domaćih i introduciranih kultivara jabuke. Fenotipske analize unutar ovog istraživanja obuhvaćaju 27 svojstava, a provedene su tijekom trogodišnjeg pokusa (2006. – 2009.). Biostatističke analize molekularnih podataka obuhvatile su očekivanu heterozigotnost, fiksacijske indekse, analizu molekularne varijance i klaster analizu. Analize podataka iz poljskih pokusa obuhvatile su multivarijantne (MANOVA, NPMANOVA, ANOSIM) i univarijantne testove (Studentov t-test, Mann-Whitney U-test i Pearsonov χ^2 test), kao i klaster analizu. Diferencijacija između autohtone i aktualne (strane) skupine genotipova jabuke (F_{ST} vrijednost) za svih deset SSR lokusa bila je značajna, a prosječno je iznosila 0,064 ($P < 0,0001$) što je potvrdila i AMOVA ($P < 0,001$). *Neighbor Joining* klaster analiza ukazuje na jasno razdvajanje većine autohtonih od aktualnih genotipova. Rezultati analiza morfoloških i pomoloških podataka također omogućuju jasnu diferencijaciju dvije ispitivane skupine genotipova jabuke. Primjenom Mantel testova utvrđeno je da između molekularnih i fenotipskih podataka, po pitanju genetske udaljenosti genotipova ne postoji statistički značajna, pozitivna ili negativna korelacija. Glavni zaključak ovog rada je da autohtoni genofond jabuke u BiH ima veliku genetsku varijabilnost i predstavlja neiskorišteni potencijal za buduće oplemenjivačke programe.

Kontakt: fudo01@yahoo.com

INICIJATIVA: *Testudo hermanni ssp. hercegovinensis*

Omanović M.

KJKP „Park“, Sarajevo, BiH

Ključne riječi: hercegovačka kornjača, konzervacija prirodnih resursa

Čančara (*Testudo hermanni* Gmelin, 1789) je jedna od pet (5) vrsta kopnenih kornjača zapadne paleoarktičke zone. Areal vrste obuhvata mediteranske oblasti iberijskog, apeninskog i balkanskog poluotoka, kao i Siciliju, Korziku i Sardiniju. Sa obzirom na ovako podijeljen areal, vrsta se dijeli na dvije podvrste: zapadni dio areala se tradicionalno smatra staništem *T. hermanni ssp. hermanni*, dok se druga podvrsta *T. hermanni ssp. boettgeri* pojavljuje na Balkanu. Taksonomija ovih kornjača je nedavno dopunjena sa podvrstom *T. hermanni ssp. hercegovinensis*, koja je selektovana na osnovu morfoloških karakteristika. Sa obzirom da ne postoje detaljna filogeografska istraživanja za *Testudo hermanni*, u naučnom svijetu je prisutno i negiranje *ssp. hercegovinensis*.

Sa obzirom na pomenuto, ovim radom se ukazuje na potrebu za istraživanjima sa ciljem daljne potvrde hercegovačke kornjače kao vrijednog činioca biološkog nasljeđa Bosne i Hercegovine.

Kontakt: mersad.omanovic@gmail.com

GENETIČKI POLIMORFIZMI U DIABETESU: UTICAJ NA TERAPIJU ORALNIM ANTIDIABETICIMA

Glamočlija U.¹, Jevrić-Čaušević A.², Semiz S.²

¹ Hercegovinalijek d.o.o., Mostar, BiH

² Farmaceutski fakultet, Univerzitet u Sarajevu, BiH

Ključne riječi: farmakogenetika, genski polimorfizmi

Tip 2 diabetes mellitus predstavlja jedan od rijetkih poremećaja, gdje je definisanje genetičke etiologije dovelo ili ima veliki potencijal da dovede do direktnog napretka u terapiji. Najveći uspjeh na ovom polju je postignut kada je u pitanju monogenski diabetes, odnosno MODY (*Maturity-Onset Diabetes of the Young*) i neonatalni diabetes, koji predstavljaju mali, iako vrlo značajan, broj slučajeva Tipa 2 diabetesa. Veliki izazov predstavljaju nova istraživanja i otkrića koja se tiču mnogo češćih, tipičnih formi diabetesa kod kojih je nasljedna predispozicija rezultat varijacija multiplih gena. Postoji pet glavnih grupa oralnih farmakoloških agenasa koji se koriste u terapiji diabetesa Tip 2: sulfoniluree, meglitinidi, bigvanidi, tiazolidindioni i inhibitori α -glukozidaze. U literaturi se spominju i druge grupe poput antagonista selektivnog kanabinoidnog receptora (CB-1) i inhibitora dipeptidil peptidaze IV (DPP-IV). Cilj ovog rada je bio sumirati i ukazati na značajnije, do danas karakterizirane, mutacije gena koje rezultiraju različitim efektima lijekova kod pacijenata sa Tipom 2 diabetesa. Mutacije gena, koje utiču na odgovor na terapiju oralnim antidiabeticima, se mogu podijeliti na one koje utiču na metabolizam lijeka i one koje su vezane uz etiologiju same bolesti. Najznačajnije mutacije koje utiču na metabolizam lijeka su mutacije gena za citochrome P450, OCT1 i OCT2 (*Organic Cation Transporter 1 i 2*). Najznačajnije mutacije koje su vezane uz etiologiju same bolesti su mutacije gena za glukokinazu, HNF 1a (*Hepatic nuclear factor 1a*), HNF 1b, Kir6.2 (*Inwardly rectifying potassium channel*) i SUR1 (*Sulfonylurea receptor 1*) podjedinice KATP kanala, TCF7L2 (*Transcription factor 7 like-2*), PPAR γ (*Peroxisome Proliferator Activated Receptor Gamma*), te gena (pet različitih lokusa na hromosomu 16) koji bi mogli biti povezani sa razvojem hepatosteatoze uzrokovane tiazolidindionima. Dakle, do danas su otkrivene različite mutacije gena, koje se direktno mogu povezati sa različitim odgovorima na terapiju oralnim antidiabeticima. Potrebna su još detaljnija istraživanja koja bi omogućila primjenu ovih informacija u svakodnevnoj praksi.

Kontakt: una.glamočlija@hercegovinalijek.ba

GENOTIPIZACIJA AUTOHTONIH SORTI VINOVE LOZE IZ HERCEGOVINE POMOĆU SSR MARKERA

Leko M.¹, Šimon S.², Sabljo A.³, Beljo J.³, Pejić I.²

¹ Federalni agromediteranski zavod, Mostar, BiH

² Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Hrvatska

³ Agronomski fakultet Sveučilišta u Mostaru, BiH

Ključne riječi: genotipizacija, vinova loza, autohtone sorte, SSR markeri, koeficijent srodnosti

Na području Hercegovine evidentiran je značajan broj autohtonih sorti vinove loze. Među njima je manji broj komercijalnih (gospodarski važnih), a znatno više nekomercijalnih, uglavnom starih i manje uzgajanih sorti. Intenzifikacijom proizvodnje i orijentacijom proizvođača na uzgoj manjeg broja sorti, stare autohtone sorte postupno nestaju iz svog prirodnog staništa. Do sada nije proveden sustavan opis i evaluacija pojedinih sorti osim manjeg broja komercijalnih sorti. Agronomski i prehrambeno-tehnološki fakultet u Mostaru započeo je projekt inventarizacije i prezervacije autohtonog genetskog materijala vinove loze s područja Hercegovine. Usporedo s inventarizacijom provodi se i karakterizacija prikupljenih materijala pomoću ampelografskih i molekularnih metoda radi precizne identifikacije. Takvim analizama utvrdit će se postoje li među prikupljenim sortama mogući sinonimi ili homonimi. U ovom radu provedena je genetska analiza 17 autohtonih sorti pomoću SSR markera. Cilj rada bio je provesti genotipizaciju analiziranih sorti i utvrditi broj i frekvenciju alela na devet lokusa, sukladno metodici europskog konzorcija i projekta GrapeGen06 (<https://www1.montpellier.inra.fr/grapegen06/>). Molekularnom analizom SSR markerima utvrđen je genetski profil svake sorte. Na temelju dobivenih rezultata izračunati su parametri genskog diverziteta, te međusobni koeficijenti srodstva na temelju kojih je provedena klaster analiza i sačinjen dendrogram. Sve ispitivane sorte po stupnju srodnosti svrstane su u tri skupine. Među ispitivanih 17 uzoraka bilo je ukupno 14 različitih genotipova. Utvrđena su dva klastera identičnih genotipova, od kojih je jedan bio očekivan jer se radi o uzorcima dva morfotipa iste sorte, a drugi u kojemu su tri istovjetna genotipa upućuje na pojavu nepoznatih sinonima. Procjenjujući stupanj srodnosti, te broj i frekvenciju alela može se zaključiti da između ispitivanih sorti postoji značajna razina raznolikosti i genetske udaljenosti. To pokazuje da bi sorte vinove loze iz Hercegovine mogle imati različito genetsko i geografsko porijeklo.

Kontakt: mleko@faz.ba

**ZNAČAJ PROCJENE GENETIČKOG DIVERZITETA ZA POTREBE KONZERVACIJE
I ZAŠTITE BIOLOŠKIH RESURSA
PRIKAZ SLUČAJA: *Salamandra atra prenjensis*, Mikšić 1969**

Pojškić N.

Institut za genetičko inženjerstvo i biotehnologiju, Univerzitet u Sarajevu

Ključne riječi: genetički diverzitet, genetička konzervacija

Genetički diverzitet (genetička raznolikost) predstavlja raspon nasljedne varijacije u populaciji, vrsti ili grupi vrsta. Esencijalna je populacijama i vrstama za razvijanje sposobnosti odgovora na stalno prisutne promjene u okolini. Ukoliko nema genetičke raznolikosti, sposobnost populacija i vrsta da odgovore na okolinске promjene je reducirana i šanse za njihov opstanak se smanjuju. Gubitak genetičke raznolikosti i povećana reprodukcija u srodstvu su dva vrlo često povezana procesa, jer inbriding na kraju dovodi do smanjenja raznolikosti. Inbriding i gubitak genetičkog diverziteta su bitni pokazatelji ugroženosti vrsta, naročito ukoliko su fragmentirane u male populacije. Gubitak genetičkog diverziteta zajedno sa povećanim inbridingom utiče na nestanak autohtonih resursa, a i kompletnih vrsta.

Različiti su genetički faktori koji mogu dovesti do nestanka populacija i vrsta: prirodna hibridizacija, povećana reprodukcija u srodstvu, povećana osjetljivost na okolinске faktore usljed gubitka genetičkog diverziteta itd. Ukoliko su u populacijama prisutni neki od navedenih faktora, potrebno je pristupiti genetičkoj revitalizaciji, konzerviranju i zaštiti takvih osjetljivih resursa. Za procjenu potrebe genetičke revitalizacije i konzervacije koriste se različiti predikcioni modeli koji uključuju primjenu računarskih simulacija.

U ovom radu prikaz slučaja predstavlja procjena genetičkog diverziteta populacije *Salamandra atra prenjensis*. Ukupno je analizano 164 jedinki unutar 6 subpopulacija gdje su osim standardnih populacijsko-genetičkih analiza izvršene procjene alelnog diverziteta, genskog protoka između populacija, efektivne veličine populacije (N_e), N_e/N rate, populacijskog *bottleneck*-a, generacijskog gubitka heterozigotnosti, fluktuacije najvećih alelnih frekvencija, generacijskog inbridinga i inbridinske depresije, fluktuacije u populacijskoj veličini, životne produkcije potomaka po individui, koalescentnog vremena, te selekcija-drift predikcije.

Iako je prema određenim genetičkim predikcijskim pokazateljima populacija prenjenskog alpskog daždevnjaka već unutar okvira ugrožene populacije (vrste), uzevši u obzir sve promatrane pokazatelje, može se zaključiti da je na granici ugroženosti, te se preporučuje početak razmatranja mjera njene genetičke konzervacije i zaštite.

Kontakt: naris.pojskic@ingeb.ba

ZNAČAJ FIKSACIJSKOG INDEKSA U FRAGMENTIRANIM POPULACIJAMA HRASTA LUŽNJAKA (*Quercus robur* L.) U BOSNI I HERCEGOVINI

Ballian D., Bogunić F., Dautbašić M.

Šumarski fakultet, Univerzitet u Sarajevu

Ključne riječi: Hrast lužnjak (*Quercus robur* L.), populacija, fragmentacija, fiksacijski indeks

U ovom radu se prikazuju rezultati fiksacijskog indeksa u malim fragmentiranim populacijama hrasta lužnjaka u Bosni i Hercegovini. Analizom je obuhvaćeno 14 prirodnih populacija hrasta lužnjaka. Rezultati su dobiveni tijekom molekularno genetičkih istraživanja, uz uporabu mikrosatelitnih SSR biljega. Za analizu je su uporabljena četiri para početnica (ssrQpZAG1/5, ssrQpZAG9, ssrQpZAG36 i ssrQpZAG108).

Dobiveni rezultati su uspoređivani sa dostupnim rezultatima dobivenim u drugim istraživanjima i kod drugih šumskih vrsta. Veličine srednjeg fiksacijskog indeksa za populacije u ovom istraživanju iznosi 0,294, što pokazuje značajno prisustvo inbridinga u svim istraživanim populacijama. Također, srednji fiksacijski indeks za pojedine gen lokuse se kretao od 0,224 do 0,401, dok se za pojedine genske lokuse razlikuje od populacije do populacije. Tako su za genski lokus ssrQpZAG1/5 i ssrQpZAG9 dobivene negativne vrijednosti kod tri populacije, te u jednom slučaju za ssrQpZAG9 vrijednost je nula, a u ostalim slučajevima su vrijednosti pozitivne. Dobiveni rezultati ukazuju na značajno genetičko opterećenje fragmentiranih populacija hrasta lužnjaka, što se može jako loše odraziti na narednu generaciju.

Dobivene veličine fiksacijskog indeksa bilo da se odnose na cijelu populaciju ili na samo pojedini gen lokus u populaciji, dobar su pokazatelj kakve uzgojno gospodarske mjere treba provoditi u populacijama u ovisnosti od dobivenih veličina. Kako su naše populacije hrasta lužnjaka jako male, uske genetičke osnove, to se prilikom obnove mora voditi računa da se u narednu generaciju prenese što bolja genetička struktura. U tu svrhu će biti potrebno provoditi redovne genetičke kontrole procesa obnove.

