



NORTH-WEST UNIVERSITY
YUNIBESITHI YA BOKONE-BOPHIRIMA
NOORDWES-UNIVERSITEIT
POTCHEFSTROOMKAMPUS

**WETENSKAPLIKE BYDRAES
REEKS H: INTREEREDE NR. 215**

Perspektiewe oor opwindende ontwikkelings, uitdagings en geleenthede in Biochemie

Prof Albie van Dijk

Intreerede gehou op 13 April 2007

Die Universiteit is nie vir menings in die publikasie aanspreeklik nie.

Navrae in verband met *Wetenskaplike Bydraes* moet gerig word aan:

Die Kampusregistrator
Noordwes-Universiteit
Potchefstroomkampus
Privaatsak X6001
POTCHEFSTROOM
2520

Kopiereg © 2008 NWU

ISBN 978-1-86822-539-2



**Perspektiewe oor opwindende ontwikkelinge,
uitdagings
en geleenthede in Biochemie**

Prof Albie van Dijk



NORTH-WEST UNIVERSITY
YUNIBESITI YA BOKONE-BOPHIRIMA
NOORDWES-UNIVERSITEIT

Perspektiewe oor opwindende ontwikkelinge, uitdagings en geleenthede in Biochemie



Prof Albie van Dijk



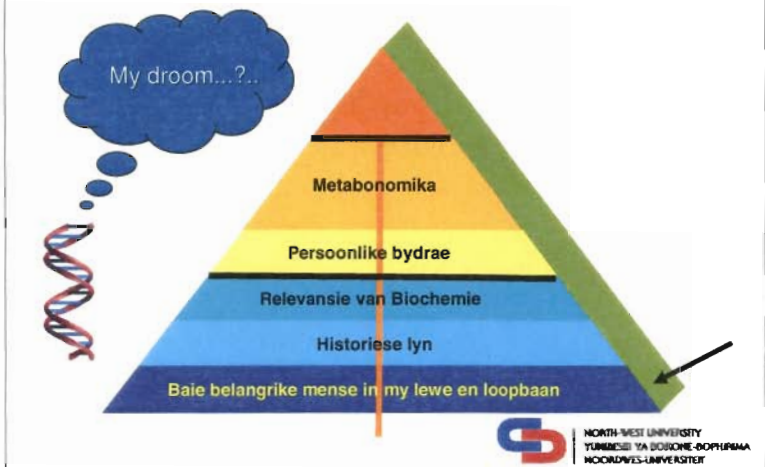
NORTH-WEST UNIVERSITY
YUNIBESITHI YA BOPHIRIMA
NOORDWES-UNIVERSITEIT

'n Baie goeie naand aan!

1. Prof Frikkie van Niekerk, NWU se Uitvoerende Direkteur Navorsing en Innovasie
2. Prof Daan van Wyk en Prof Mariëtte Löwes, viserektore van NWU se Potchefstroomkampus
3. Prof Kobus Pienaar, Dekaan van Natuurwetenskappe op NWU se Potchefstroomkampus, en
4. dames en here, ...

Baie dankie dat julle almal vanaand hier is sodat ons ons kan verlustig en verwonder oor 'n paar van die opwindende ontwikkelinge, uitdagings en geleenthede in die Biochemie.

Verloop van my rede



Ek het 'n droom, dit is ook die droom van die NWU en die droom van elkeen van u, want ons streef mos almal daarna om:

1. die heel beste moontlike lewenskwaliteit vir onself en ons geliefdes te verseker.
2. ons kinders goeie, relevante, uitdagende en opwindende opleiding- en loopbaan-geleenthede te bied.
3. Vanaand gaan ek u vertel
 1. wat hierdie droom is,
 2. van die wetenskap wat die basis is van die verwesentliking van hierdie droom
 3. en u laat besef dat dit reeds gedeeltelik 'n werklikheid is hier op Potchefstroom en
 4. nog baie verder uitgebou kan en moet word, juis hier agter die walle van die Mooirivier!
4. My rede bestaan uit die 6 onderdele van hierdie driehoek, nl,

Familie:

My Ouers



Hanno



Hennie en Anneke, Hendrik en Natasja



Rudi en Estelle, Ruan, Ferdi, Aike-Marie



Alan





Eerstens, baie dankie aan al die baie spesiale mense in my lewe, en spesifiek aan

1. My oorlede ouers en
2. My drie broers, Hanno en Hennie met Anneke, Hendrik en Natasja in Holland wat nie vanaand hier kan wees nie en dan ook Rudi en Estelle met Raun, Ferdi en Aike-Marië wat spesiaal van Montagu af gekom het om vanaand hier te wees, en Tannie Fransie wat ook nie hier kan wees nie - baie dankie vir al julle liefde, belangstelling en ondersteuning. Ook nog 'n spesiale dankie aan my ouers vir al die baie opofferings en bowenal dat hulle ons in die Christelike geloof opgevoed het.
3. Rudi en Estelle, ook baie, baie dankie vir al die wonderlike Kersvakansies met son en see veral toe ek die in die koue Finland beland het!
4. En dan ook aan my vriend, Alan Whitaker wat al die pad spesiaal van London af gekom het. Alan, baie dankie vir al jou liefde, ondersteuning en inspirasie!

Mentors:



NORTH-WEST UNIVERSITY
YUNIBESITHI YA BOKONE BOPHIRIMA
NOORDWES-UNIVERSITEIT

Prof Carools Reinecke



Prof Henk Huismans



Dr Daan Verwoerd



Dr Baltus Erasmus



Mentors speel 'n uiters belangrike rol in die lewe en loopbaan van elke wetenskaplike.

Ek was bevoorreg om paie te kruis en te kon leer van hierdie vier baie besondere wetenskaplikes, elk 'n kundige en leier op sy eie gebied.

Prof Carools Reinecke, ... is vanaand hier, maar Henk, Daan en Baltus kon nie kom nie.

1. Carools, baie dankie dat jy my belangstelling in Biochemie geprikkel het daardie dag in die middel van 1974 toe ek as jong student by jou kom lig opsteek het!
2. Vir die puik basis in Biochemie wat jy my gegee het, en
3. 'n Baie groot DANKIE vir die rol wat jy gespeel het in my terugkeer na Suid-Afrika om hier by die NWU aan te sluit!

Prof Henk Huismans, ...

Is 'n baanbreker en wêreldleier op die molekuleêre biologie van bloutongvirus en perdesiekte virus.

1. Vir hom sê ek baie dankie vir die geduld waarmee jy my as wetenskaplike gevorm en geleer het. Ek het by hom geleer dat daar oral in die wetenskap interessante dinge wag om ontdek te word!
2. En baie dankie vir aan hom en sy vrou Miemie vir hulle ondersteuning, belangstelling en vriendskap dwarsdeur my loopbaan en dat hy die gaping raakgesien het wat vir my moontlik gemaak het om na SA terug te keer.