Kontakt: balliand@bih.net.ba

MOLEKULARNO FILOGENETIČKA STUDIJA EVROPSKIH PREDSTAVNIKA RODA *Lilium*

Muratović E.¹, Hidalgo O.², Garnatje T.³, Bogunić F.^{1,4}, Pustahija F.^{1,4,5}, Šiljak-Yakovlev S.^{1,5}

¹ Laboratorija za istraživanje i zaštitu endemičnih resursa, Odsjek za biologiju, Prirodno-matematički fakultet, Univerzitet u Sarajevu, BiH

² Plant Development and Evolution, Department of Environmental and Plant Biology, Ohio University, USA

³ Institut Botànic de Barcelona (CSIC-ICUB), Passeig del Migdia s. n., Spain

⁴ Šumarski fakultet, Univerzitet U Sarajevu, BiH

⁵ CNRS, Universite Paris-Sud, AgroParisTech, UMR 8079, Ecologie, Systematique, Evolution, France

Ključne riječi: *Lilium*, ITS, retikulatna evolucija, *Liriotypus*, *Martagon*

Analizirano je 27 populacija 14 evropskih predstavnika roda *Lilium* koji pripadaju sekcijama *Liriotypus* i *Martagon*. Analiza ITS regiona nuklearnog genoma i rpS4-trnT-trnL regiona hloroplastnog genoma pokazala je jasnu diferencijaciju predstavnika različitih sekcija. Jako niska genetička diferencijacija detektirana je na subsekcijском nivou. Uočeno je da je najznačajnija varijabilnost koncentrirana na polimorfna područja koja nisu dosegla fiksaciju te je time dodatno bio otežan odabir adekvatne metode za analizu. Pored ekološke, uočena je i geografska varijacija ITS sekvenci kod nekoliko predstavnika roda *Lilium* što je dovedeno u vezu sa retikulatnom evolucijom.

Kontakt: edina1muratovic@yahoo.com

**KOLIČINA DNK, LOKALIZACIJA 5S I 18S-5.8S-26S rRNK GENA I KARAKTERIZACIJA
HETEROHROMATINA KOD *Pinus nigra* I *P. mugo*: SLUČAJ POLIMORFIZMA I
KONZERVIRANOSTI GENOMA**

Bogunić F.¹, Šiljak-Yakovlev S.², Muratović E.³, Pustahija F.¹, Ballian D.¹, Međedović S.¹

¹ Šumarski fakultet, Univerzitet u Sarajevu, BiH

² Université Paris-Sud, CNRS, Ecologie, Systématique, Evolution, Orsay Cedex, France

³ Laboratorija za istraživanje i zaštitu endemičnih resursa, Odsjek za biologiju, Prirodno-matematički fakultet, Univerzitet u Sarajevu, BiH

Ključne riječi: rRNK, veličina genoma, heterohromatin, *Pinus*

Količina DNK i distribucija rRNK gena predstavljaju značajne atribute u inter- i intraspecijskoj karakterizaciji genoma. Golosjemenjače se odlikuju velikim genomima, ali izrazito uniformnim i konzerviranim kariotipovima. 5S i 18S-5.8S-26S rRNK geni su izrazito konzervirani unutar biljnog svijeta i stoga predstavljaju važne evoluciono informativne markere. Dva polimorfna kompleksa koja su obuhvatila ukupno 42 populacije: *Pinus nigra* s.l. (crni bor) na području Mediterana i *P. mugo* s.l. (bor krivulj) na području balkansko-alpskih planina te Pirineja su analizirana koristeći metode laserske protočne citometrije, fluorescentne in situ hibridizacije 5S i 18S-5.8S-26S rRNK gena te fluorohrom bandinga u cilju karakterizacije heterohromatina. Analiza veličine genoma je kod obje vrste pokazala uniformne vrijednosti bez signifikantnog variranja za populacije *P. nigra* (1C DNK= 23.62 pg), kao i za populacije *P. mugo* (2C DNK= 41.62 pg). Sa druge strane, distribucija 5S i 18S-5.8S-26S rRNK gena i karakterizacija GC-DNK bogatog i nespecifičnog heterohromatina je ukazala na bitno različite obrasce na inter- i intraspecijskom nivou između *P. nigra* i *P. mugo*. Interspecijske razlike između obje vrste su evidentne kao što je i očekivano, ali izraženi intraspecijski polimorfizam i obrasci detektirani kod različitih populacija *P. nigra* nisu registrirani kod *P. mugo*. Različite frakcije heterohromatina pokazuju nejednaku stopu izdiferenciranosti i hromosomsku organizaciju što upućuje na ipak dinamičnu prirodu heterohromatina kod 'konzerviranih' genoma golosjemenjača. Dobiveni rezultati su diskutirani u kontekstu filogenetičkih odnosa analiziranih vrsta kao i citomolekularnih mehanizama koji operiraju na hromosomskom nivou.

Kontakt: faruk_bogunic@yahoo.com

CITOTOKSIČNA I ANTIMIKROBNA SVOJSTVA VODENIH EKSTRAKATA VRSTE *Alnus viridis* (CHAIX) DC.

Dudević S.¹, Haverić S.², Parić A.¹

¹ Odsjek za biologiju, Prirodno-matematički fakultet, Univerzitet u Sarajevu, BiH

² Institut za genetičko inženjerstvo i biotehnologiju, Univerzitet u Sarajevu, BiH

Ključne riječi: citotoksična svojstva, antimikrobna svojstva, *Alnus viridis*

U radu su ispitivana citotoksična i antimikrobna svojstva vodenih ekstrakata kore i lista vrste *Alnus viridis*. Citotoksični efekti dvije koncentracije ekstrakata ispitivani su primjenom Trypan blue testa u kulturi humanih fibroblasta. Vodeni ekstrakti kore i lista *A. viridis* u testiranim koncentracijama ne utiču na ćelijsku vijabilnost, odnosno ne ispoljavaju citotoksične efekte na humanim ćelijama *in vitro*. Antimikrobna aktivnost vodenih ekstrakata ispitivana je na šest Gram-negativnih i Gram-pozitivnih vrsta bakterija kao i na dvije vrste gljivica primjenom disk difuzione metode. Ekstrakt vrste *A. viridis* pokazao je aktivnost na *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* i *Micrococcus luteus*. Najveća zona inhibicije izmjerena je kod ekstrakta lista ispitivane vrste na *Staphylococcus aureus* (22 mm).

Kontakt: sabina_dudevic@yahoo.com

Sesija

GENETIKA U BIOMEDICINI

Predsjedništvo

Doc. dr. Lejla Kapur-Pojskić, naučni saradnik
Institut za genetičko inženjerstvo i
biotehnologiju, UNSA

Prof. dr. Zoran Galić
Department of Medicine, University of
California, Los Angeles, SAD

Doc. dr. Amina Kozarić
Klinički centar Univerziteta u Sarajevu

IZOLACIJA I KULTIVACIJA MEZENHIMALNIH MATIČNIH ĆELIJA KOŠTANE SRŽI I PROCJENA OSTEOINDUKTIVNIH EFEKATA U *IN VIVO* I *IN VITRO* UVJETIMA

Redžić A.¹, Smajilagić A.², Aljičević M.³, Demirović K.⁴

¹ Institut za biologiju i humanu genetiku Medicinskog fakulteta, Univerzitet u Sarajevu

² Klinika za maksilofacijalnu hirurgiju KCUS

³ Institut za mikrobiologiju Medicinskog fakulteta, Univerzitet u Sarajevu

⁴ Stomatološka ordinacija „Demirović“, Sarajevo

Ključne riječi: tkivni inženjering kosti, molekularna histologija, mezenhimalne matične stanice, koštana srž, humana biologija

Koštana srž sadrži ćelije koje se zovu mezenhimalne matične stanice (MMS). Eksperimentalno je utvrđeno da MMS imaju sposobnost diferencijacije *in vitro* u različite tipove stanica kao što su osteoblasti, hondroblasti, mioblasti i adipoblasti. Ciljevi ovog rada su: (i) demonstracija u *in vivo* uvjetima sposobnosti MMS iz koštane srži da proizvedu novu kost kod hirurški stvorenih defekata nekritične veličine kod novozelandskih kunića (ii) da se izoliraju *in vitro* MMS iz koštane srži, kao potencijalni model stanica u regeneraciji kosti. *In vivo* studija je pokazala postojanje novog dijela kosti na 3D CT rekonstrukciji. Nakon 30 dana kod sve tri životinje sa defektom nekritične veličine tretiranih sa MMS iz koštane srži izložene su ljudskom koštanom morfogenском proteinu 7 (rhBMP-7). Prosječna vrijednost mineralne gustoće kostiju (BMD) iznosila je 530 mg/cm³ kod sa MMS tretiranim životinjama, a 553 mg/cm³ u kontrolnoj skupini u kojoj su tri životinje tretirane zbog defekata nekritične veličine sa autolognim graftom ilijačne kosti. Aktivnosti enzima alkalne fosfataze su mjerene tokom 0, 5, 14, 21, 30 dana, te je povećana aktivnost otkrivena 14-og dana kod životinja tretiranih sa MMS iz koštane srži u usporedbi s 30-im danom kod životinja liječenih autolognim graftom. Ovaj rezultat ukazuje na snažan osteoindukcioni efekat djelovanja eksperimentalnog modela MMS koštane srži izloženog rhBMP-7 faktoru. Upoređujući ALP aktivnosti ovaj je model pokazao superiornije rezultate u odnosu na kontrolnu skupinu. Ovaj rezultat indicira mišljenje da bi MMS metoda trebala biti alternativa za autolognu transplantaciju, te su u *in vitro* ispitivanju izolirane pojedinačne MMS iz koštane srži tibije i femura pacova i kultivirane prema metodi Maniatopoulos *et al.* Male početne kolonije stanica fibroblasta su fotografski dokumentirane nakon dva dana od primarne kulture. Takve izolirane i kultivirane MMS će tokom studija u budućnosti biti izložene faktorima rasta i diferencirati se u osteoblaste, te ukazati na njihov klinički potencijal kao alternativu za metode konvencionalne medicine i autolognu transplantaciju kosti.

Kontakt: amira.redzic@yahoo.com

NOVE HOMOLOGNE SEKVENCE STEROIDNE 5ALPHA-REDUKTAZE TIP I (SRD5A1) NA LJUDSKIM HROMOZOMIMA 6 I 8

Eminović I.^{1,2}, Liović M.¹, Prezelj J.³, Kocijančič A.³, Rozman D.¹, Komel R.^{1*}

¹ Medical Centre for Molecular Biology, Institute of Biochemistry, Medical Faculty, University of Ljubljana, Slovenia

² Department of Biology and Human Genetics, Medical faculty, University of Tuzla, BiH

³ Department of Endocrinology and Metabolic Diseases, University Medical Center, Ljubljana, Slovenia

Ključne riječi: steroidna 5alpha-reduktaza tip I, dihidroksitestosteron, testosteron, hirsutizam, neplodnost, gojaznost, policistični ovariji

Do danas su poznate dvije kopije gena koje kodiraju 5alpha-reduktaza izoenzime (tip I i tip II) i jedan pseudogen tip I 5alpha-reduktaze kod čovjeka. Divergentna ekspresija ovih gena u humanim tkivima, te rezultati hibridizacije koje smo dobili (nakon sekvenciranja kloniranog PCR fragmenta SRD5A1 gena iz genomske DNA), naveo nas je da pretpostavimo da bi mogla postojati još neka dodatna kopija SRD5A1 gena ili pseudogena. Naša istraživanja pružaju prvi dokaz o postojanju dviju novih, prethodno neidentificiranih, a homolognih sekvenci humanom SRD5A1 genu ili pseudogenu.

Naši rezultati upućuju da bi te sekvence mogle biti lokalizirane, pored hromozoma 5, na hromozomu 6 i 8. One su visoko homologne (> 99%) sa promotorskom regijom, egzonom 1 i amplificiranim dijelom introna 1 SRD5A1 gena. Ne sadrže delecije ili insercije, koje su inače karakteristične za SRD5API pseudogen. Naši rezultati upućuju na to da ove sekvence mogu biti kodirajući dijelovi, još uvijek nepoznatog, aktivnog SRD5A1 gena i/ili pseudogena. Ovi rezultati imaju dodatnu podršku od strane Chena i suradnika, koji je na enzimskom nivou potvrdio postojanje različitih SRD5A1 proteina u kulturi ljudskih stanica kože.

Kontakt: eminovicizet@gmail.com

MEDICINSKA GENETIKA U MODERNOJ KLINIČKOJ PRAKSI GENETIČKI SINDROMI: OD SUMNJE DO POTVRDE

Bukvić N.

Azienda Ospedaliero-Universitaria, Dipartimento di Diagnostica di Laboratorio - 2° Laboratorio, Sezione di Citogenetica e Biologia Molecolare, Foggia, Italia

Ključne riječi: medicinska genetika, genetički sindromi, klinička praksa

Genetika je nedavno, "prepotentno" ušla na "scenu" kliničke prakse sa svojim otkrićima i svakodnevnim novitetima svrstala se među nauke praćene sa posebnim interesom od strane ljekara, pacijenata i društva u cjelini. Naučna dostignuća posljednjih decenija su dala poseban doprinos u razumjevanju biološke baze mnogih nasljednih oboljenja, naročito istraživanja molekularnih defekata na nivou DNK su omogućila rasvjetljavanju brojnih genetičkih oboljenja što je omogućilo kreiranje genetičkih testova za njihovu preciznu dijagnozu čak i u prenatalnom periodu. Potencijalne perspektive su toliko interesantne da u isto vrijeme predstavljaju inspiraciju za naučnike i nadu za pacijente. Genetički sindromi predstavljaju specifične kliničke entitete sa karakteristikama koji uključuju dismorfizme, multiple kongenitalne malformacije i u najvećem broju slučajeva mentalnu retardaciju.

U specijalizovanijim visokokvalitetnim centrima, do definitivne dijagnoze dolazi se u 50% ispitanih slučajeva. Sasvim je jasno da pristup kod pacijenta sa sumnjom na ovakvu vrstu sindroma mora biti multidisciplinaran, a da je mjesto specijaliste medicinske genetike centralno. Dakle, dijagnostički pristup pacijentu sa sumnjom na genetički determinisano patološko stanje je svakako kompleksan i postepen. Odabir i izvođenje adekvatnog genetičkog testa, bilo da se radi o citogenetičkoj i/ili molekularnoj analizi (FISH, CGH-array, MLPA, Sekvencioniranje itd.) ovisi o prethodnoj kliničkoj valutaciji pacijenta. Naprijed pomenute tehnike, nije moguće izvoditi "na slijepo" tj. bez specifične dijagnostičke sumnje ili rutinski svim pacijentima. Slijedi pokušaj da se daju određene smjernice i prenesu iskustva o "instrumentima" za formulaciju konkretnog odgovora na niz pitanja sa kojima se svakodnevno susreću ljekari u praksi nalazeći se između znanja, zahtjeva pacijenata, objektivnih mogućnosti i neprecizne, često senzacionalističke informacije mass medija.

U zaključku se može napisati da smo svjedoci rascjepa između tehničkih mogućnosti i aplikativne neizvodljivosti između brzine otkrića i praktične primjene, između nade i stvarnosti.

Kontakt: nenadbukvic@virgilio.it

**POVEĆANI NIVO IMP-L2 PROTEINA, KOJI JE HOMOLOG TUMOR SUPRESORSKOG IGFBP7,
PRODUŽUJE ŽIVOT VINSKOJ MUŠICI**

Alić N., Hoddinott M.P., Vinti G., Partridge L.

Institute of Healthy Ageing and GEE, University College London, UK.

Ključne riječi: životni vijek, *Drosophila melanogaster*, inzulin/IGF, IGFBP

Signalizacija inzulinom i sličnim hormonima ima evolucijski sačuvanu ulogu u određivanju dužine životnog vijeka životinja. Sisari posjeduju mnogobrojne proteine, IGFBP i slične, koji se vežu za inzulin/IGF i moduliraju njihovu aktivnost. U ovom radu ispitali smo djelovanje jednog homologa IGFBP-a na dužinu životnog vijeka, koristeći vinsku mušicu kao model. IMP-L2, protein koji je mušicin homolog ljudskog tumor supresorskog IGFBP7 proteina i koji je izlučen u cirkulaciju, može da se veže za najmanje dva inzulina mušice (DILP2 i DILP5). Povećani nivo IMP-L2 uzrokuje fenotipe u odrasloj mušici konsistente sa sniženom inzulinskom signalizacijom, usprkos kompenzativnom povećanju *dilp2*, *dilp3* i *dilp5* transkripta, a to su povećani nivo 4E-BP transkripta, povećane masnoće, snižena plodnost i povećana otpornost na oksidativni stres. Pojačana ekspresija IMP-L2 u cijelom tijelu ili samo u ćelijama koje proizvode inzulin, u crijevima ili u masnom tkivu, produžuje životni vijek. Dovoljno je povećati nivo IMP-L2 u odrasloj mušici da bi joj se produžio život, što znači da efekat ne zavisi od promjena tokom razvoja. Naša istraživanja pokazuju da bi IGFBP7 ili sličan protein mogao igrati značajnu ulogu u životnom vijeku sisara.

Kontakt: n.alic@ucl.ac.uk

OSNIVANJE PRVE TUMORSKE BANKE SVJEŽIH UZORAKA U BIH

Kozarić A., Altuntag K.

Klinički Centar Univerziteta u Sarajevu, OJ Klinička patologija i citologija, Sarajevo

Ključne riječi: tumor bank

Značaj osnivanja prve tumorske banke svježih uzoraka na KCU Sarajevo služi povećanju kvaliteta istraživanja i mogućnosti da pacijentima omogućimo bolje terapijske usluge u budućnosti. Tumorska banka se uspostavila koristeći odgovarajuće protokole brzog zamrzavanja svježih uzoraka u tečnom azotu. Proces uzimanja, procesiranja i čuvanja uzoraka se vrši prema protokolima Nacional Cancer Institute, Bethesda, SAD. Elektronsko čuvanje se vrši u CHTN bazi podataka gdje se pohranjuju detaljni podaci o uzorku. Kontrola kvalitete se radi svakih nekoliko mjeseci izolacijom RNA i kontrolnim PCR.

Kontakt: amina.kurtovic@gmail.com

**MOLEKULARNO BIOLOŠKE KARAKTERISTIKE HEMAGLUTININSKE MOLEKULE BIH IZOLATA
A/Cygnus olor/BIH/1/2006 (H5N1)**

Goletić T.¹, Kustura A.¹, Šatrović E.¹, Gagić A.¹, Rešidbegović E.¹, Savić V.², Harder T.³, Starick E.³

¹ Veterinarski fakultet, Univerzitet u Sarajevu, BiH

² Hrvatski veterinarski institut, Zagreb, Hrvatska

³ Friedrich-Loeffler-Institut, Federal Research Institute for Animal Health, Greifswald-Insel Riems, Njemačka

Ključne riječi: influenza A virus, visokopatogeni avijarni influenza virusi, sekvencioniranje, hemaglutinin, filogeneza

Patogenitet avijarnih influenza virusa je poligena osobina ovisna kako o funkcionalnom integritetu svakoga viralnog gena pojedinačno tako i o njihovoj optimalnoj konstelaciji. Ipak, po svemu sudeći, hemaglutinin (HA) i neuraminidaza (NA) predstavljaju najvažnije markere virulence influenza virusa. HA je površinski transmembranski glikoprotein koji omogućava vezivanje viralnih čestica za sialinske stanične receptore, a zatim i fuziju virusa sa plazma membranom stanice domaćina otpočinjući na taj način infekciju. Uspješnost ovoga procesa direktno je ovisna o efikasnosti posttranslacijskog cijepanja prekurzorske HA molekule (HA0) u dvije disulfidno vezane podjedinice HA1 i HA2, te su stoga aminokiselinska sekvenca na mjestu cijepanja HA0 molekule i distribucija staničnih proteaza sposobnih za njeno cijepanje esencijalne i kritične determinante patogeniteta od kojih ovisi kako tkivni tropizam tako i tok infekcije. Amplifikacijom, sekvencioniranjem i potom analizom kompletnog kodirajućeg regiona (1707 nt) HA gena izolata *A/Cygnus olor*/BIH/1/2006 (H5N1) utvrđene su njegove molekularno biološke karakteristike te filogenetska pripadnost Z genotipu 2.2 skupine visokopatogenih avijarnih influenza virusa. Nadalje, molekularni marker D403 HA proteinske molekule svrstava BiH izolat u podskupinu 2.2.2 odnosno EMA 2 (Europe-Middle East-Africa) skupinu. Rezultati sekvencioniranja pohranjeni su u EMBL genskoj banci podataka pod pristupnim brojem FM209433.

Kontakt: teufikg@gmail.com

**PROTEINSKA ANALIZA EKSPRESIJE cAMP-OVISNE PROTEINSKE KINAZE A (PKA),
POTENCIJALNOG MOLEKULARNOG BIOMARKERA ZA RANU DETEKCIJU KARCINOMA DOJKE**

Ler D.^{1,2}, Lojo-Kadrić N.¹, Ramić J.¹, Milde-Langosch K.³, Bajrović K.¹, Kapur-Pojškić L.¹

¹ Laboratorija za humanu genetiku, Institut za genetičko inženjerstvo i biotehnologiju, Univerzitet u Sarajevu, BiH

² Laboratorija za bioinženjering, Fakultet prirodnih i tehničkih nauka, Internacionalni Univerzitet Sarajevo, BiH

³ Ginekološki istraživački laboratorij, Klinika i Poliklinika za Ginekologiju, Univerzitetna Klinika Hamburg Eppendorf, Njemačka

Ključne riječi: IHC, Western Blot, karcinom dojke, biomarkeri, proteinska kinaza A (PKA)

Karcinom dojke u širem smislu predstavlja kompleksno oboljenje, ne samo po svojoj etiologiji i fenotipskoj ekspresiji, već i po svojim biohemijskim svojstvima. Rana detekcija, kao i dijagnoza, su jedan od najvažnijih koraka u menadžmentu karcinoma. Kvantifikacija aktuelnih tumorskih markera temelji se na metodi određivanja antigena i općenito pokazuje smanjenu specifičnost i senzitivnost. Stoga, novi tumorski biomarkeri i nove screening metode su potrebni kako bi se poboljšala dijagnostika/prognostika bolesti. Cilj ove studije je razvoj metode za specifično prepoznavanje PKA proteina, te validacija ovog interesantnog kandidata kao molekularnog markera za neinvazivnu, ranu detekciju ljudskih neoplazmi dojke. U toku studije, za analizu odabranog proteina, korišteni su parafinizirani tumorski blokovi i SDS-proteinski ekstrakti iz seruma krvi pacijentica kojima je dijagnosticiran karcinom dojke. Proteinska karakterizacija je obuhvatila razvoj i validaciju postupka za prepoznavanje i određivanje prisutnosti odabranog proteina reakcijom optimiziranog kompleksa antigena i antitijela, te zatim mjerenje optičke gustoće svake pojedinačne dobijene proteinske pruge u svrhu relativne kvantifikacije. Rezultati provedenih analiza pokazuju uspješno prepoznavanje odabranog proteina, cAMP-ovisne PKA, te njegovu povećanu ekspresiju u tumorskim uzorcima dojke. Zaključiti je da je povećana ekspresija potencijalnog biomarkera PKA u korelaciji sa karcinogenezom, kao i to da razvijeni test svakako predstavlja jedan obećavajući pristup u području dijagnostike i prognostike karcinoma dojke.

Kontakt: dariamail@gmail.com

**ISPITIVANJE IVS14+1G>A POLIMORFIZMA DPYD GENA U GRUPI BOSANSKIH PACIJENATA
TRETIRANIH SA 5-FLUOROURACILOM I CAPECITABINE-om**

Cerić T.¹, Obralić N.¹, Kapur-Pojskić L.², Macić D.², Bešlija S.¹, Durmić-Pašić A.¹, Cerić Š.¹

¹ Klinika za onkologiju, KCUS

² Institut za genetičko inženjstvo i biotehnologiju, Univerzitet u Sarajevu

Ključne riječi: farmakogenetika, Dihidropirimidin dehidrogenaza

Neželjene reakcije na lijekove i dalje predstavljaju važan klinički problem. Dihidropirimidin dehidrogenaza (DPD) je enzim koji reguliše količinu 5-FU koja je na raspolaganju za anaboličke procese i samim tim utiče na farmakokinetiku, toksičnost i efikasnost lijeka. Postoji nekoliko studija koje opisuju nasljedni (farmakogenetički) poremećaj u kojem osoba bez ili sa značajno smanjenom DPD aktivnosti može razviti po život opasan nivo toksičnosti nakon izlaganja 5-FU. Najčešća mutacija je poznata kao DPYD * 2A ili *splice-site* mutacija IVS14 + 1G > A, koja dovodi do stvaranja nefunkcionalnog proteina. Cilj rada bio je da utvrdi postojanje IVS14 + 1G > A mutacije među stanovništvom Bosne i Hercegovine. Naše istraživanje nedvosmisleno potvrđuje postojanje jednog heterozigota za DPYD mutaciju, tj heterozigota za IVS14 + 1 G > A, DPYD*2A mutaciju.

Kontakt: timur_ceric@yahoo.com

CITOGENETIČKA STUDIJA TIPOVA I UČESTALOSTI HROMOSOMSKIH PROMJENA

Aganović-Mušinović I.¹, Mačkić-Đurović M.¹, Ibrulj S.¹, Šeremet Z.², Čatović A.¹

¹ Centar za genetiku, Sarajevo

² Zavod za javno zdravstvo, Sarajevo

Ključne riječi: kariotipizacija, hromosomopatije, sterilitet, spontani pobačaji, hematološki maligniteti

U Centru za genetiku Medicinskog fakulteta u Sarajevu u zadnjih deset godina je urađeno 4220 analiza kariotipa iz limfocita periferne krvi – primjenom standardne metode i tehnikom GTG-bend. Po potrebi su primjenjivane i druge tehnike dijagnosticiranja: R- i C-pruganje. Pacijenti su ciljano upućivani od strane različitih specijalista: ginekologa, pedijatara i hematologa, a rezultati citogenetičkih analiza će biti prikazani detaljno u radu prema uputnim dijagnozama.

Ginekolozi su uputili 266 bračnih parova za citogenetičku analizu hromosoma usljed steriliteta ili većeg broja pobačaja. Od ukupnog broja analiziranih kod 25 bračnih parova pronađeno je da jedan od partnera ima hromosomske promjene.

Po preporuci pedijatara urađena je kariotipizacija kod 1788 djece, od čega je evidentirano 319 hromosomopatija: 264 autosomopatija i 55 gonosomopatija. U prezentaciji će biti prikazani tipovi hromosomskih aberacija, sindromi i njihova učestalost pojavljivanja.

Citogenetičke studije su važan dijagnostički i prognostički parametar za evaluaciju uspješnosti terapije i prognozu oboljenja hematoloških pacijenata. U našem Centru je realizirana kariotipizacija 532 pacijenata sa različitim hematološkim malignitetima. Prikazat ćemo tipove oboljenja i procenat normalnih i aberantnih kariotipova među ispitivanim pacijentima.

U centru su pored kariotipizacija rađene i analize hromosomskih aberacija kod 1634 osobe profesionalno izloženih jonizirajućem zračenju niskih doza, što će biti posebno prikazano poster prezentacijom.

Kontakt: zizanax@gmail.com

IZOLACIJA I KARAKTERIZACIJA MONOKLONSKIH ANTITIJELA SPECIFIČNIH NA *m74* GENSKI PRODUKT MIŠJEG CITOMEGALOVIRUSA

Skenderi F.^{1,2}, Lenac Roviš T.², Adler B.³, Jonjić S.^{2*}

¹ Institut za fiziologiju i biohemiju, Medicinski fakultet Univerziteta u Sarajevu, BiH

² Centar za Proteomiku, Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci, Hrvatska

³ Max von Pettenkofer-Institut, Munchen, Njemačka

Citomegalovirus (CMV) je vrsno-specifični β -herpesvirus. Čest je uzrok morbiditeta imunokompromitiranih pacijenata i glavni virusni uzročnik kongenitalnih infekcija. Rezultati skorašnjih studija sugeriraju moguću ulogu CMV infekcije u autoimunim bolestima. Mnogi aspekti imunobiologije i patogeneze CMV infekcije su još uvijek nedovoljno definirani. Infekcija mišjim citomegalovirusom (MCMV) je opće prihvaćena kao prikladan model infekcije humanim citomegalovirusom (HCMV). Smatra se da HCMV *UL74* genski produkt, glikoprotein O (gO), ima ulogu u ulasku virusa u stanicu, sastavljanje virusnih partikula i izlazak virusa iz stanice. Skorašnji podaci govore da je gO samo šaperon. MCMV *m74* gen predstavlja pozicioni homolog HCMV *UL74* gena. Produkt MCMV *m74* gena je MCMV glikoprotein O, čija uloga u infekciji još nije definirana. Radi proučavanja MCMV gO eksperimentalnim metodama zasnovanim na monoklonskim antitijelima, neophodno je generirati anti-MCMV-gO antitijela. Korištenjem tehnologije hibridoma generirali smo mišja monoklonska antitijela specifična na strukturne MCMV proteine. BALB/c miševi su imunizirani virionima inaktiviranim UV zračenjem. Splenocite imuniziranih miševa smo fuzionirali sa SP2/0 stanicama mišjeg mijeloma. Oko 800 hibridoma je skriningom pomoću enzimskog imunoeseja (engl. *enzyme-linked immunosorbent assay* - ELISA) na mikrotitarskim pločama pokrivenim lizatima MCMV inficiranih stanica. 200 hibridomskih staničnih linija skriningom je pomoću protočne citometrije (engl. *fluorescence-activated cell sorting* – FACS). Ukupno 105 hibridomskih staničnih linija je lučilo antitijela specifična na MCMV proteine. Da bi identificirali hibridom koji luči anti-gO kreirali smo HEK293-m74HA transfektante koje eksprimiraju HA obilježeni MCMV *m74* genski produkt. Identificirali smo nekoliko antitijela pomoću ELISA-e, a slijedi dalja karakterizacija korištenjem protočne citometrije, western blota i konfokalne mikroskopije. U inicijalnim testovima neutralizacije sa supernatantima hibridoma, anti-gO kandidati (antitijela) nisu pokazala sposobnost neutraliziranja MCMV infekcije *in vitro*, ali dalja istraživanja sa koncentriranim antitijelom će dati preciznije *in vitro* rezultate, a predstoji i testiranje ovih antitijela u *in vivo* esejima neutralizacije.

Generirali smo nekoliko MCMV gO specifičnih monoklonskih antitijela koja će biti korisno sredstvo u proučavanju biologije MCMV gO i njegove uloge u infekciji, pomoću široke palete experimentalnih metoda ovisnih o monoklonskim antitijelima.