Dr Daan Verwoerd, ...

1. Is een van die wêreld se pioniers van die molekuleêre virologie.
2. Hy is die vader van molekuleêre virologie in Suid-Afrika.
3. Hy het ontdek dat die genoom van bloutongvirus uit dsRNA bestaan.
4. Daan het sy aansteeklike entoesiasme vir nuwe ontdekkings en vooruitgang in die wetenskap ook met my gedeel. Ek is baie dankbaar daarvoor.
5. By hom het ek gesien dat dit in die wetenskap altyd belangrik is om te volhard en onder moeilike omstandighede altyd hoë ideale en mypale te stel en dit vasberade te bly navolg.
6. Ek sê vir hom baie dankie sy voortdurende ondersteuning en belangstelling in my loopbaan en my lewe.

Dr Baltus Erasmus

1. Is 'n uiters begaafde navorsingsveearts en uitstekende viroloog.
2. Hy is die wêreld se voorste kundige op perdesiekte. Hy het die entofst ontwikkel wat vandag nog die enigste is wat beskikbaar is om uitbrake van perdesiekte wêreldwyd te beheer.
3. Ek het ook baie by Baltus geleer. Die belangrikste daarvan is sekerlik die belang
 1. daarvan om die realiteite van die praktyk in ag te neem ook tydens die basiese navorsing en ontwikkelings fases. Navorsers moet persoonlik gaan kyk wat in die praktyk gebeur.
 2. Van behoorlike kommunikasie tussen die navorser en ander rolspelers soos veearts en boere.
4. Ek sê baie dankie vir hom vir sy geduld om my touwys te maak in in die basiese veeartsenykundige en virologiese aspekte van bloutong, perdesiekte, knopvel en drie-dae-stywe siekte. Dit was 'n vooreg en avontuur om by hom te leer hoe om diereproewe te beplan, uit te voer en hoe om die resultate te evalueer!

***Vriende:**

Oom Bert en Tannie Carla; Job en Maryke; Kobus en Marieta; Tossie;
Ellenor; Erina; Mariëtte en Louw, George en Adelle
en almal!

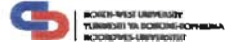


NORTH-WEST UNIVERSITY
YUNIBESITHI YA LEBOTHE-BOPILETHA
MOORDEWES UNIVERSITEIT

1. Vriende gee baie vreugde en kleur aan die lewe.
2. Elkeen verryk mens se lewe op sy eie manier.
3. Ek het baie ou vriende en maak ook heeltyd nuwes! Baie van julle is hier vanaand.
4. Aan julle almal kan ek net sê, baie, baie dankie vir al julle liefde en belangstelling en dat julle altyd daar is deur al die dik en dun en naby en ver!

***Kollegas op Onderstepoort:**

**Christiaan Potgieter; Melinda Scanlen; Rudy Meiswinkel; Dion du Plessis;
Wouter van Wyngaardt en al die ander!!!**



- Ek het 23 jaar by die Onderstepoort Veeartsenykunde Instituut gewerk.
- Dit was 'n onvergeetlike voorreg en ek is dankbaar vir elke kollega en vriend wat ek daar kon leer ken en mee saamwerk.
- Hierdie foto is met my afskeid daar in Mei 2001 geneem. Besondere dank aan Pottie Potgieter, ook dat jy vanaand hierheen gekom het, Otto Koekemoer, Melinda Scanlen, Sonja Maree, Dion du Plessis, Wouter van Wyngaardt en Rudy Meiswinkel. Elkeen is 'n eksptert op sy eie gebied en ook 'n dierbare vriend.

•Kollegas en vriende by CSIRO Canberra, Australië:

CSIRO, Entomologie



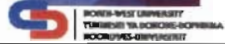
Straat in Canberra



Kaketoes



Twaalf apostels



Baie dankie ook aan al my kollegas en vriende wat ek ontmoed het gedurende die 18 maande wat ek in Australië gewoon en werk het.

Hier is 'n paar fotos van daardie pragtige deel van die wêreld!

**•Kollegas by Universiteit van Helsinki, Finland:
Die "Dennis Bamford" groep!!! Dennis, Jaana,
Sarah, Roman, Riitta, Sampo, Antti, en almal!**



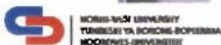
Hier Dennis Bamford en sy groep van 2004 by die Instituut vir Biotegnologie aan die Universteit van Helsinki, in Finland waar ek 22 maande gewerk het. 'n Baie groot dankie aan elkeen van hulle. Spesiaal aan Dennis.

Dit was 'n enorme voorreg en uitdaging om deel te kon wees van 'n ware sentrum van uitnemendheid in die strukturele Virologie!

Die rol en invloed van winter was netso 'n belewenis!

- Die 2004 "Bamford groep"
- Instituut vir Biotegnologie
- Töölö se park in winter en somer

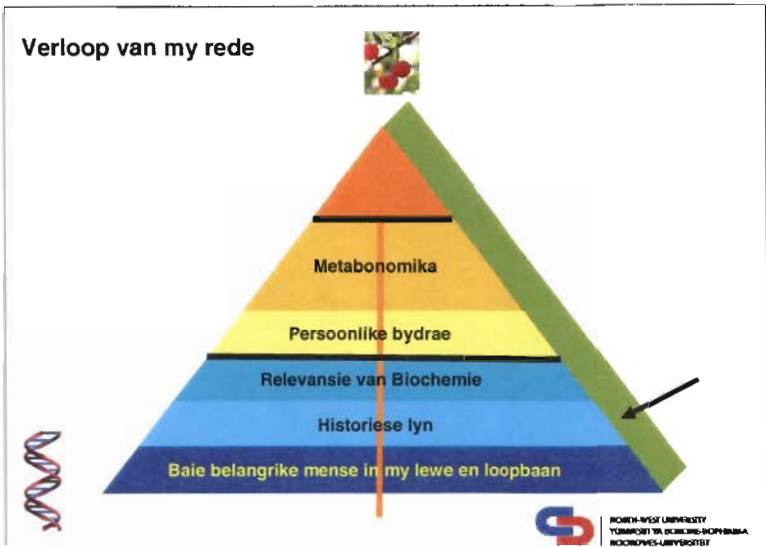
•Nuwe kollegas en studente by Skool vir Biochemie aan die NWU!!!



Die lewe van 'n wetenskaplike is vol verrassings!

Hier is al my nuwe kollegas en studente by Biochemie aan die NWU!