Kontakt: jstipan@medri.hr

ANALIZA POLIMORFIZAMA HSD11B1 GENA KOD PACIJENATA S METABOLIČKIM SINDROMOM

Dujic T.¹, Bego T.¹, Mlinar B.², Semiz S.¹, Malenica M.¹, Prnjavorac B.³, Ostanek B.², Marc J.², Jevrić-Čaušević A.¹

¹ Katedra za Biokemiju i kliničke analize, Farmaceutski fakultet, Univerzitet u Sarajevu, BiH

² Katedra za Kliničku biokemiju, Farmaceutski fakultet, Univerzitet u Ljubljani, Slovenija

³ Opća bolnica Tešanj, BiH

Ključne riječi: metabolički sindrom, inzulinska rezistencija, 11beta-hidroksisteroid dehidrogenaza tip 1, HSD11B1 gen

Enzim 11beta-hidroksisteroid dehidrogenaza tip 1 (11beta-HSD1) katalizira pretvorbu neaktivnog kortizona u aktivni kortizol u ciljnim tkivima za glukokortikoide. Povećana ekspresija 11beta-HSD1 u masnom tkivu povezana je s gojaznošću i inzulinskom rezistencijom. U ovom radu, istražili smo povezanost dva polimorfizma HSD11B1, gena koji kodira sintezu 11beta-HSD1 enzima, s metaboličkim sindromom (MetS) i njegovim karakteristikama.

Genomska DNK je izolirana iz periferne krvi 86 ispitanika: 43 pacijenta s MetS i 43 zdrava ispitanika. Dva polimorfizma HSD11B1 gena, rs846910: G>A i rs45487298: insA, analizirani su metodom taljenja visoke rezolucije. Uspoređene su frekvencije genotipova između kontrolne grupe i pacijenata s MetS, te ispitan utjecaj genotipova na kliničke i biokemijske parametre ispitanika.

Značajne razlike u frekvenciji mutiranih alela dva polimorfizma HSD11B1 gena, između pacijenata s MetS i kontrolnih ispitanika, nisu nađene. Mutirani A alel rs846910: G>A polimorfizma je bio granično značajno povezan s višom koncentracijom LDL-kolesterola. Polimorfizam rs45487298: insA je bio značajno povezan s nižim nivoom inzulina natašte, nižim HOMA (*homeostasis model assessment*) indeksom i nižim dijastoličkim tlakom. Analizom haplotipova potvrđena je povezanost rs45487298: insA s pokazateljima inzulinske rezistencije. Naši rezultati ukazuju na moguću povezanost rs45487298: insA polimorfizma HSD11B1 gena s boljom osjetljivošću na inzulin.

Kontakt: tanja.dujic@gmail.com

POLIMORFIZMI LPIN1 GENA ASOCIRANI SA METABOLIČKIM SINDROMOM I DIABETESOM TIPA 2

Bego T.¹, Dujić T.¹, Mlinar B.², Semiz S.¹, Malenica M.¹, Prnjavorac B.³, Ostanek B.², Marc J.², Jevrić-Čaušević A.¹

¹ Katedra za Biokemiju i kliničke analize, Farmaceutski fakultet, Univerzitet u Sarajevu, BiH

² Katedra za Kliničku biokemiju, Farmaceutski fakultet, Univerzitet u Ljubljani, Slovenija

³ Opća bolnica Tešanj, BiH

Ključne riječi: metabolički sindrom, LPIN1, diabetes tipa 2

Metabolički sindrom je kompleksna bolest modernog vremena koju karakteriše skupina metaboličkih poremećaja koji se manifestiraju kao inzulinska rezistencija, abdominalna pretilost, visoka razina kolesterola i povišen krvni pritisak. Lipin 1 je nedavno otkriven multifunkcionalni protein, koji učestvuje u metabolizmu lipida na razne načine. Lipin1 pokazuje enzimatsku aktivnost kao fosfatidna fosfataza 1, (PAP1) koji je vrlo važan u metabolizmu lipida. Takođe lipin1 ima važnu ulogu transkripcijskog koaktivatora, pri čemu surađuje sa ostalim nukleolarnim receptorima i koaktivatorima u modeliranju ekspresije gena koji učestvuju u metabolizmu lipida. Polimorfizmi LPIN1 gena pokazuju asociranost sa inzulinskom rezistencijom, abdominalnom pretilošću, hipertenzijom i metaboličkim sindromom. U ovom radu, testirana je asocijacija biohemijskih parametara (glukoze, HbA1c, vrijednosti inzulina, HDL i LDL holesterola, triglicerida, serumskih proteina, jetrenih enzima i td.) i polimorfizama LPIN1 (rs11693809 i rs2716610) gena. U studiju je uključeno 73 pacijenta kojima je diagnosticiran metabolički sindrom i diabetes tipa 2, dok je kontrolnu grupu sačinjavalo 40 zdravih ispitanika iz Bosne i Hercegovine. DNK ovih pacijenata je izolirana iz pune krvi korištenjem QIAGEN metode. Oba polimorfizma LPIN1 gena (rs11693809 i rs2716610) su analizirani metodom PCR u realnom vremenu (RT-PCR). Analiza je pokazala trend asocijacije polimorfizama rs11693809 LPIN1 gena sa vrijednostima ukupnog i HDL holesterola i opsegom struka. Takođe, rezultati su pokazali povezanost polimorfizama rs2716610 LPIN1 gena i koncentracije uree i kreatinina, te tendenciju asociranosti sa indeksom tjelesne mase i vrijednostima inzulina, kod pacijenata sa metaboličkim sindromom i diabetesom tipa 2. Rezultati analize haplotipova gena LPIN1 pokazali su trend asocijacije sa vrijednostima HOMA IR, inzulinom, te koncentracijama HDL holesterola i uree. Polimorfizmi LPIN1 gena pokazuju asocijaciju sa vrijednostima HDL, ukupnog holesterola i vrijednostima inzulina, kao i ITM i opsegom struka što ukazuje na važnu ulogu analiziranih polimorfizama u metabolizmu glukoze i lipida.

Kontakt: tamer.bego@gmail.com

METOD ZA DETEKCIJU I PRAĆENJE MARKERA MINIMALNE OSTATNE BOLESTI KOD PACIJENATA NA TERAPIJI PAMETNIM (BIOTEHNOLOŠKIM) LIJEKOVIMA

Kapur-Pojskić L.¹, Bijedić V.², Ramić J.¹, Lojo-Kadrić N.¹, Bajrović K.¹

¹ Institut za genetičko inženjerstvo i biotehnologiju, Univerzitet u Sarajevu

² Klinika za hematologiju, KCUS

Ključne riječi: CML, protonkogen, relativna genska ekspresija, MRD

CML je hronična bolest uvjetovana jasno definiranim i karakteriziranim strukturnim hromosomskim varijacijama u ljudskom genomskom komplementu. Najčešća mutacija je tzv. BCR-ABL ili t(9 21) koja je nađena u najvećoj proporciji u više od 90% svih slučajeva CML koja je detektabilna na citogenetičkom i molekularno-genetičkom nivou. Produkt ove mutacije je novi – fuzijski gen (protoonkogen) čiji produkt je patogenog karaktera. Nivo ekspresije fuzijskog gena je u direktnoj korelaciji sa ozbiljnosti kliničke slike. Ovaj rad ima za cilj prezentirati originalan i validizirani metod za pouzdanu i ekonomičnu detekciju i praćenje minimalne ostatne bolesti kod pacijenata. Dizajnirali smo REAL-TIME PCR genetički test za kvalitativnu i kvantitativnu analizu genskog produkta tipičnog za BCR-ABL translokaciju koji u slučaju postojanja preterapijskog nivoa genske ekspresije omogućava direktno praćenje minimalne ostatne bolesti tokom i nakon terapije. Prezentirani metod predstavlja pouzdan i ekonomičan pristup i znanstvenu osnovu u menadžmentu hroničnih oboljenja čija slika korespondira etiopatologiji CML-a.

Kontakt: lejla.kapur@ingeb.ba

GENETIČKI POSTUPCI U MEDICINSKOJ DIJAGNOSTICI

Lukić I. K.

Biosistemi grupa, Zagreb, Hrvatska

Ključne riječi: sekvencioniranje, PCR, DNA, dijagnostika

Ukoliko promotrimo povijest uporabe genetičkih postupaka u medicinskoj dijagnostici, kao ključan događaj možemo označiti sekvencioniranje DNA s pomoću prekida lanca (F. Sanger, 1977.) koje je dalo detaljan uvid u sâm ljudski genski kod. Vrlo brzo nakon toga će uvođenje lančane reakcije polimerazom (PCR) (K. B. Mullis, 1983.) omogućiti pouzdano umnožavanje DNA u dostatnom broju kopija za vrlo raznovrsne analitičke postupke te dovesti do procvata molekularne dijagnostike. Krajem 90-ih (1998.) postaje tržišno dostupan prvi sustav za automatizirano sekvencioniranje gena, koji daje ogroman doprinos stvaranju prvog nacrtu ljudskoga genoma (2003.), dvije godine prije plana. Približno u isto vrijeme, sredinom 90-ih godina, automatiziran je i postupak PCR koji nije samo ubrzao i pojednostavio analizu, nego je omogućio i kvantifikaciju. Na tim su temeljima izgrađeni današnji molekularno-biološki dijagnostički sustavi čije aplikacije zalaze u praktično sva medicinska polja. Primjera radi, fragmentna analiza i njoj srodni postupci rabe se, među inim, za otkrivanje gubitka heterozigotnosti u zloćudnim novotvorinama (prognostički značaj), za analizu preslagivanja gena za receptor limfocita T (dijagnostika), te za neinvazivnu (!) prenatalnu dijagnostiku kromosomskih aberacija. Jedan novi postupak, tzv. MLPA (*multiplex ligation-dependent probe amplification*), dopušta utvrđivanje promjene broja kopija ciljnog slijeda, čime molekularni postupci uspješno zamjenju tradicionalne citogenetičke analize. Sekvencioniranjem DNA se pak može ostvariti brza identifikacija mikroorganizama (te, recimo, utvrditi postojanje gena za antibiotsku rezistenciju i njegovo širenje) ili, na temelju postojanja određenih mutacija, predvidjeti odgovor na kemoterapiju (npr. signalni put K-ras). U međuvremenu je daljnji metodološki napredak doveo do razvoja novih tehnika, kao što je „ion torrent“ sekvencioniranje, te rađanja potpuno nove discipline, tzv. teranostike (spoj personalizirane genske dijagnostike i terapije). Primjera radi, s pomoću sekvencioniranja temeljenog na ligaciji smo već danas u mogućnosti pročitati genom jednog čovjeka za 10 dana, po cijeni ispod US\$1000, čime ćemo ubrzo moći planirati liječenja koja u cijelosti odgovaraju zahtjevima pojedinih bolesnika.

Kontakt: ivan.lukic@biosistemi.hr

UČESTALOST HROMOSOMOPATIJA U POPULACIJI NOVOROĐENČADI TUZLANSKOG KANTONA U PERIODU OD 2008. DO 2009. GODINE

Terzić R.¹, Širanović S.¹, Hercegovac A.¹, Beganović A.¹, Karić A.¹, Hasanhodžić M.², Fatušić Z.³

¹ Prirodno-matematički fakultet, Univerzitet u Tuzli

² Klinika za dječije bolesti, UKC Tuzla

³ Klinika za ginekologiju i akušerstvo, UKC Tuzla

Ključne riječi: hromosomopatije, incidenca, prevalenca, populacija novorođenčadi

Cilj ovog rada je bio utvrditi incidencu i prevalencu hromosomopatija prisutnih u populaciji novorođenčadi Tuzlanskog kantona (TK), te dobijene podatke komparirati sa raspoloživim podacima sa lokaliteta u BiH i odgovarajućim podacima iz svjetske literature. Istraživanje je sprovedeno u populaciji novorođenčadi TK u periodu od 01.01.2008. do 31.12.2009.godine. Analizom medicinske dokumentacije za 9119 novorođenčadi u posmatranom periodu ustanovljene su sljedeće hromosomopatije: 11 novorođenčadi sa Downovim sindromom, te jedno novorođenče sa Edwardsovim sindromom. Incidenca i prevalenca Downovog sindroma u TK odgovaraju prosječnoj incidenci i prevalenci u Europi i svijetu. Starosna dob majki djece sa Downovim sindromom pomjerena je prema mlađoj životnoj dobi i iznosi prosječno 27,5 godina. Incidenca Edwardsovog sindroma u TK je znatno niža od prosječne incidence u svjetskoj populaciji.

Kontakt: rifet.terzic@untz.ba

KONGENITALNE KARDIOMIOPATIJE

Bukvić N.

Azienda Ospedaliero-Universitaria, Dipartimento di Diagnostica di Laboratorio - 2° Laboratorio, Sezione di Citogenetica e Biologia Molecolare, Foggia, Italia

Ključne riječi: kongenitalne kardiomiopatije, mikrodelecijski sindromi, genetičko savjetovište

Kardiomiopatije predstavljaju grupu ekstremno heterogenih malformacija sa frekvencom pojavljivanja kod novorođenčadi od 1%, od čega 90% predstavljaju izolovane malformacije i multifaktorijska oboljenja, dok u svega 3% slučajeva se radi o oboljenjima iz grupe tzv. monogenetskih oboljenja (Mendelskih bolesti).

Jedan sasvim mali procenat je posljedica patoloških stanja u toku trudnoće kao što su infekcije (rubeola) i/ili oboljenja kao diabetes itd. Vrlo često kongenitalne kardiopatije su prisutne u slučaju novorođenčadi sa nekom od aneuploidija (trizomije: 21, 18, 13, razne parcijalne monozomije i trizomije, Turnerov Sindrom itd.).

Od posebnog interesovanja su konotrunkalne anomalije, često izolovane, ali u nekim slučajevima se radi i o dobro definisanim sindromima kada postoje i drugi znakovi/simptomi (facijes, neonatalna hipokalcemija, labiopalatoschisa, "nazalni" glas itd.), sasvim je opravdano hipotizirati u takvim slučajevima mikrodelecijski sindrom (22q). Koji je najbolji kliničko dijagnostički pristup u slučajevima kada se radi o pacijentima sa kongenitalnim kardiomiopatijama i sumnjom na genetički determinisano patološko stanje, koji je genetički test najbolje izabrati i izvesti, kako i kada raditi genetičko savjetovanje te kako upotrijebiti "negenetičke" pretrage da bi se došlo do dijagnoze jedne genetičke bolesti?

Kontakt: nenadbukvic@virgilio.it

MOLEKULARNI MONITORING CML PACIJENATA PRIMJENOM KVANTITATIVNE RT-PCR METODE

Kozarić A., Mujić J., Ucpunar H.

Klinički Centar Univerziteta u Sarajevu, OJ Klinička patologija i citologija, Sarajevo

Ključne riječi: RQ-PCR, CML, BCR-ABL

CML, hronična mijeloična leukemija, je karcinom bijelih krvnih zrnaca i predstavlja oko 15-20% svih slučajeva leukemija kod odraslih. Karakterizira ga recipročna translokacija između hromozoma 9 i 22 koja proizvodi BCR-ABL fuzioni transkript čiji protein je konstitutivno aktivna tirozin kinaza koja vodi ka nekontrolisanoj proliferaciji svih mijeloidnih ćelija. Od 2001, CML je postalo oboljenje koje se može kontrolisati sa terapijama inhibitora tirozin kinaze. Imatinib (Glivec) je trenutno standardna terapija za CML. Monitoring molekularnog odgovora je fundamentalan za ranu detekciju rezistencije na lijek kao i za dozu lijeka. Cilj ovog projekta jeste iniciranje molekularnog monitoringa pacijenata u BiH tako što će se standardizirati proces od RNK izolacije iz periferne krvi, prevođenja u cDNK i real time PCR. Standardizacija se vrši u saradnji sa laboratorijima u Njemačkoj i Hrvatskoj, gdje će se rezultati standardizirati prema IRIS studiji i odrediti baseline tako što će se za rezultate iz naše laboratorije odrediti konverzioni faktor. Tim putem će rezultati biti harmonizirani sa evropskim LeukemiaNet programom, tako da će se uspješnost terapije CML pacijenta u BiH moći pratiti u usporedbi sa pacijentima iz Evrope i svijeta.

Kontakt: amina.kurtovic@gmail.com

KOMPARACIJA DVIJE KVANTITATIVNE SYBR GREEN REAL-TIME PCR METODE U DETEKCIJI PATOGENA ENDODONTSKO-PARODONTNE INFEKCIJE

Lačević A.¹, Redžić A.², Dedić A.¹, Bajrović K.³, Kapur-Pojškić L.³, Pojskić N.³, Ramić J.³, Lojo-Kadrić N.³

¹ Stomatološki fakultet, Univerzitet u Sarajevu

² Medicinski fakultet, Univerzitet u Sarajevu

³ Institut za genetičko inženjerstvo i biotehnologiju, Univerzitet u Sarajevu

Ključne riječi: apsolutna, relativna QRT/PCR, endodontsko – parodontna infekcija

Tradicionalni kvalitativni PCR za koji je bila potrebna detekcija amplifikacije tek na kraju upotrebom gel elektroforeze, razvio se u automatiziranu, brzu, kvantitativnu tehnologiju. Real-time kvantitativni PCR je precizna tehnologija za amplifikaciju i detekciju nukleinskih kiselina. Takođe se species-specifične QRT/PCR amplifikacije ciljanih patogena rade molekularnim metodama. SYBR Green metoda analize je jednostavnija u manipulaciji u poređenju sa TaqMan metodom i zbog toga je primjenjena u ispitivanju endodontsko-parodontnih kliničkih uzoraka. Cilj ove studije je bilo upoređivanje apsolutne i relativne SYBR Green QRT/PCR metode ispitivanjem prisustva species-specifičnih bakterijskih rodova u primarnoj endodontskoj infekciji i parodontnoj leziji na istom zubu.

Petnaest mikrobioloških uzoraka je sakupljeno kod pacijenata sa endodontsko-parodontnom infekcijom koji su tretirani na Klinici za Dentalnu patologiju i endodonciju Stomatološkog fakulteta Univerziteta u Sarajevu. Uzorci su sakupljeni u aseptičnim uslovima. DNK je ekstrahirana iz uzoraka upotrebom *QIAmp DNA mini* kita po zadatom protokolu proizvođača. Prisustvo ekstrahirane DNK je potvrđeno spektrofotometrijskom analizom (UV mini 1240 UV-VIS Shimadzu Japan).

Pearsonov korelacijski koeficijent je pokazao da ne postoji signifikantna i realna korelacija između apsolutne i relativne kvantifikacijske metode ($P=0.372$) u detekciji patogena u mikrobiološkim uzorcima endodontsko-parodontne infekcije.

Apsolutna kvantifikacijska SYBR Green RT/PCR metoda je preciznija, poželjnija i pouzdanija metoda kada se uporedi sa relativnom kvantifikacijskom metodom.

Kontakt: amelalacevic@yahoo.com

MOLEKULARNO-GENETIČKA KARAKTERIZACIJA EKSPRESIJE cAMP-OVISNE PROTEINSKE KINAZE A (PKA), POTENCIJALNOG MOLEKULARNOG BIOMARKERA ZA RANU DETEKCIJU KARCINOMA DOJKE

Ler D.^{1,2}, Ramić J.¹, Lojo-Kadrić N.¹, Bajrović K.¹, Kapur-Pojskić L.¹

¹ Laboratorija za humanu genetiku, Institut za genetičko inženjerstvo i biotehnologiju, Univerzitet u Sarajevu

² Laboratorija za bioinženjering, Fakultet prirodnih i tehničkih nauka, Internacionalni Univerzitet Sarajevo

Ključne riječi: real time PCR, karcinom dojke, biomarkeri, proteinska kinaza A (PKA)

Karcinom dojke je jedan od najčešćih tipova karcinoma u svijetu i kao takav nastavlja biti ozbiljan problem javnog zdravstva. Pri menadžmentu karcinoma najvažniji su rana detekcija i dijagnoza. Nedostatak senzitiviteta i specifiteta aktualnih biomarkera, kao što su npr. CEA, AFP, PSA, CA15-3, i dr., spriječava njihovu upotrebu u skriningu prosječne rizične populacije. U tu svrhu, novi tumorski markeri su neophodni kako bi se poboljšala i unaprijedila dijagnostika i prognostika bolesti, te omogućila ciljana terapija. Cilj ove studije je optimizacija, identifikacija i validacija potencijalnog molekularnog markera PKA u ljudskom tumorskom uzorku dojke. Za potrebe analize ekspresije PKA korišteni su bioptički uzorci tkiva karcinoma dojke. Za validaciju postupka korištena je periferna krv uzeta venipunkcijom. Molekularno-genetička karakterizacija je uključila razvoj i validaciju postupka za određivanje ekspresije cAMP-ovisne PKA na nivou iRNK, zatim analizu ekspresije odabranog transkripta i relativnu kvantifikaciju ekspresije gena cAMP-ovisne PKA u poređenju sa referentnim genom (β -aktin). Rezultati optimiziranih testova pokazuju da je cAMP-ovisna PKA povećano eksprimirana u tumorskim uzorcima karcinoma dojke ($p < 0,05$). Zaključak je da je povećana ekspresija cAMP-ovisne PKA međusobno povezana sa karcinogenezom što upućuje na korist ovog biomarkera za potrebe metoda skrininga karcinoma dojke.

Kontakt: dariamail@gmail.com

UČESTALOST HROMOSOMSKIH ABERACIJA I MIKRONUKLEUSA U LIMFOCITIMA KONJA NAKON *IN VITRO* OZRAČIVANJA NISKIM DOZAMA IONIZIRAJUĆEG ZRAČENJA

Rukavina D.¹, Hasanbašić D.¹, Sofradžija A.², Haverić A.³, Haverić S.³, Ajanović A.¹

¹ Veterinarski fakultet, Univerzitet u Sarajevu

² Prirodno-matematički fakultet, Univerzitet u Sarajevu

³ Institut za genetičko inženjerstvo i biotehnologiju, Univerzitet u Sarajevu

Ključne riječi: hromosomske aberacije, mikronukleusi, ionizirajuće zračenje, limfociti konja

Poznato je da ionizirajuće zračenje uzrokuje hromosomsku nestabilnost koja se manifestira kao povećana frekvencija hromosomskih aberacija i mikronukleusa, a koje se javljaju kao pouzdan kriterij u biološkoj dozimetriji. Mnogi eksperimenti rađeni na biljkama i životinjama su pokazali da se sa porastom doze zračenja povećava i broj mutacija, te da su i najmanje doze zračenja u stanju izazvati mutacije.

U ovom radu je analiziran utjecaj niskih doza ionizirajućeg zračenja na pojavu hromosomskih aberacija i mikronukleusa u limfocitima periferne krvi 12 konja nakon *in vitro* ozračivanja X zrakama dozama od 0,1 Gy i 0,2 Gy. Kao biomarker genetičkih oštećenja korištene su metode kultivacije limfocita periferne krvi i mikronukleus test. Uočene aberacije su registrirane i klasificirane u skladu sa Međunarodnim sistemom citogenetičke nomenklature (ISCN), a identifikacija mikronukleusa je vršena na osnovu karakteristika koje su dali Fenech i sur.

Rezultati analize hromosomskih aberacija su pokazali da je procenat hromosomskih aberacija viši u kulturama krvi zračene dozama od 0,1 Gy i 0,2 Gy u odnosu na kontrolne uzorke. Mikroskopskom analizom oštećenja hromosomskog materijala u *in vitro* mikronukleus testu uočeno je da ispitivane doze zračenja induciraju pojavu mikronukleusa, dok u neozračenim limfocitima periferne krvi nije evidentirano prisustvo binuklearnih stanica sa mikronukleusima.

Kontakt: dunjarb@gmail.com

UDIO HROMOSOMOPATIJA U ETIOLOGIJI MENTALNE RETARDACIJE KOD DJECE

Koljenović-Metović A., Mušanović J., Ibrulj S.

Katedra za biologiju sa humanom genetikom, Medicinski fakultet, Univerzitet u Sarajevu

Ključne riječi: citogenetska analiza, dijagnostika, hromosomopatije, sindrom

Djeca s posebnim potrebama rađaju se posvuda. Svake sekunde u svijetu se rađa dijete sa malformacijama. Iako ta djeca mogu imati istu dijagnozu, svako dijete je sasvim različito od drugih, čak i unutar iste dijagnostičke skupine.

Glavni cilj ovog istraživanja bio je da se na osnovu raspoložive evidencije o djeci u institucijama, dobiju detaljne informacije o prirodi i složenosti malformacija ove djece, te naglasi značaj i legitimnost citogenetičkih analiza ove populacije, posebno ako je tačan uzrok mentalne retardacije nepoznat. Studija je obuhvatila djecu s posebnim potrebama Centra "Vladimir Nazor" Sarajevo i Srednje škole za stručno obrazovanje i radno osposobljavanje u Sarajevu. Podaci o ispitanicima i njihovim dijagnozama dobiveni su iz uvida u osnovne i dodatne dokumentacije ovih institucija.

Od 100 ispitanika uključenih u ovu studiju, kod 19 od njih su registrovane sljedeće hromosomopatije: Down sindrom u 14 slučajeva, Prader-Willi sindrom u 2 slučaja, Cornelia de Lange sindrom u jednom slučaju, pericentrična inverzija hromosoma 9 u jednom slučaju, hromosomopatija hromosoma 20 (tip aberacija nije naveden) u jednom slučaju.

Incidenca hromosomopatija u našem uzorku bila je manja u odnosu na mnogobrojna ovakva istraživanja u svijetu. Razloge tome treba tražiti u slaboj informiranosti roditelja ove djece o značaju citogenetičkih analiza u dijagnostici sindroma koji su posljedice hromosomskih abnormalnosti.

Kontakt: azra.metovic@mf.unsa.ba

GENOTIPIZACIJA POLIMORFIZAMA GENA ZA INTERLEUKIN 8 FREKVENCije ALELA U POPULACIJI TK

Hercegovac A.¹, Terzić R.¹, Petrovič D.²

¹ PMF, Odsjek biologija, Univerzitet u Tuzli, BiH

² Medicinski fakultet, Univerzitet u Ljubljani, Slovenija

Ključne riječi: polimorfizam, interleukin 8, populacija TK

Faktore koji mogu uticati na povezanost alela sa bolešću, kao što su etnički ili uticaj spola, nije moguće utvrditi bez alelskih frekvencija u populacijama. Genski polimorfizmi interleukina mogu da utiču na gensku transkripciju što dovodi do individualne varijacije u nivoima interleukina. Neki od tih polimorfizama povezani su sa rizikom razvijanja autoimunih bolesti ili ishodom liječenja. Među svim opisanim polimorfizmima IL 8 gena utvrđeno je da polimorfizam u promotorskom dijelu gena 251 A/T ima najsnažniji uticaj na sintezu proteina. Distribucija ovog polimorfizma pokazuje izvanrednu heterogenost među svjetskim populacijama. U našem istraživanju analizirali smo polimorfizme 251 A/T i 1633 T/C gena za interleukin 8 (IL 8). Genotipizacija 251 A/T polimorfizma je izvršena kod ukupno 502 osobe (239 žena i 263 muškarca) dok je ispitivani uzorak za polimorfizam 1633 T/C obuhvatio 467 (227 žena i 240 muškarca) osoba iz populacije TK. Genotipizacija je izvršena metodom PCR – RFLP uz upotrebu restrikcijjskih enzima *Nla III* i *Ase I*. Razlika između spolova je determinisana metodom hi – kvadrat testa. Nije utvrđena statistički značajna razlika između spolova ($p = 0,299$ i $p = 0,346$). Pri analizi polimorfizma 1633T/C utvrđena je frekvencija alela T 0,43 i frekvencija alela C 0,57. Analizom 251 A/T polimorfizma utvrđene su frekvencije alela A 0,47 i alela T 0,53 u populaciji TK. Dalja istraživanja koja bi se odnosila na povezanost pojedinih genotipova i određenog imunološkog fenomena bila bi značajna za objašnjenje osnovnih bioloških procesa i za ukazivanje načina predviđanja, preveniranja ili popravljanja štetnih situacija kod imunoloških bolesti.

Kontakt: amela.hercegovac@untz.ba

HROMOSOMSKE ABERACIJE KOD OSOBA PROFESIONALNO IZLOŽENIH JONIZIRAJUĆEM ZRAČENJU

Mačkić-Đurović M., Aganović-Mušinović I., Ibrulj S.

Centar za genetiku, Medicinski fakultet, Univerzitet u Sarajevu

Ključne riječi: hromosomske aberacije, jonizirajuće zračenje

U periodu od 10 godina u Centru za genetiku realizirane su analize hromosomskih aberacija kod 1634 osobe profesionalno izložene jonizirajućem zračenju niskih doza. Svakom ispitaniku venepunkcijom je vađena krv i kultivirani limfociti u sastavu pune krvi u trajanju od 48 sati na kompletnom PB-MAX Karyotyping Mediumu. Preparati su bojeni standardnom-Giemza metodom, a za svakog ispitanika analizirano je po 200 metafaza.

Rezultati: kod 186 isipitanika od ukupno 1634, uočene su hromosomske promjene. Citogenetički status kod tih ispitanika je odstupao od standardno dozvoljenih vrijednosti, a nivo strukturnih hromosomskih aberacija je iznosio od 2,5% - 7,5%. Među aberacijama najzastupljeniji su: acentrični hromosomski fragmenti – ukupno 169, zatim 66 hromatidna loma, 46 minuta fragmenta, 44 bicentrična hromosoma, 9 kvadriradijalne translokacione figure i 2 centrična prstena. Kod svih ispitanika sa povišenim procentom hromosomskih aberacija rađene su kontrolne citogenetičke analize u intervalima od 3 mjeseca (u tom periodu ispitanici su bili van zone zračenja) i utvrđeno je progresivno smanjenje hromosomskih aberacija: kod većine ispitanika u granicama normalnih vrijednosti, a kod nekih još uvijek iznad njih.

Na učestalost pojave hromosomskih aberacija kod osoba profesionalno izloženih jonizirajućem zračenju niskih doza pored radnog okoliša mogu uticati dodatni faktori okruženja i životni stil kao što je: pušenje, dob ispitanika, prisustvo moguće genotipske varijabilnosti među ispitanicima. Prisustvo hromosomskih aberacija čak i nakon udaljavanja iz zona zračenja sugerira da je vrijeme neophodno za oporavak oštećene DNK varijabilno i indicira na razlike među ispitanicima u radiosenzitivnosti, kao i na individualne razlike u odgovoru kod staničnog oporavka.