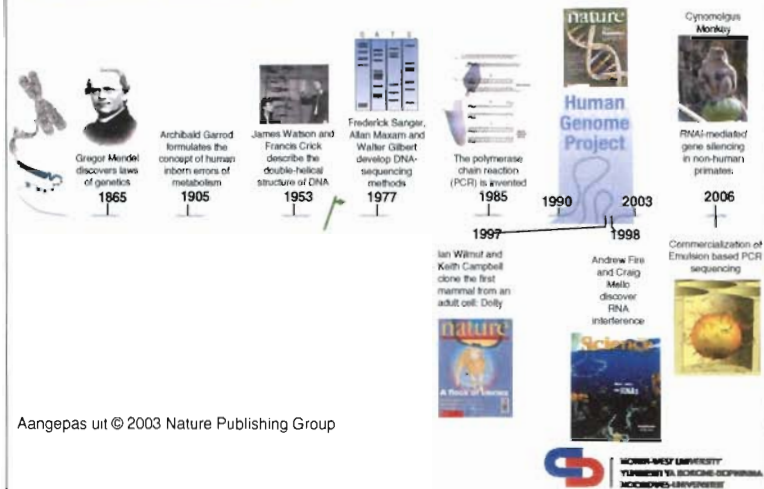
Baie dankie aan elkeen van julle. Dis 'n fees om saam met julle te werk!



In die volgende deel van my rede wil ek julle herhinner aan 'n paar van die belangrikste historiese mylpale en opwindenste splinternuwe deurbrake in die Biochemie, Genetika en die Biologie as geheel.

Elkeen van hierdie mylpale is belangrik vir die veld van molekulêre biologie waarin ek my navorsing hier by die NWU doen en is belangrik is vir die droom wat ons almal saam besig is om hier te verwesenlik.

Mylpale in Biochemie, Genetika en Genomika



- Hier is 'n paar van die besondere mylpale t.o.v. spronge in kennis en tegnologie en die interaksie tussen die twee oor die laaste 142 jaar, - vanaf 1865 tot vandag.
 - In 1865** ontdek Gregor Mendel die wette van genetica.
 - In 1905** formuleer Archibald Garrod die konsep van die oorerwing van metaboliese siektes. Hy is die vader van die metabolisme. Dit is die veld waarop ons hier by Biochemie aan die NWU spesialiseer.
 - In 1953** beskryf James Watson en Francis Crick die dubbelheliks struktuur van DNA. DNA staan vir deoksiribonukleïensuur. Dit bestaan uit slegs 4 verskillende boustene wat ons bases noem, n1 adenien, guanien, sitosien en timien. Die spesifieke volgorde waarin hierdie bases voorkom, is ons genetiese bloudruk.
 - Van hier af verder was al die deurbrake in my eie leeftyd!
 - In 1977** ontwikkel Frederick Sanger, Allan Maxam en Walter Gilbert metodes om die volgorde waarin die bases van DNA voorkom te bepaal.
 - In 1985** ontwikkel Kerry Mullis die Polimerase KettingReaksie (bekend as PCR) waardeur dit moontlik geword het om gedeeltes van die genoom te vermeerder sodat dit bestudeer of gebruik kan word.
 - In 1990** begin die mensdom met menslike genoomprojek.
 - Dit was die mees ambisieuse Biochemie-projek wat die mensdom nog ooit aangepak het. Baie wetenskaplikes het in groot konsortiums reg oor die planeet daaraan gewerk. Baie mense het gedink dit sal nie gedoen kan word nie. En jou waarlik, binne slegs 13 jaar was dit voltooi! Die volgorde van al 3 biljoen basepare van die mens se genoom was bekend!!!
 - En dit was vol verrassings wat ons weereens laat besef het dat ons dat ons nog meer weet van hoe min ons weet... Bv.
 - Dat net 2% van ons genoom kodeer vir proteïene (proteïene is die werkesels in die liggaam);
 - ons ken net die funksie van ongeveer die helfte van hulle;
 - die mens is op DNA-vlak glad nie so uniek soos hy gedink het nie en dat die volgorde van ons DNA baie ooreenstem met dié van ander soogdiere soos bv. die muis!
 - In 1997** kioneer Ian Wilmut en Keith Campbell die eerste soogdier van DNA van selle van 'n volwasse dier – en is Dolly die skaap gebore!
 - In 1998** ontdek Andrew Fire en Craig Mello 'n splinternuwe veld in die Biochemie ('n heel nuwe Biochemie sterrestelsel as 't ware!!!), n1 "RNA interference", in Afrikaans kan ons dit vertaal met RNA inmenging. Dit is 'n reguleringsmeganisme waardeur die uitdrukking van gene afgeskakel word.
 - Fire en Mello het dsRNA in wurms (*Caenorhabditis elegans*) gesit waardeur hulle boodskapper RNA kon teiken vir afbraak. Laasjaar het hulle die Nobel Prys vir hulle ontdekking gekry!
- Laasjaar, in 2006**, was daar 2 verdere baie groot tegnologiese deurbrake:
 - RNAi-bemiddelde geen afskakeling in primate:** Tracey Zimmerman en haar medewerkers 'n metode ontwikkel waardeur hulle vir die eerste keer doelbewus 'n geen kon afskakel deur klein inmengingsRNA ("siRNA) in 'n primate se bloedstroom in te spuit.
 - emPCR:** Die Farmasieutiese Firma, Roche, het laasjaar, 'n emulsie-gebaseerde PCR vir die vermeerdering van DNA gekommersialiseer en 'n apparaat op die mark gebring wat dit moontlik maak om die volgorde van 20 miljoen bases in slegs 5,5 uur te bepaal!!! Tot dusver het dit maande en selfs jare geneem om so 'n lang stuk DNA se volgorde akkuraat te bepaal en dit was baie duur. Omdat die RNA revolusie so 'n gewelddige groot impak op die biologie as geheel het, en ook vir ons eie navorsing hier van belang is, gaan ek dit nou 'n bietjie verder toelig.

Understanding the RNAissance

RNA Interference (RNAi) is the Hottest Topic in Bioscience at Present

1. Switching off of genes - Instantly !!!!!

2. Possible therapy for treating

- Viral infections
- Cancer
- Genetic diseases

3. Trails of RNAi-based drugs have begun!



NORTH-WEST UNIVERSITY
UNIVERSITEIT VAN NOORD-WEST
NORDBOORD-UNIVERSITEIT



Die RNAissance soos die RNA revolusie bekend is, is verreweg die belangrikste enkele onderwerp in die biologiese wetenskappe op die oomblik.

Dit is die heel eerste keer wat die mens 'n skakelaar gevind het om selektief spesifieke gene oombliklik mee te kan afskakel. Die skakelaar is kort stukkie dubbeldraad RNA 19 – 22bps!

Dit bied enorme moontlikhede vir die ontwikkeling van behandelingsmetodes vir

- Virus infeksies soos HIV-AIDS en griep
- Kanker en
- Oorerflike genetiese siektes

Veskeie proewe om die effektiwiteit van RNAinmengings-gebaseerde geneesmiddels te toets, is reeds aan die gang.