Kontakt: mirelamd@yahoo.com

ISPITIVANJE GENOTOKSIČNIH EFEKATA ALPRAZOLAMA METODOM ALLIUM TESTA UPOTREBOM MITOTIČKOG INDEKSA

Ramić N.¹, Mušanović J.², Nefić H.³

¹ Higijensko-epidemiološka služba, Dom zdravlja Vitez

² Katedra za biologiju sa humanom genetikom, Medicinski fakultet u Sarajevu

³ Katedra za genetiku, Prirodno-matematički fakultet u Sarajevu

Ključne riječi: genotoksičnost, Allium test, Alprazolam, mitotički indeks

Promjene koje uzrokuju genotoksični faktori na nivou genetičkog materijala nazivaju se genotoksični efekti. Cilj je bio ispitati genotoksičnost lijeka Alprazolam originalnom metodom Allium testa. U istraživanju je korišten sjemenski luk (*Allium cepa* L. $2n=16$) proizveden bez upotrebe hemijskih sredstava, Alprazolam tablete 0,25 i 0,5 mg za koncentracije (K) 1, 10, 50 i 100 $\mu\text{g/ml}$, te Kolhicin koji zaustavlja mitozu u prometafazi. Statistička značajnost (SZ) utvrđena je hi-kvadrat testom. Uticaj Alprazolama na mitotičku aktivnost praćena je mitotičkim indeksom (MI) za kontrolni i svaki eksperimentalni tretman. MI kontrolnih kultura iznosio je 8,1%. K=1 $\mu\text{g/ml}$ smanjuje MI u 4-satnom i 8-satnom tretmanu, u 12-satnom i 24-satnom MI se povećava. Statistički značajna razlika (SZR) je zabilježena u 8-satnom tretmanu gdje MI iznosi 5,7% ($p<0,01$). MI pri K=10 $\mu\text{g/ml}$ se povećavao u svim tretmanima. Najveći je (9,3%) u 8-satnom tretmanu, u 12-satnom i 24-satnom se smanjio na 9,1%, odnosno na 8,5%. Nije bilo SZR u odnosu na kontrolu. K=50 $\mu\text{g/ml}$ u svim tretmanima, osim u 24-satnom, smanjivala je MI. SZR zabilježene su kod 4-satnog ($p<0,01$) i kod 8-satnog ($p<0,02$) tretmana. K=100 $\mu\text{g/ml}$ djelovala je suprotno od K=50 $\mu\text{g/ml}$. MI se smanjivao produžavanjem tretmana. U 4-satnom tretmanu MI je iznosio 6,8% što je niže u odnosu na kontrolu, ali nema SZ. Kod ostalih tretmana postojala je SZR u odnosu na kontrolu. U 8-satnom tretmanu MI je iznosio 5,2% ($p<0,01$), u 12-satnom MI je 5,0% ($p<0,001$), a u 24-satnom MI je 4,5% ($p<0,001$) što je i bio najniži MI u istraživanju. Kod koncentracija 1, 10 i 50 $\mu\text{g/ml}$ broj profaza i telofaza raste sa produžavanjem tretmana, a metafaza i anafaza opada dok kod 100 $\mu\text{g/ml}$ broj faza uglavnom opada produžavanjem tretmana, što prati i opadanje MI. Za sigurnije ocjenjivanje stepena eventualne genotoksičnosti Alprazolama na humane ćelije potrebno je uraditi složenija istraživanja u kulturama animalnih i humanih ćelija.

Kontakt: nerman76r@yahoo.com

FREKVENCIJA HPV GENOTIPOVA I NJIHOVA KORELACIJA SA OPĆIM BIOLOŠKIM PARAMETRIMA-PRELIMINARNI REZULTATI

Radić K.¹, Ramić J.¹, Ler D.^{1,2}, Bajrović K.¹, Kapur-Pojskić L.¹

¹ Institut za genetičko inženjerstvo i biotehnologiju, Univerzitet u Sarajevu

² Laboratorija za bioinženjering, Fakultet prirodnih i tehničkih nauka, Internacionalni Univerzitet Sarajevo

Ključne riječi: HPV infekcija, cervikalni karcinom, HPV PCR test, frekvencija HPV genotipova, opći biološki parametri

Cervikalni karcinom (rak grlića materice) je drugi najčešći tip karcinoma koji pogađa žene širom svijeta. Prema studiji koju je provela Internacionalna agencija za istraživanje kancera (IARC), 99,7% svih cervikalnih karcinoma izazvano je perzistentnom infekcijom visokorizičnim tipovima HPV virusa.

Jedan od ciljeva istraživanja je utvrđivanje frekvencije HPV genotipova u geografski ograničenoj populaciji ispitanica. Kao izvor genetičkog materijala korišteni su vaginalni brisevi. Za HPV genotipizaciju korišten je originalno optimizirani metod zasnovan na kontroliranoj PCR multipleks amplifikaciji najčešćih HPV genotipova (11, 16, 18, 31, 33 i 35). Amplikoni su analizirani na DNK biočipu (Agilent DNA 1000) na automatiziranom elektroforetskom detektoru visoke rezolucije (2100 Electrophoresis Bioanalyzer system, Agilent, USA). Dobijeni haplotipovi su korelirani sa osnovnim biološkim i demografskim podacima koji su prikupljeni putem upitnika koje su popunjavale ispitanice. Za analizu genetičkih podataka i izračun izvedenih pokazatelja korišten je MedCalc v2.

Rezultati ovog istraživanja mogu pružiti znanstveni osnov za eventualno iniciranje i provođenje šireg istraživanja na većem i relevantnijem uzorku ženske populacije, kako bi se razvile odgovarajuće strategije i programi skrininga i preveniranja HPV infekcija i cervikalnih karcinoma. Preliminarni rezultati istraživanja se odnose na testiranje prisustva/učestalost HPV-a na uzorcima prve kohorte ispitanica, te na frekvenciju pojedinih HPV genotipova i korelaciju učestalosti HPV infekcija i određenih demografskih, odnosno socio-ekonomskih parametara koji su obuhvaćeni upitnikom.

Kontakt: ksenija.radic@ingeb.ba

OPTIMIZACIJA POUZDANOG I BRZOG GENETIČKOG TESTA ZA HUNTINGTONOVU BOLEST (HD) PRIMJENOM ELEKTROFORETSKOG ANALIZATORA VISOKE REZOLUCIJE

Ramić J., Kapur-Pojskić L., Radić K., Bajrović K.

Institut za genetičko inženjerstvo i biotehnologiju, Univerzitet u Sarajevu

Ključne riječi: PCR test, Huntingtonova bolest, DNK analizator visoke rezolucije

Sve do pojave *PCR based* genetičkih testova (1990-tih godina) genetička dijagnostika Huntingtonove bolesti i uopšte oboljenja uzrokovanih nestabilnim ponavljajućim sekvencama bazirala se uglavnom na klasičnim Southern blotingu ili hibridizacijskim PCR-om. U ovom radu optimizirana je i primjenjena PCR metoda koja je brža u odnosu na klasične metode. Korištenjem specifičnih prajmerskih sekvenci, amplificiran je genski region koji sadrži CAG ponavljajuću sekvencu i dijelove susjedne sekvence (*flanking regions*) huntigtina. Amplikoni su vizualizirani na agaroznom gelu i DNK bioanalizatoru. Protokol koji uključuje detekciju na elektroforetskom analizatoru visoke rezolucije omogućava jednostavnu i pouzdanu detekciju i distinkciju normalnog od patološkog broja CAG ponavljanja i pogodna je za *screening* testove suspektih nosioca patoloških mutacija kao i za dijagnostičke analize.

Kontakt: jasmin.ramic@ingeb.ba

Sesija

GENETIKA U FORENZICI

Predsjedništvo **Prof. dr. Damir Marjanović, viši naučni saradnik**
Institut za genetičko inženjerstvo i
biotehnologiju, UNSA

Mr. Ana Bilić
Međunarodna komisija za nestale osobe

Rijad Konjhodžić, inž.
Klinički centar Univerziteta u Sarajevu

DIVERZITET NUKLEARNIH MIKROSATELITNIH DNK MARKERA U REFERENTNOM UZORKU STANOVNIŠTVA SJEVEROISTOČNE BOSNE

Hadživdić V.¹, Eminović I.², Marjanović D.³, Pojskić N.³, Hadžiselimović R.^{2,3}, Bajrović K.³

¹ Prirodno-matematički fakultet, Univerzitet u Tuzli

² Prirodno-matematički fakultet, Univerzitet u Sarajevu

³ Institut za genetičko inženjerstvo i biotehnologiju, Univerzitet u Sarajevu

Ključne riječi: STR markeri, mikrovarijante, mutacija, diverzitet

Diverzitet nuklearnih mikrosatelitnih DNK markera analiziran je u referentnom uzorku stanovništva sjeveroistočne Bosne. Procesirano je 437 uzoraka uzetih od nesrodnih individua i prikazana su tri primjera dokazivanja paterniteta. Uspješnost detekcija profila u istraživanju ukazuje na validan izbor metode ekstrakcije, amplifikacije i genotipizacije STR lokusa sa komercijalnim *PowerPlex™ 16* (PP 16 Promega) na *ABI Prism 3100 Genetic Analyser*. Genetička analiza alelnih varijanti na 15 STR lokusa *PowerPlex™ 16* kita detektovala je 17 uzoraka determiniranih kao rijetke alelne varijante ili mikrovarijante. Uzorci su svrstani u 15 različitih alelnih varijanti na 7 različitih lokusa i to: u lokusu D7S820 (alelna varijanta 7.3 i 11.3), D16S539 (alelna varijanta 15.2), D3S1358 (alelna varijanta 11), D18S51 (alelna varijanta 7), PENTA D (alelne varijante 11.2, 12.1, 14.1, 18, 19, 16.2), PENTA E (16.4. i 17.4) i u lokusu vWA (alelne varijante 12.2 i 15.2). Penta D lokus imao je najveći broj jedinstvenih alelnih varijanti čak 6. Nominalna frekvencija za mikrovarijante iznosila je 0,0588%.

Genetička analiza mutacija u slučajevima paterniteta determinirala je tri primjera jednostepenih mutacija u lokusima FGA (26→27), Penta D (12→13) i D3S1358 (17→18). Genetička analiza observiranih STR lokusa detektovala je i tri alelne varijante genotipske kombinacije 7/10/11.3 u lokusu D7S820 Tipa II, koja sugerira da se radi o hromosomskoj duplikaciji.

Rezultati analize specifičnih forenzičkih parametara u ukupnom uzorku pokazuju da su najveće vrijednosti PE (0,757) i PD (0,978) zabilježene u lokusu Penta E i može se smatrati da je najinformativniji marker PENTA E za populacijsko genetičke analize i forenzička testiranja u populaciji sjeveroistočne Bosne.

Kontakt: vesna.hadziavdic@untz.ba

DOKAZNA VRIJEDNOST DNK PROFILIRANJA

Milosavljević M.¹, Milosavljević D.², Milosavljević S.³

¹ Federalna uprava policije, FMUP, Sarajevo

² Općinski sud u Sarajevu, Sarajevo

³ Pravni fakultet UNSA, Sarajevo

Ključne riječi: biološki trag, DNK analiza, identifikacija, dokazna vrijednost

Primjena DNK analiza otvorila je jedno novo poglavlje u identifikacijama lica i tragova biološkog porijekla. Na ovaj način suprotstavljanje zločinu dobilo je jednu novu, potpuno sigurnu dimenziju. Njenom primjenom i analizom odgovarajućih lokusa u tumačenju dokazne vrijednosti DNK analiza moguće je zaključiti da dobijeni rezultat isključuje, izvan granica razumne sumnje, mogućnost da ispitivani trag potiče od neke druge osobe, a ne od one čiji uzorak se analizira. U procesu analiza i tumačenja dokazne vrijednosti potrebno je voditi računa i o načinu formiranja navedenog dokaza, relevantnosti određenog traga sa konkretnim događajem, mogućnosti podmetanja tragova, nemogućnosti da se odredi starost ispitivanog traga itd.

Kontakt: mmladen@hs-hkb.ba

RAD I ULOGA ICMP-A U PROCESU IDENTIFIKACIJE NESTALIH OSOBA

Bilić A.

ICMP, Sarajevo, BiH

Međunarodna komisija za nestale osobe (ICMP) je osnovana na inicijativu američkog predsjednika Bila Clintona 1996. godine, nakon samita zemalja grupe G-7 održanog u francuskom gradu Lyonu.

ICMP čije je sjedište u Sarajevu, aktivno sudjeluje u procesu pružanja pomoći vladama i drugim institucijama u raznim dijelovima svijeta prilikom rješavanja socijalnih i političkih pitanja u vezi sa nestalim osobama, kao i uspostavljanju efikasnih sistema identifikacije nakon sukoba ili prirodnih nepogoda.

ICMP-ov program identifikacije koji se prvenstveno zasniva na DNK analizi, suočava se sa jedinstvenim izazovima u procesu, uključujući parametre kao što je lokacija, stanje i broj posmrtnih ostataka prikupljenih za analizu DNK. Kao rješenje za ovu složenu situaciju, ICMP primjenjuje iznimno efikasan proces testiranja DNK iz koštanih uzoraka, koji se zasniva na istovremenoj analizi većeg broja uzoraka što je, u svijetu, jedinstveno rješenje problema, kada je u pitanju masovna identifikacija.

Najvažniji dijelovi procesa analize DNK uključuju prikupljanje referentnih uzoraka krvi srodnika nestalih osoba, prijem koštanih uzoraka od nadležnih vještaka sudske medicine ili ovlaštenih forenzičkih antropologa koji iskopavaju posmrtnu ostatku iz grobnica, zatim, laboratorija za analizu DNK, te proces provjere postojanja podudaranja profila DNK, koji se odvija u Odsjeku za koordinaciju identifikacija (ICD) u Tuzli.

Od novembra 2001. godine, ICMP prednjači u korištenju DNK analize kao prvog koraka u procesu identifikacije većeg broja nestalih nakon oružanog sukoba. ICMP je kreirao bazu podataka u kojoj su pohranjeni podaci za 88 495 osoba koje su u krvnom srodstvu sa 29 063 nestala lica, te preko 32 000 uzoraka kostiju posmrtnih ostataka ekshumiranih iz sakrivenih grobnica u zemljama bivše Jugoslavije. ICMP je poređenjem DNK iz krvi i DNK iz uzoraka kostiju uspješno identifikovao 15 802 osobe nestale tokom sukoba, čiji su posmrtni ostaci pronađeni u skrivenim grobnicama.

Kontakt: ana.bilic@ic-mp.org

ICMP – ULOGA AKREDITACIJE I UPRAVLJANJE KVALITETOM U FORENZIČKOJ LABORATORIJI

Kadrić-Tanković D.

ICMP, Sarajevo, BiH

Rad laboratorija za obradu uzoraka u Banjaluci i analizu DNK u Sarajevu kao i Odsjek za koordinaciju identifikacija (ICD) u Tuzli su akreditovani po međunarodnom standardu ISO/IEC17025:2005, ILAC G19:2002 od strane njemačke nacionalne agencije za akreditaciju DAkkS.

Sistem kontrole kvaliteta (Quality Management Systems - QMS) ustanovljen kako bi se formalno pratio rad Odjela forenzičkih nauka (FSD) u skladu sa unutarnjim i vanjskim standardima kvaliteta. QMS podrazumijeva redovnu formalnu reviziju svih objekata i protokola kako bi se obezbijedilo poštovanje usvojenih metoda. QMS obezbjeđuje pravilno dokumentovanje metoda i strategija ICMP-a, te njihovu dostupnost uposlenicima. Osim toga, QMS prati usavršavanje uposlenika i nivo njihove stručnosti, a u njegovoj nadležnosti je i čuvanje dokumentacije u skladu sa standardom ISO 17025 koji je dodijeljen ICMP-u, te usklađenost sa akreditovanim standardima.

Kontakt: dijana.kadric@ic-mp.org

ICMP – OBRADA I TESTIRANJE KOŠTANIH UZORAKA U SVRHU FORENZIČKE ANALIZE

Vidović S.

ICMP, Sarajevo, BiH

Proces izolacije DNK profila iz degradiranih uzoraka kostiju i zuba je vrlo specijalizovan, a metode koje se koriste potiču od najmodernijeg oblika analize DNK iz jako starih uzoraka ("Ancient DNA Analysis").

Uzorci kostiju obrađuju se u laboratoriju u Banja Luci i tako obrađeni dostavljaju u laboratoriju u Sarajevu, gdje se obavlja ekstrakcija DNK i STR genetsko profiliranje uzoraka posmrtnih ostataka.

Zahvaljujući ovako prilagođenom pristupu analizi DNK, koja podrazumijeva rad specijalizovanih timova u svim stadijima procesa ekstrakcije i analize, postiže se izuzetno veliki broj istovremenih analiza većeg broja uzoraka DNK.

Kontakt: stojko.vidovic@ic-mp.org

ICMP – GENETSKA ANALIZA

Smajlović L.

ICMP, Sarajevo, BiH

ICMP primjenjuje analizu nuklerane DNK u svrhu dobijanja STR profila. Quantifiler® Human DNA Quantification sistem se koristi za određivanje kvantiteta i kvaliteta izlovene DNK nakon čega se pristupa umnožavanju ciljanih STR lokusa polimeraznom lančanom reakcijom (PCR). Za umnožavanja DNK koriste se sljedeći komercijalno dostupni multipleks STR sistemi: PowerPlex® 16, PowerPlex® ESX 17, AmpFℓSTR® Identifiler® i AmpFℓSTR® Yfiler® na instrumentu GeneAmp® PCR System 9700. Kapilarna elektroforeza radi se na instrumentima Applied Biosystems 3130xl Genetic Analyzer, a analiza rezultata pomoću softvera ABI PRISM® GeneScan®, Genotyper® i GeneMapper®. Rezultati analize STR profila u tabelarnoj formi predaju se u ICD u svrhu pronalaska podudaranja između profila DNK nestalih osoba i članova porodica.

Kontakt: lejla.smajlovic@ic-mp.org

ICMP – STATISTIČKA OBRADA REZULTATA I DNK IZVJEŠTAJI

Bajunović Z.

ICMP, Sarajevo, BiH

Poređenje profila DNK nestalih osoba i profila članova njihovih porodica se obavlja u ICD', a u svrhu identifikacije zasnovane na krvnom srodstvu. Provjera podudaranja DNK profila izolovanih iz posmrtnih ostataka i DNK profila izolovanih iz krvnih uzoraka prikupljenih od članova porodice nestale osobe vrši se pomoću programa koji su razvili programeri ICMP-a, a konačni statistički podaci o krvnom srodstvu se dobiju obradom svih podataka o srođnicima nestalog pomoću programa *DNAView-a*. Izvještaji o DNK podudaranju se izdaju u slučajevima kada postoji podudaranje sa statističkom tačnošću od 99.95% ili više, uz prethodno utvrđenu vjerovatnoću koja je pretpostavka broja nestalih iz određene regije.

ICD sa DNK laboratorijima koordinira formalni proces pregledanja svih DNK podataka uključujući i podatke o porodici i antemortem podatke kako bi se napravili izvještaji o DNK podudaranju.

Kontakt: zlatan.bajunovic@ic-mp.org

ODABIR, ANALIZA I UPOTREBA AUTOZOMALNIH SNP-OVA U FORENZICI

Konjhodžić R.

Klinički Centar, Univerzitet u Sarajevu

Ključne riječi: SNP, DNA, primer

Upotreba autozomalnih SNP-ova može biti suplement klasičnoj STR tipizaciji. Prednosti SNP analize leže u analizi manjeg fragmenta DNA, što može pomoći kod slučajeva sa visoko degradiranim uzorcima. S druge strane, probleme mogu predstavljati specifičnost reakcije, način detektiranja SNP-ova, kao i sam dizajn protokola analize. Cilj prezentacije je da, kroz diskusiju laboratorijskih rezultata, razmotri potencijal korištenja autozomalnih SNP-ova u forenzičkoj praksi.

Kontakt: rijadk@gmail.com

NEOPHODNOST USPOSTAVLJANJA FORENZIČNE DNK BAZA PODATAKA U BOSNI I HERCEGOVINI

Marjanović D.

Institut za genetičko inženjerstvo i biotehnologiju, Univerzitet u Sarajevu, BiH

Ključne riječi: DNK analiza, baza podataka, postojeća legislativa, kriteriji uspostavljanja

Forenzična DNK tehnologija i DNK baze podataka su široko prihvaćeni kao najefikasnija i najefektivnija sredstva dostupna pravosudnim organima. U odsustvu DNK baze podataka, ova tehnologija prestaje biti izrazito učinkovito oruđe istrage i može biti upotrebljiva samo onda kada je već identificirana osumnjičena osoba tradicionalnim načinom istrage. U tim uvjetima, kada je policija već uradila svoj posao, sama DNK analiza može samo dodatno poduprijeti slučaj. Međutim, sa bazom podataka, sam proces istrage postaje efektivniji i učinkovitiji. To je posebno tačno u slučaju kada tradicionalnim tehnikama istrage nije moguće identificirati osumnjičenog. Veliki je broj faktora koji utiču na kreiranje učinkovite DNK baze podataka. No, najvažniji od njih su specifična legislativa i ovlasti/ograničenja koja zakon nameće prilikom korištenja tih baza. Čak i ako je kvaliteta laboratorije izvrsna i vrijeme procesuiranja uzoraka veoma kratko, neadekvatna legislativa može umnogome ograničiti iskorištavanje potencijala koje DNK baze podataka imaju. Upravo je kvalitet datog zakona ono što čini DNK efikasnim sredstvom istrage. Mnoge države u svijetu iskoristile su prednosti DNK tehnologije, no svaka od njih je na različit način pristupila procesu uvođenja i upotrebe DNK baza podataka. Pitanja poput: čiji bi podaci trebali biti uključeni u bazu, kako pohraniti uzorke, koliko dugo je dopušteno čuvati uzorke, da li i kada podaci trebaju biti izbrisani iz baze, samo su neka pitanja o kojima se mora voditi računa u kreiranju i razvoju baze podataka. Nažalost, Bosna i Hercegovina još nije pokrenula ozbiljnije aktivnosti u vezi sa kreiranjem nacionalne DNK baze podataka. Pokrenuta je zvanična procedura za usvajanje zakona iz ove oblasti, no taj prijedlog uveliko pati od velikih nedostataka. Jedini postojeći pravni akti koji se trenutno dotiču forenzične DNK analize jesu četiri člana zakona o krivičnome postupku koji je usvojen na entitetskom i državnom nivou, kao i na nivou Brčko distrikta BiH i pravilnik o načinu prikupljanja i uzimanja biološkog materijala za potrebe analize dezoksiribonukleinske kiseline u krivičnom postupku. S obzirom na navedene činjenice o upotrebnoj vrijednosti same baze podataka, nije teško zaključiti koliko je bitno ovo pitanje regulirati kako na "zakonskom", tako i na ekspertnom nivou.

Kontakt: damir.marjanovic@ingeb.ba

RETROSPEKTIVNA ANALIZA RAZNOVRSNOSTI BIOLOŠKIH TRAGOVA PROCESUIRANIH U LABORATORIJU ZA FORENZIČKU GENETIKU (INGEB)

Kovačević L.^{1,2}, Čakar J.¹, Džehverović M.¹, Buljugić Dž.¹, Marjanović D.¹

¹ Institut za genetičko inženjerstvo i biotehnologiju, Univerzitet u Sarajevu

² Farmaceutski fakultet, Univerzitet u Sarajevu

Ključne riječi: forenzička DNK analiza, biološki tragovi, STR markeri

DNA typing u forenzične svrhe bazira se na fundamentalnim principima i koristi skoro iste tehnike koje se rutinski primjenjuju u medicinskoj dijagnostici kao i u različitim populaciono-genetičkim istraživanjima. Ove molekularne metode se baziraju na analizi osnovnoga svojstva svih živih bića – molekularnom biodiverzitetu (raznolikosti). Također, fundamentalna karakteristika ovih metoda je da se na osnovu malih količina DNK prisutnih u posmatranom biološkom tragu može, sa visokim stupnjem sigurnosti, utvrditi genetički identitet osobe koja je taj trag ostavila za sobom. Forenzična genetika je znanstvena oblast genetike koja izučava primjenu genetičkih spoznaja u sudskim, krivično-pravnim postupcima. Latinski korijeni riječi (lat. *forensis* – javan, pogodan za sud javnosti) sami po sebi dovoljno pojašnjavaju model njene primjene u društvu. Ova naučna disciplina podrazumijeva obradu pojedinih tragova i tako dobivenih rezultata genetičkim metodama, a u cilju rekonstrukcije toka događaja i precizne individualizacije učesnika tih događaja najčešće u sklopu sudskih, policijskih, ali i drugih istraga. Prvenstveno se bazira na analizi dostupnih tragova, a u cilju stvaranja međusobnih veza između počinioca, sredstva, mjesta i predmeta izvršenja ili pak utvrđivanja identiteta žrtve. U okviru laboratorija za forenzičnu genetiku u okviru Instituta za genetičko inženjerstvo i biotehnologiju u protekloj deceniji realizirane je više stotina forenzičnih DNK analiza i procesuirano više od 1000 različitih bioloških tragova. U okviru ove prezentacije pripremljena je analiza raznovrsnosti bioloških tragova koji su procesuirani u ovom laboratoriju, kao i prikaz uspješnosti analizeza određeni tip tragova.

Kontakt: lejla.kovacevic@ingeb.ba

**UVOD U HUMANU/FORENZIČKU GENETIKU I IDENTIFIKACIJA NA OSNOVU DNA PROFILA. STUDIJA
SLUČAJA: NEPRAVEDNA OPTUŽBA ZA KRIVIČNO DJELO SPOLNOG ODNOSA SA DJETETOM**

Karahasanović E., Milosavljević M., Martinović-Muk M., Ušanović A., Đulović A., Alispahić S.

Federalna uprava policije, FMUP, Sarajevo

Ključne riječi: genetika, DNA analiza, identifikacija, lažna optužba

Primjena genetike na primjeru DNA analiza, još jednom, je pokazala da prirodne nauke predstavljaju neiscrpan izvor mogućnosti u oblasti forenzičkih nauka. Najsloženije istrage, na ovaj način, dobijaju rezultate preko kojih je na potpuno siguran način moguće identificirati izvršioca nekog krivičnog djela. U okviru novih tehnologija, DNA analize, pokazuju svu širinu mogućeg spektra u forenzičkim istragama. U studiji slučaja analiziramo i pojašnjavamo kako je primjenom DNA analiza moguće potpuno pouzdano identificirati DNA profil određenog traga, ali i utvrditi da niti jedno od osumnjičenih lica nije moglo ostaviti navedeni trag. Na ovaj način nevini ljudi oslobođeni su sumnje da su izvršioци krivičnog djela.

Kontakt: biologija@fup.gov.ba

KONKRETIZACIJA PRIMJENE DNA ANALIZE U KRIMINALISTIČKO-FORENZIČKIM ISTRAŽIVANJIMA-STUDIJA SLUČAJA

Ušanović A., Milosavljević M., Martinović-Muk M., Karahasanović E., Đulović A., Alispahić S.

Federalna uprava policije, FMUP, Sarajevo

Ključne riječi: silovanje, maloljetna osoba, izvršilac, DNA analiza, identifikacija

Pojavom DNA analiza u svijetu identifikacija tragova biološkog porijekla otvorena je nova stranica u borbi sa svim vidovima kriminala. Fundamentalnost ove tehnologije učinilo je mogućnost identifikacija bioloških tragova sa sigurnošću koja van granica razumne sumnje pokazuje da određeni trag potiče baš od određene osobe, a ne od neke druge osobe. Na ovaj način stekli su se izuzetno pouzdani parametri da se konkretni kriminalci dovode u vezu sa određenim tragovima nekog krivičnog djela, ali i da se nevine osobe sasvim sigurno isključuju kao mogući ostavioci nekog traga, odnosno počinioci nekog krivičnog djela. U primjeru koji navodimo, kao studija slučaja, opisujemo silovanje maloljetnog ženskog lica od strane punoljetnog izvršioca i objašnjavamo postupak u kome su rezultati DNA analize apsolutno potvrdili da je osumnjičeno (muško) lice zaista i počinilo navedeno krivično djelo.

Kontakt: biologija@fup.gov.ba

DNK ANALIZA TELOGENIH DLAKA PRIMJENOM *POWERPLEX ESI 17* MULTIPLEKSNOG STR SISTEMA – PRELIMINARNI REZULTATI

Hamidičević M.¹, Buljugić Dž.², Kovačević L.^{2,3}, Čakar J.², Džehverović M.², Marjanović D.²

¹ Odsjek za biologiju, Prirodno – matematički fakultet, Univerzitet u Sarajevu

² Institut za genetičko inženjerstvo i biotehnologiju, Univerzitet u Sarajevu

³ Farmaceutski fakultet, Univerzitet u Sarajevu

Ključne riječi: telogena dlaka, multipleksni STR sistem, forenzička DNK analiza

Primjena genetike na primjeru DNA analiza, još jednom, je pokazala da prirodne nauke predstavljaju neiscrpan izvor mogućnosti u oblasti forenzičkih nauka. Najsloženije istrage, na ovaj način, dobijaju rezultate preko kojih je na potpuno siguran način moguće identificirati izvršioca nekog krivičnog djela. U okviru novih tehnologija, DNA analize, pokazuju svu širinu mogućeg spektra u forenzičkim istragama. U studiji slučaja analiziramo i pojašnjavamo kako je primjenom DNA analiza moguće potpuno pouzdano identificirati DNA profil određenog traga, ali i utvrditi da niti jedno od osumnjičenih lica nije moglo ostaviti nav Forenzička genetika kao naučna oblast genetike izučava primjenu genetičkih spoznaja u sudskim, krivično-pravnim postupcima. Jednu od glavnih uloga u forenzičkim istraživanjima ima DNK analiza, koja se najčešće primjenjuje u istraživanjima kriminalnih radnji, testiranju spornog paterniteta i u identifikacijama humanih skeletnih ostataka. Jedan od najčešćih bioloških tragova na mjestu zločina jeste telogena dlaka, pa su zbog toga istraživanja vezana za ovaj forenzički trag od velikog značaja. Dosadašnja iskustva su pokazala da većina dlaka u telogenoj fazi rasta nije podobna za testiranje nuklearne DNK. Ipak, na tržištu je danas dostupno nekoliko komercijalnih multipleksnih kitova koji omogućavaju uspješnu forenzičku DNK analizu ovako zahtjevnih tragova. Također, primjenom savremenih metoda kao što je midiSTR ili miniSTR procedura, kao i kombinacija istih, u kojoj su prajmeri locirani bliže polimorfnom STR regionu, danas čak i visoko degradirana nuklearna DNK može biti uspješno analizirana. Osnovni cilj ove preliminarne studije jeste utvrditi mogućnost generiranja potpunog nuklearnog DNK profila na tragovima humanih dlaka u telogenoj fazi rasta pomoću kombiniranog multipleksnog STR sistema. S druge strane komparacijom rezultata ove studije sa rezultatima dobivenim primjenom miniSTR sistema, testirala se primjena ovog amplifikacijskog kita na biološkom tragu koji sadrži degradiranu nuklearnu DNK.edeni trag. Na ovaj način nevini ljudi oslobođeni su sumnje da su izvršioi krivičnog djela.