Understanding the RNAissance

Co-suppression in petunias

Wild-type
Petals colored

Transgenic plant
Petals white?!
CHS-t

Napoli C, Lemieux C, **Jorgensen R.** (1990). Introduction of a Chimeric Chalcone Synthase Gene into Petunia Results in Reversible Co-Suppression of Homologous Genes in trans. *Plant Cell* 2, 279-289.

DEPARTMENT OF PLANT AND SOIL SCIENCE
UNIVERSITY OF STELLENBOSCH

Hoe is RNAi (RNA-inmenging) ontdek?

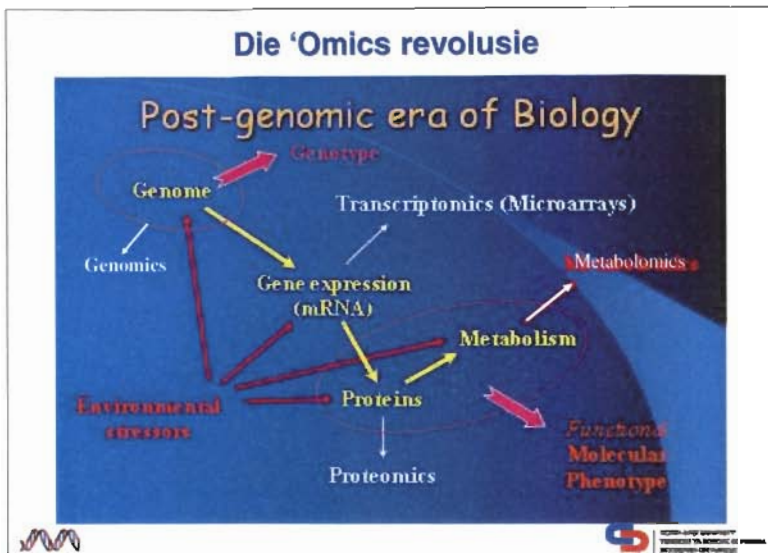
In 1990 is die eerste eksperimente in petunia plante gepubliseer waarin die effek van geen-afskakeling duidelik sigbaar was, maar die navorsers het nie besef wat die meganisme was wat die resultaat wat hulle gekry het, veroorsaak het nie.

Navorsers in Jorgensen se laboratorium wou die aktiwiteit van 'n geen wat betrokke is by die produksie van die pers pigment in petunia plante verhoog deur 'n ekstra geen van die ensiem in die plant te plaas. Die verrassing was dat sommige van die transgeniese plante wat hierdie ekstra geen gehad het, die aktiwiteit van die plant se eie en ook die aktiwiteit van die transgeen verloor het en die blomme was hoofsaaklik wit i.p.v. donker pers!

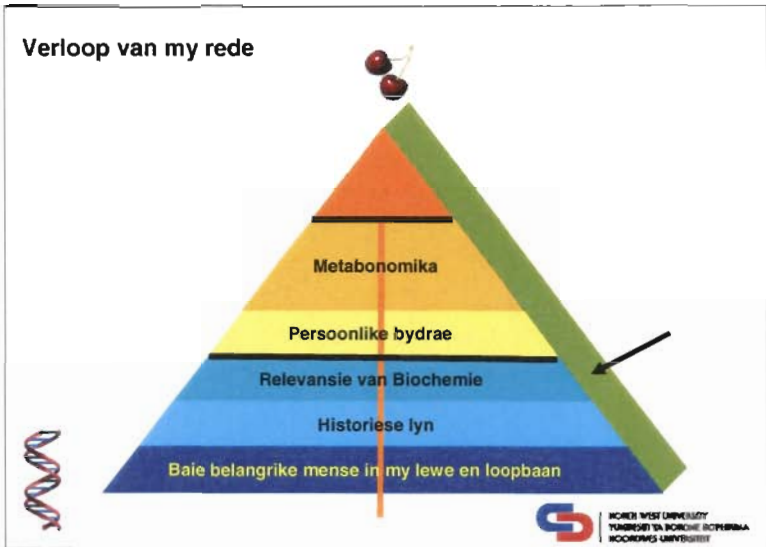
Agt jaar later, in 1998, het Andrew Fire en Craig Mello eksperimente in wurms, *C. elegans*, gedoen waarin hulle uitgevind het dat hulle spesifieke boodskapper RNA kon teiken om afgebreek te word as hulle die dubbeldraad RNA vorm van die boodskapper RNA in die wurm sit. Hulle het toe die term "RNA Interference", RNA-inmenging geskep.

Fire A, Xu S, Montgomery MK, Kostas SA, Driver SE, Mello CC. Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*. *Nature*. 1998;391:806-811.

Die 'Omics revolusie



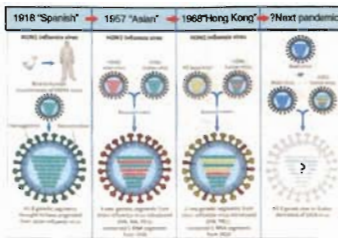
1. Afgesien van die RNA-issuance waarvan ek u so pas vertel het, beleef ons in die Biochemie ook tans 'n 'Omics revolusie.
2. Die agtervoegsel "oom" (Engels "ome") word al vir meer as 'n eeu gebruik om om die geheel van biologiese sisteme aan te dui. Bv. Die mense se "genoom." word gedefinieer as die totale stel gene in die sel. Genomika ("genomics" in Engels) is dan die bestudering van die genetiese samestelling van 'n organisme. Dieselfde geld vir proteïene en proteomika, transkripte en transkriptomika en metabolisme en metabolomika.
3. Met die voltooiing van die mens genomprojek leef ons nou in die post-genomiese era.
4. In geel is die tradisionele beskouing oor die vloei van genetiese inligting in die sel soos vervat in die Sentrale Dogma wat ek net hiervoor verduidelik het.
5. Sover terug as Mendel se eksperimente met verrimpelde ertjies in die 1860s, het die hele basis van genetica berus op basiese vrae soos "Hoe gee verskillende genotipes oorsprong aan verskillende fenotipes?"
6. Die benadering van die een-geen een-funksie konsep het gelei tot die ontdekking van 'n indrukwekkende lys van molekule speler en funksies.
7. Maar die sleutel vrae het onbeantwoord gebly. Bv. Hoe verklaar ons dat verskillende selle in 'n enkele organisme verskillende sellulêre fenotipes het? Een is 'n breinsel, en een is 'n liewersel?
8. Die antwoorde sal waarskynlik kom deur die bestudering van die ontwerpbeginsels en die ontluikende eienskappe van molekule stelsels wat deur die interaksie van proteïene en ncRNAs gevorm word.
9. Die volgorde bepaling van al 3 biljoen base van die mens genoom, gee na alles slegs die eerste benadering van al die onderdele. Stelsel biologie probeer om hierdie dele by mekaar uit te bring.
10. Die linkerkanste boonste hoek is die tradisioneel dit terrein van molekule biologie en genetica, en die regterkanste onderste hoek is die klassieke terrein van die metabolisme.
11. As daar 'n fout in 'n proteïene opduik, lê die oorsprong in die geen.