Kontakt: lejla.kovacevic@ingeb.ba

KOMPARATIVNA ANALIZA UČINKOVITOSTI TRI RAZLIČITA EKSTRAKCIJSKA PROTOKOLA ZA IZOLACIJU DNK IZ BIOLOŠKOG TRAGA ANAGENE DLAKE

Sirbubalo A.¹, Buljugić Dž.², Kovačević L.^{1,2}, Čakar J.², Džehverović M.², Marjanović D.²

¹ Farmaceutski fakultet, Univerzitet u Sarajevu

² Institut za genetičko inženjerstvo i biotehnologiju, Univerzitet u Sarajevu

Ključne riječi: dlaka, anagen faza, nuklearna DNK, DNK profil, ekstrakcija

Dlake predstavljaju jedan od najčešće otkrivenih bioloških tragova na mjestu zločina, ali ujedno predstavljaju i trag koji je izuzetno kompleksan za analizu i čiji se rezultati analize nerijetko pogrešno prezentiraju i tumače. Epitet dobrog forenzičkog dokaza opravdavaju činjenicama da se radi o izuzetno stabilnome biološkome tragu koji može egzistirati nepromijenjen dugi vremenski period, da nosi veliki broj bioloških i biohemijskih informacija, te da je proces njihove osnovne analize jednostavan i jeftin. Posljednjih godina status dlake, kao zahvalnoga traga za analizu, potkrijepila je i primjena uspješne DNK analize, kako nuklearne tako i mitohondrijalne. Postoje tri osnovne faze rasta dlake: anagen, katagen i telogen. Sa stanovišta forenzične DNK analize, tj. generiranja nuklearnoga DNK profila, anagen je faza u kojem je uspješnost ove analize najveća. To proizilazi iz prisustva velikoga broja epitelnih ćelija pozicioniranih oko korijena dlake. Osnovna intencija ove preliminarne studije je utvrđivanje prednosti i nedostataka apliciranih ekstrakcijskih protokola (metoda organske ekstrakcije, metoda isoljavanja po Miller-u i Qiagen® kit) kod izolacije DNK iz biološkog traga anagene dlake u okviru forenzičke DNK analize. Na osnovu dobijenih rezultata ustanovljeno je koji ekstrakcijski protokol se pokazao najefikasnijim s ciljem dobijanja potpunog DNK profila. Ova komparativna analiza prvenstveno je bazirana na usporedbi rezultata kvantifikacije i detekcije izolirane DNK, ali i na analizi ostalih parametara procesa kao što su utrošeno vrijeme, podložnost kontaminaciji, upotreba štetnih reagenasa.

Kontakt: lejla.kovacevic@ingeb.ba

ISPITIVANJE MOGUĆNOSTI GENERIRANJA DNK PROFILA IZ PRIKUPLJENIH OTISAKA PRSTIJU

Hadžić N.¹, Kovačević L.^{2,3}, Čakar J.², Džehverović M.², Buljugić Dž.², Marjanović D.²

¹Odsjek za biologiju, Prirodno – matematički fakultet, Univerzitet u Sarajevu

²Institut za genetičko inženjerstvo i biotehnologiju, Univerzitet u Sarajevu

³Farmaceutski fakultet, Univerzitet u Sarajevu

Ključne riječi: biološki trag, otisak prsta, miniSTR

Postoji veliki broj definicija pojma biološki trag i svaka od njih je manje-više tačna, tj. precizna. Jedna od najšire prihvaćenih definicija biološki trag tretira kao biološku materiju, vidljivu ili nevidljivu, pronađenu na mjestu izvršavanja kriminalnih radnji. U najširem smislu te riječi, biološki trag možemo definisati kao svaki trag humanog, animalnog ili biljog porijekla koji se pronađe na mjestu krivičnog događaja. Jedna od osnovnih činjenica o kojoj treba voditi računa je da pod djelovanjem različitih faktora prilikom otkrivanja i prikupljanja većina bioloških tragova može da promijeni svoj prvobitni oblik, agregatno stanje, boju i druga svojstva. Otisak prstiju (engl. *fingerprint*) je već dugi niz godina vodeći identifikacijski i individualizacijski marker koji se koristi u forenzičnoj znanosti. Ono što otiske prstiju čini izuzetnim individualnim markerom jeste to da se oni ne mijenjaju tokom cijelog života, osim u slučajevim ozbiljnih i dubokih povreda, te da ni jednojajčani blizanci nemaju identičan motiv papilarnih linija. Upravo ta činjenica im daje prednost čak i nad DNK analizom u slučajevima individualizacije jednojajčanih blizanaca. U posljednje vrijeme intenzivirani su naporu u optimizaciji procesa DNK analize ovih tragova koji se zasniva na analizi potencijalno prisutnih malih količina epitelnih ćelija. Osnovna funkcija epitelnog tkiva je zaštitna, njime su obložene sve slobodne površine tijela kao i unutrašnjih organa, te predstavljaju najčešći biološki trag koji se može ostaviti na mjestu kriminalne radnje, direktnim kontaktom sa predmetima ili putem tjelesnih izlučevina. Osnovni cilj ove preliminarne studije je ispitivanje mogućnosti generiranja standardnog nuklearnog DNK profila iz prikupljenih tragova epitelih ćelija metodom otiska prstiju, primjenom multipleksnog sistema koji se bazira na analizi standardnih i miniSTR markera.

Kontakt: lejla.kovacevic@ingeb.ba

OPTIMIZACIJA PROCESA FORENZIČNE DNK ANALIZE BILJNIH TRAGOVA

Muhić N.¹, Karišik A.¹, Čakar J.², Džehverović M.², Kovačević L.^{1,2}, Buljugić Dž.², Marjanović D.²

¹ Farmaceutski fakultet, Univerzitet u Sarajevu

² Institut za genetičko inženjerstvo i biotehnologiju, Univerzitet u Sarajevu

Ključne riječi: forenzička botanika, hloroplastna DNK, ekstrakcija, amplifikacija

Forenzička botanika je multidisciplinarna grana forenzičke nauke koja proučava biljni dokazni materijal sakupljen sa mjesta zločina. Tehnike molekularne biologije snažno su oruđe u primjenjenoj forenzičkoj botanici, a uspostavljanje pouzdanog sistema za izolaciju genomske DNK iz biljnog materijala jedan je od njenih najvećih izazova. Biljni materijal prikupljen sa mjesta zločina često je prisutan u veoma malim količinama (polen, sitni dijelovi biljnog tkiva) ili se nalazi u degradiranom stanju (u stomačnom sadržaju, fekalnom materijalu, itd.). Izbor optimalne metode ekstrakcije prikupljenog biljnog materijala i amplifikacije DNK prvi je korak u svim daljnjim molekularno-genetičkim istraživanjima. U našem istraživanju četiri ekstrakcijska protokola su korištena za ekstrakciju biljne DNK iz polena vrste *Hibiscus syriacus* L. i listova vrste *Tilia platyphyllos* Scop. Za amplifikaciju hloroplastne DNK korišteni su specifični prajmeri (trnL) i odgovarajući protokol koji podrazumjeva optimalni temperaturni režim za denaturaciju, amplifikaciju i elongaciju umnoženih segmenata DNK. Ova preliminarna studija predstavlja osnovu svih budućih molekularno-genetičkih istraživanja iz oblasti forenzičke botanike, koje planiramo rutinski primjenjivati u našoj laboratoriji.

Kontakt: nezlla@hotmail.com; karisik_amina@hotmail.com

INDEX AUTORA

Adler B.	66
Aganović-Mušinović I.	67, 81
Ahmić A.	29, 30
Ajanović A.	78
Alić N.	62
Alispahić S.	98, 99
Altuntag K.	63
Aljičević M.	59
Bajrović K.	29, 37, 65, 71, 76, 77, 83, 84, 87
Bajunović Z.	93
Ballian D.	53, 55
Bašić N.	14, 35
Bećiraj A.	32
Beganović A.	73
Bego T.	21, 69, 70
Beljo J.	50
Berberović Lj.	13
Bešlija S.	66
Bijedić V.	71
Bilić A.	89
Bogunić F.	14, 35, 53, 54, 55
Brown S. C.	35
Bukvić D.	16
Bukvić N.	16, 61, 74
Buljugić Dž.	97, 100, 101, 102, 103
Catrice O.	35
Cerić Š.	66
Cerić T.	66
Čakar J.	36, 97, 100, 101, 102, 103
Ćatović A.	67
Dautbašić M.	53
Dedić A.	76
Dekić R.	32
Demirović K.	59
Drkenda P.	17
Dudević S.	56
Dujjić T.	21, 69, 70
Durmić-Pašić A.	66
Džehverović M.	97, 100, 101, 102, 103
Đulović A.	98, 99

Eminović I.	60, 87
Fatušić Z.	73
Gagić A.	64
Galić B.	37
Galić Z.	15
Garnatje T.	54
Gaši F.	17, 47
Glamočlija U.	49
Goletić T.	45, 64
Hadžiabulić S.	17
Hadživdić V.	30, 87
Hadžić N.	102
Hadžiselimović R.	19, 29, 87
Hamidičević M.	100
Hamidović H.	30
Harder T.	64
Hasanbašić D.	78
Hasanhodžić M.	73
Hasičić S.	42
Haverić A.	33, 36, 37, 78
Haverić S.	33, 36, 37, 56, 78
Hercegovac A.	73, 80
Hidalgo O.	54
Hoddinott M.P.	62
Ibrulj S.	67, 79, 81
Jevrić-Čaušević A.	21, 49, 69, 70
Jonjić S.	68
Jovičić D.	16
Kadrić-Tanković D.	90
Kalamujić B.	29, 38, 39, 41, 42
Kapur-Pojškić L.	19, 65, 66, 71, 76, 77, 83, 84
Karahasanović E.	98, 99
Karalija E.	40
Karić A.	73
Karišik A.	103
Katica V.	45
Kazić A.	28
Kocijančić A.	60
Koljenović-Metović A.	79
Komel R.	60
Konjhodžić R.	94
Kovačević L.	97, 100, 101, 102, 103
Kozarić A.	22, 63, 75

Kurtović M.	17, 47
Kustura A.	64
Lačević A.	76
Lasić L.	38, 39, 42
Leko M.	50
Lenac Roviš T.	68
Ler D.	65, 77, 83
Liović M.	60
Lojo-Kadrić N.	65, 71, 76, 77
Lukić-Bilela L.	20
Lukić I. K.	72
Macić D.	66
Mačkić-Đurović M.	67, 81
Maksimović M.	37
Malenica M.	21, 69, 70
Maličević A.	17
Marc J.	21, 69, 70
Marjanović D.	23, 87, 95, 97, 100, 101, 102, 103
Martinović-Muk M.	98, 99
Matić S.	46
Međedović S.	31, 55
Milde-Langosch K.	65
Milosavljević D.	88
Milosavljević M.	88, 98, 99
Milosavljević S.	88
Mlinar B.	21, 69, 70
Muhić N.	103
Mujčić J.	75
Muratović E.	14, 35, 40, 54, 55
Murić I.	32
Mušanović J.	79, 82
Nefić H.	82
Noris E.	46
Obralić N.	66
Omanović M.	48
Ostaneč B.	21, 69, 70
Parić A.	40, 56
Partridge L.	62
Pejić I.	47, 50
Petrović D.	80
Pojškić N.	29, 38, 39, 41, 42, 47, 51, 76, 87
Prezelj J.	60
Prnjavorac B.	21, 69, 70
Pustahija F.	14, 31, 35, 54, 55

Radić K.	83, 84
Rahmanović A.	33, 36, 37
Ramić J.	65, 71, 76, 77, 83, 84
Ramić N.	82
Redžić A.	59, 76
Redžić S.	27
Rešidbegović E.	64
Rozman D.	60
Rukavina D.	78
Sabljo A.	50
Salkić B.	17
Savić V.	64
Semiz S.	21, 49, 69, 70
Silajdžić E.	29, 38, 39, 42
Sirbubalo A.	101
Skender A.	17
Skenderi F.	67
Smajilagić A.	59
Smajlović L.	92
Sofradžija A.	78
Softić A.	45
Starick E.	64
Šakić V.	45
Šarić I.	32
Šatrović E.	64
Šeremet Z.	67
Šiljak-Yakovlev S.	14, 31, 35, 54, 55
Šimon S.	47, 50
Širanović S.	73
Šolić E. M.	31, 35
Šunje E.	41
Terzić R.	73, 80
Tulić U.	41, 42
Ucpunar H.	75
Ušanović A.	98, 99
Vidović S.	18, 91
Vinti G.	62
Vulić I.	18



AlphaChrom d.o.o
Podgaj 8, 71 000 Sarajevo
Tel: +387 33 666 680, Fax: +387 33 667 242
www.alphachrom.hr



INEL-BH d.o.o. Društvo za promet medicinskom i laboratorijskom opremom i potrošnim materijalom
www.inelbh.com.ba info@inelbh.com.ba +387/32/604-454

biosistemi[®]

BIOSISTEMI GRUPA

www.biosistemi.hr

Sveobuhvatna rješenja za genetiku i molekularnu biologiju

Albanija – Bosna i Hercegovina – Crna gora – Hrvatska –
Kosovo – Makedonija – Srbija - Rumunjska

AB applied
biosystems™
part of *life* technologies™

www.genomed-biotech.com
GENOMED

Sacace
BIOTECHNOLOGIES

**BIOTEC-
FISCHER**

CHROMSYSTEMS
DIAGNOSTICS BY HPLC & LC-MS/MS

MRC-Holland
MLPA™

ELITechGroup
EPOCH[®]
BIOSCIENCES

mikro+polo

KEMIJA - BIOMEDICINA - ZDRAVILA

Sve za laboratorij

Kolodvorska 11a
71000 Sarajevo

T: 033 522 205

F: 033 524 284

bih@mikro-polo.com

Zastupnici za:

SIGMA
Life Science

ALDRICH
Chemistry

Fluka
Analytical

SUPELCO
Analytical

R&S
SARAJEVO

www.ris.ba