Die volgende perspektiewe gee 'n paar voorbeelde wat die breë relevansie van Biochemie vir alle biologiese dissiplines.

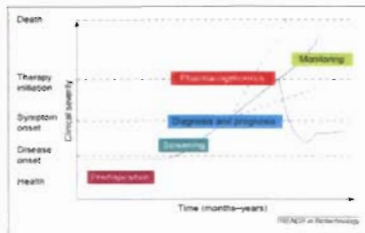
Toepassings van Biochemie en die Molekulêre Biologie in: Farmasie; Medisyne; Mikrobiologie; Fisiologie; Genetika; Dierkunde; Plantkunde; Landbou; Forensies

The Origins of Pandemic Influenza — Lessons from the 1918 Virus



NEJM 2005, 353:2209-2211

Personalized medicine



TRENDS in Biotechnology, 2001, 19:491-496



Polly – 1st transgenic sheep produces human factor IX for haemophilia B in her milk



Forensics



GMOs



Recombinant hepatitis B vaccine



Daar is talle toepassings van Biochemie, Molekulêre Biologie en rekombinante DNA tegnologie in: Farmasie; Medisyne; Mikrobiologie; Fisiologie; Genetika; Dierkunde; Plantkunde; Landbou; Forensies

- 'n Deeglike onderbou in Biochemie en spesifiek molekulêre biologie is noodsaaklik vir die ontginning van dieptekennis en sinvolle, meer spesifieke en vinniger toepassings.
- Op die vroe "wat is reeds bereik?" en "wat kan in die af sienbare toekoms realiseer?", die volgende voorbeelde..

Influenza Pandemies: NEJM 2005, 353:2209-2211

1. Daar was 3 groot griep-pandemies wat deur influenza virus veroorsaak is in die 20ste eeu: — die 1918 ("Spaanse griep) H1N1 virus, die 1957 ("Asiatiese griep) H2N2 virus, en die 1968 ("Hong Kong griep) H3N2 virus — almal het vinnig reg rondom die aarde versprei, maar net die 1918 virus het 'n baie hoë sterftesyfer gehad.
2. Die genoom van griepvirusse bestaan uit 8 verskillende stukke wat ons segmente noem.
3. Die oorsprong van die influenza virusse wat hierdie drie pandemies veroorsaak het, het duidelik geword toe die basevolgorde van hulle genome bepaal is:

Die volgende is vasgestel:

1. Die virus wat die 1918 griep pandemie veroorsaak het was uit en uit 'n voëlgriepvirus wat muteer het sodat dit van mens tot mens oorgedra kon word. Al 8 segmente het van die voëlgriepvirus af gekom.
2. In sowel 1957 as 1968, het 'n nuwe influenza virus ontstaan a.g.v die uitruiling van segmente van die genoom tussen 2 virusse.
3. Die 1957 pandemiese virus het ontstaan toe 3 segmente van die 1918 griepvirus uitgeruil en vervang is met 3 ooreenstemmende segmente van 'n nuwe voëlgriepvirus. Dit het waarskynlik gebeur toe iemand waarskynlik gelyktydig ge-infekteer is met die 1918 mens H1N1 griepvirus en 'n nuwe nuwe voëlgriepvirus. Die ander 5 gene is nog die oorspronklike gene van die 1918 virus.
4. Die 1968 pandemiese virus het ontstaan toe twee van die gene wat in 1957 ingesit is, weer vervang is met twee ander ooreenstemmende gene van 'n splinternuwe voëlgriepvirus.
5. Tot vandag toe veroorsaak die nageslag van die 1968 virus die meerderheid van griep infeksies in mense. 5 gene in hedendaagse griepvirusse kom nog steeds vanaf die 1918 pandemie!

Verpersoonlike medikasie TRENDS in Biotechnology, 2001, 19:491-496

- Vordering in navorsing op die mens se genoom is besig om op te bou na 'n nuwe paradigma in die mediese veld wat gesondheidsorg heeltemal gaan transformeer. Medikasie afgestem op 'n individu, die gebruik van biomerkers vir diagnoses en geteikende terapie gebaseer op 'n persoon se eie molekulêre profiel sal impak op die ontwikkeling van medikasie en die behandeling van siektes.
- Hierdie figuur wys die 5 stadiums van 'n siekte van gesond tot dood en die 6 areas waar verpersoonlike medikasie strategieë die individu sal bevoordeel, nl. Elkeen sal sy genetiese vatbaarheid vir 'n siekte kan bepaal, sifting sal die begin van 'n siekte aandui voor simptome verskyn, biomerkers sal die diagnose en prognose kan vergemaklik en deur farmakogenomika sal die mees gepaste medikasie toegedien kan word. Biomerkers sal die effek van behandeling monitor.

Polly: Polly is die 1ste transgeniese skaap waarin 'n mensgeen ingebou is. Sy produseer die mens faktor IX in haar melk. Dit is 'n bloedstolling proteïen wat gebruik word om bloeiers te behandel.

Forensiese toepassings van Biochemie is aan ons almal goed bekend deur toehoude van TV programme soos CSI (Crime Scene Investigations)

Geneties gemodifiseerde organismes soos mielies word ook al wyd hier in ons eie omgewing verbou! Hulle is deur molekulêre biologie metodes ontwikkel.

Die rekombinante Hepatitis B Entstof word algemeen gebruik teen geelsgus. Dit is ook ontwikkel m.b.v molekulêre biologie. Die geen wat vir die virus se oppervlak antigeen kodeer is in 'n gis ingebou en word nou op groot skaal in gis geproduseer.

Model No: YNDP-002-0757

img.alibaba.com/photo/11470030/Hepatitis_B_Va...

Wetenskaplike prestasies in Suid-Afrika !!!

Sir Arnold Theiler stig die
Onderstepoort Veeartsenykunde
Instituut in 1908



Prof Chris Barnard plant die eerste
menslike hart oor op 3 Des 1967 in Lewis
Washkansky by Groote Schuur Hospitaal in
Kaapstad



ROBERT ROSS UNIVERSITY
TENNISSE WILSONSBOOMER
MICROFILM-OPNAME

- Op die vraag: "Kan ons hier in Potchefstroom agter die walle van die Mooirivier 'n sinvolle bydra maak en deel in die opwinding?", antwoord ek net "ja natuurlik, hoekom nie?, ons MOET!"
- Top gehalte navorsing en ontwikkeling is al in SA onder baie moeiliker omstandighede as vandag gedoen, en kan en moet dus nou ook gedoen word.

Twee voorbeelde, een uit die veeartsenykunde veld en die ander uit die mediese veld:

1. **Sir Arnold Theiler** het die Onderstepoort Veeartsenykunde in 1908 op Onderstepoort gestig en dit uitgebou tot 'n wêreldsentrum van uitnemendheid in tropiese veeartsenykundige siektes! Ek het die voorreg gehad om 23 jaar daar te werk.
- Theiler het 4 kinders gehad. Sy een seun **Max (1899-1972)** was 'n wetenskaplike wat SA se 1ste Nobelprys ontvang het in 1951 in Fisiologie en Medisyne vir sy ontwikkeling van 'n entstof vir geelkoors in mense. Max het dele van sy werk op Onderstepoort by sy pa gedoen.

Partly from: Theiler, G., 1971. Arnold Theiler 1867-1936, His life and Times. Publication of the University of Pretoria, New Series Nr. 61.

2. **Prof Chris Barnard** plant die eerste menslike hart oor op 3 Des 1967 in Lewis Washkansky by Groote Schuur Hospitaal in Kaapstad!





FEITE:

- Biologiese wetenskappe beleef 'n fantastiese, ongekeende bloeitydperk – gaan met groot spronge vooruit, ongeag of NWU deel is of nie!
- Alle biologiese dissiplines is interafhanklik van en ineengestremgeld op molekulêre vlak met Biochemie as basis.
- NWU is baie ver agter op molekulêre gebied - ook t.o.v. die groot 5 SA universiteite. Dis egter nog moontlik om hulle in te haal en selfs om hulle verby te gaan.

HOEKOM molekulêre navorsing? Anders gaan ons biologiese dissiplines prakties geen relevansie en bestaansreg meer hê nie en kan dit maklik 'n doodlooppunt bereik.

Hoekom MOET ons? Omdat ons streef na 'n beter kwaliteit van lewe vir mense, diere en plante!

- Kan ons nog inhaal? Ja, daar is nog 'n klein venster van geleentheid.



NORTH-WEST UNIVERSITY
TSHWANEKE YA BOCHORRE-BOFORONA
BOKORONG-UNIBESITHI

Uit die voorafgaande en wat volg, behoort u 'n begrip te hê vir die feite:

- Biologiese wetenskappe beleef 'n fantastiese, ongekeende bloeitydperk – gaan met groot spronge vooruit, ongeag of NWU deel is of nie!
- Alle biologiese dissiplines is interafhanklik van en ineengestremgeld op molekulêre vlak met Biochemie as basis.
- NWU is baie ver agter is op molekulêre gebied - ook t.o.v. die groot 5 SA universiteite. Dis egter nog moontlik om hulle in te haal en selfs om hulle verby te gaan.

HOEKOM MOET ons by NWU 'n molekulere bydrae maak?

Anders gaan ons biologiese dissiplines prakties geen relevansie en bestaansreg meer hê nie en kan dit maklik 'n doodlooppunt bereik.

Hoekom MOET ons? Omdat ons streef na 'n beter kwaliteit van lewe vir mense, diere en plante!

- Kan ons nog inhaal? Ja, daar is nog 'n klein venster van geleentheid.



♪ Die Wenresep ♪

As NWU wil deel in die opwinding en vrugte van die veld, MOET :

1. Die **politieke wil by NWU se bestuur** wees om dit te laat gebeur - ISI!
2. **"Cutting edge"** navorsing en ontwikkeling gedoen word
3. Onder leiding van **kundige navorsers** en met **entoesiastiese studente**
4. Op 'n **terrein waar NWU bewese en erkende kundigheid** het, 'n niche het of gewoon geluk het ("serendipity") wat as **groeipunt** kan dien om breed in die NWU deur te werk.
5. In geskikte **laboratoriumruimtes** met die nodige moderne, gesofistikeerde **apparaat**

Die Wenprys ♪

NWU sal toenemend die **voorkeurkeuse van werklike topgehalte studente** wees en ook hulle sal steeds meer na NWU stroom!!!




Wat is die WENRESEP? Hier is die Wenresep!

As NWU wil deel in die opwinding en vrugte van die veld, MOET:

1. Die **politieke wil by NWU se bestuur** wees om dit te laat gebeur
 - ek kan getuig dat die wil inderdaad hier is. Twee feite wat dit illustreer, is dat NWU my aangestel het en reeds ook 'n groot bedrag beskikbaar gestel het om die basiese apparaat aan te koop. Frikkie, hiermee ook weer my baie groot dankie daarvoor!
2. **"Cutting edge"** navorsing en ontwikkeling gedoen word
3. Onder leiding van **kundige navorsers** en met **entoesiastiese studente**
4. Op 'n **terrein waar NWU bewese en erkende kundigheid** het, 'n niche het of gewoon geluk het ("serendipity") wat as **groeipunt** kan dien om breed in die NWU deur te werk.
5. In geskikte **laboratorium ruimtes** met die nodige moderne, gesofistikeerde **apparaat**

Die Wenprys ♪


NWU sal toenemend die **voorkeurkeuse van werklike topgehalte studente** wees en ook hulle sal steeds meer na NWU stroom!!!



Gulde geleentheid!

NWU kan lewenskwaliiteit van **Jan Publiek en **pasiënte** met endogene en eksogene siektes betekenisvol verbeter !!!**

- In die Skool vir Biochemie is bewese kundigheid in metabolisme en detoksifikasie wat nasionale en internasionale erkenning geniet, soos in 2006 bewys is deurdat BioPAD hier 'n Platform vir Metabonomika gevestig het.
- **Metabonomika** - juis omdat die klassieke metabolisme nie meer in isolasie kan funksioneer nie, maar op molekuleëre vlak aangevul en uitgebou moet word.



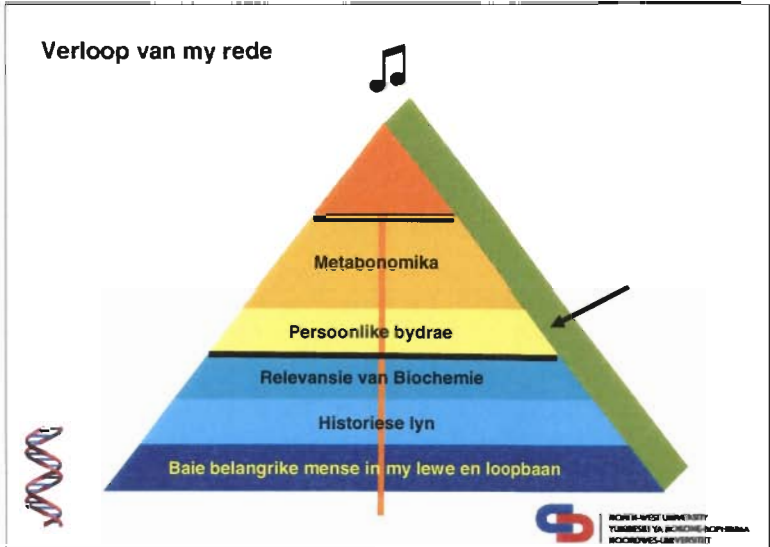
NWU-UNIVERSITY
 TSWANEPS
 NWU-UNIVERSITY
 TSWANEPS

Gulde geleentheid!

NWU kan die lewenskwaliiteit van **Jan Publiek** dis u en ek, en **pasiënte** met endogene en eksogene siektes betekenisvol verbeter !!! Endogene siektes is oorerflik siektes wat van binne die liggaam kom, en eksogene siektes is siektes wat deur buite faktore veroorsaak word soos bv. infeksies en vergiftiging.

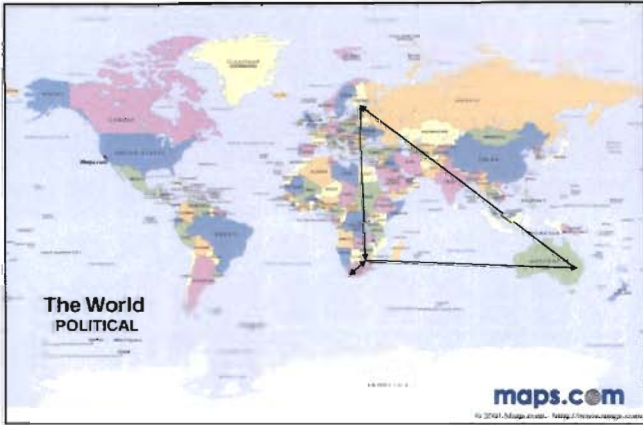
In die Skool vir Biochemie is bewese kundigheid in metabolisme en detoksifikasie wat nasionale en internasionale erkenning geniet, soos in 2006 bewys is deurdat BioPAD hier 'n Platform vir Metabonomika gevestig het.

Metabonomika - juis omdat die klassieke metabolisme nie meer in isolasie kan funksioneer nie, maar op molekuleëre vlak aangevul en uitgebou moet word.



In die volgende deel gaan ek u 'n oorsig gee oor die aspekte van my eie wetenskaplike bydraes en kundigheid wat veral van toepassing is op my navorsing hier by die NWU.

Waar kom ek vandaan? My lewens en loopbaanreis tot hier:



Waar kom ek vandaan?

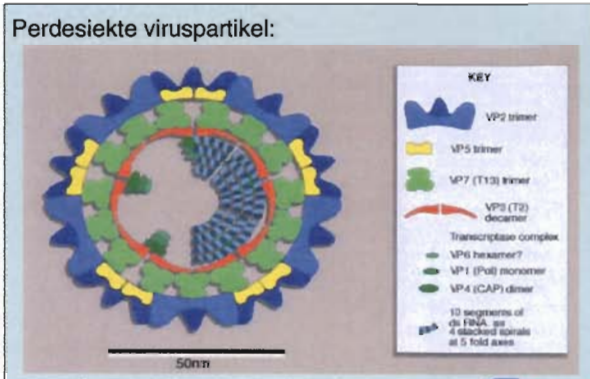
My reis tot hier

- Gebore in Pretoria
- Martikuleer in Strand
- Studeer by PU vir CHO
- Werk in SA by Onderstepoort Veeartsenykunde Instituut
- Werk in Australië by CSIRO Entomology, Canberra
- Werk in Finland by Instituut vir Biotegnologie van Universiteit van Helsinki
- Werk in Potchefstroom by Skool vir Biochemie van die NWU

Van Virus-, dubbeldraad RNA-, Biotegnologie-wêreld!

Virusse bestaan uit 'n proteïëndop waarbinne genetiese materiaal verpak is

Perdesiekte viruspartikel:



Waar kom ek vandaan kundigheidsgewys?

- Uit die wêreld van virusse, meer spesifiek uit die molekulêre virologie
- En uit die wêreld van dsRNA
- En die Biotegnologie

•**Wat is 'n virus?** Virusse is nie-lewende entiteite (intrasellulêre parasiete) wat bestaan uit 'n proteïëndop waarbinne genetiese materiaal verpak is. Hulle het die sel wat hulle infekteer nodig om hulle self in te repliseer.

•Hierdie is 'n tekenprent van die perdesiekte viruspartikel. Dit is die virus waarop ek meer as 15 jaar navorsing gedoen het. Die blou, geel, groen en rooi stel die 7 verskillende proteïene voor wat in 3 lae gerangskik is en die genoom omring. Die genoom bestaan uit 10 dubbeldraad RNA segmente.

Ek het hoofsaaklik navorsing en ontwikkelingswerk gedoen op virusse wat siektes in diere veroorsaak vir die

- ontwikkeling van rekombinante entstowwe en
- diagnostiese metodes en reagense

The Virosphere



Hier is die hele "Virofeer": dis al die virusse wat bekend is.

Die pyle wys na waar die virusse inpas waarop ekself gewerk het, BTV, AHSV(perdesiekte), rotavirus, bakteriofaag phi6, LSDV(knopvel), FIV(die kat ekwivalent van HIV), RVFV(sienkdal), en NwCV ('n insekvirus).

Die grootste uitdagings vir die mensdom op die veld van virusse op die oomblik is

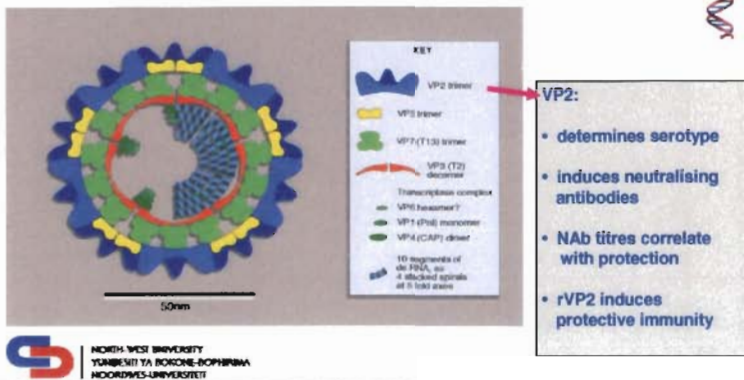
1. Om 'n enstof teen HIV-AIDS te ontwikkel, en
2. Om gereedheid te wees vir die verwagte influenza pandemie in die lig van die moontlikheid dat die H1N5 voelgriep wat tans sirkuleer tussen mense aansteeklik kan word.

Baie groot onlangse deurbrake in hierdie veld is

1. Ontwikkeling van molekulêre epidemiologie tegnieke waardeur dit moontlik is om binne 'n baie kort tydjie, 'n paar uur, die geografiese oorsprong van virusse wat uitbrake veroorsaak te kan bepaal, bv. HIV, SARS, influenza en voelgriep virusse waarvan ek vroeër vir u vertel het. Klassieke virologiese metodes benodig 2-6 weke om die inligting te gee, en dan is dit nie naastenby so akkuraat nie.
2. die daarstelling van omgekeerde genetica sisteme "reverse genetics", waardeur mens met behulp van molekulêre biologie en rekombinante DNA tegnologie 'n volledige virus kan opbou uit sy afsonderlike proteïene en nukleïeusuur komponente. Dit skep die moontlikheid om virusse rasioneel te kan ontwerp, te manipuleer en om virusse te ontwerp wat as entstowwe gebruik kan word!
3. Hierdie omgekeerde genetica sisteme word reeds gebruik om griepvirus entstowwe te maak en sal ook ingespan word as voelgriep muteer en weer tussen mense oordragbaar word soos in 1918.

Recombinant AHSV subunit vaccine development

Virion: VP1/2/3/4/5/6/7



Vir die ontwikkeling van 'n rekombinante entstof teen perdesiekte, is een van die 7 proteïene wat die dop uitmaak die belangrikste. Dit is die heel buitenste proteïen VP2, VP staan vir virus proteïen.

Die belangrikste eienkappe van hierdie VP2 proteïen is dat dit

1. die serotipe van perdesiekte bepaal. Daar is 9 perdesiekte serotipes (mens kan dit as verskillende soort beskou). Perde moet immuun wees teen al 9 serotipes voordat hulle ten volle beskerm is teen die siekte.
2. Dit is die proteïen waarteen die perd se liggaam neutraliserende teenliggame maak.
3. Die titer van die neutraliserende teenliggame, dit is die hoeveel neutraliserende teenliggame wat in die perd is, korreleer met beskerming. Hoe hoër die titer, hoe beter is die perd beskerm.
4. Ons en ander wetenskaplikes het bewys dat volledige beskerming verkry kan word deur 'n rekombinante VP2 in perde in te spuit.

Die rVP2 wat ons in my laboratorium op Onderstepoort gemaak het, is berei deur die geen wat daarvoor kodeer, te kloon en in 'n insekvirus se genoom in te bou op so 'n manier dat die insekvirus groot hoeveelhede perdesiekte VP2 proteïen sintetiseer.

AFRICAN HORSESICKNESS:
OIE A-list Disease - transmitted by *Culicoides* midges



5 - 14 days

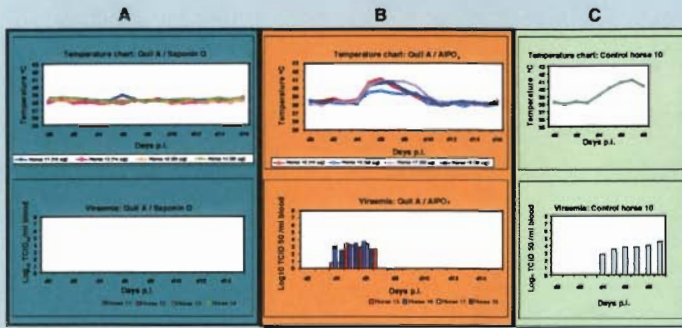


NORTH-WEST UNIVERSITY
TYNDRIST | DA BURGHE SCAPULBAA
HOORNWES-UNIVERSITEIT

- Perdesiekte is op die A-lys van mees gevreesde dieresiektes van die OIE, die OIE is die veerartsenykundige ekwivalent van die Wêreldgesondheidsorganisasie
- Die sterftesyfer is groter as 90%
- Perdesiekte is endemies in sub-Sahara Afrika
- Die virus word oorgedra deur muggies wat bloed suig
- Vatbare perde gaan dood 5 tot 14 dae nadat hulle geïnfekteer is.
- Hierdie perd is dood in die veld gedurende die 2001 uitbraak hier in SA. Let op die skuim wat by sy neus uitborrel a.g.v al die vog wat in sy longe opgedam het.

http://7art-screensavers.com/screenshots/Graceful_Horses/a-lot-of-horses.jpg

Temperature and viraemia profiles of horses challenged following immunization with 10 and 50 µg doses soluble AHSV5 rVP2 with different adjuvant combinations



Scanlen, M., Paweska, J.T., Verschoor, J.A. and A.A. van Dijk. (2002). *Vaccine* 20, 1079-1088.

Ons 1ste rekombinante VP2 was afkomstig van serotipe 5 van perdesiekte virus. Hier is die resultate van die finale eksperiment wat Melinda Scanlen saam met 'n klomp van ons gedoen het om te bewys dat dit werk en perde teen perdesiekte beskerm.

Wat ons gedoen het was om perde in 3 groepe te deel, groepe A, B en C.

1. In groep A en B was 4 perde elk. Die perde in elke groep is twee keer ingeënt met verskillende hoeveelhede, 10 en 50 µg dosisse van ons rVP2.
2. Daar was net 1 perd in groep C. Daardie perd is nie met die rVP2 ingesuipt nie en het dus geen teenliggame teen perdesiekte gehad nie.
3. Twee verskillende kombinasies van adjuvante is 2 maal saam met ons rVP2 in groep A en B ingesuipt.
4. 4 maande na die laaste inenting het ons die perde gedaag deur hulle met 'n dodelike dosis perdesiekte virus serotipe 5 in te spuit.
5. Ons het 1 maal per dag hulle bloed getrek en 2 maal per dag hulle koors gemeet.
6. Die perd in groep C wat nie die entstof gekry het nie, het hoë koors gekry, daar was baie virus wat in sy bloed gesirkuleer het en hy is dood op die 8ste dag na infeksie.
7. Al die perde in groepe A en B het oorleef.
8. Al 4 perde in Groep A was volledig beskerm en het geen koors gehad nie en ons kon geen virus in hulle bloed opspoor nie.
9. Die van groep B was nie volledig beskerm nie want hulle het ook koors gekry en daar was virus in hulle bloedstroom.

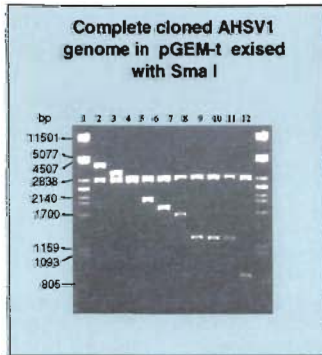
Ons gevolgtrekking was dus dat ons oplosbare rVP2 perde ten volle teen perdesiekte kan beskerm en dat dit met die regte tipe adjuvant ingesuipt moet word.

Scanlen, M., Paweska, J.T., Verschoor, J.A. and A.A. van Dijk. (2002). The protective efficacy of a recombinant VP2-based African horsesickness subunit vaccine candidate is determined by adjuvant. *Vaccine* 20, 1079-1088.

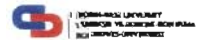
Die relevansie hiervan vir my navorsing by NWU is dat ons hier dieselfde benaderings en metodes kan volg vir die produksie en karakterisering van metaboliese ensieme.



Cloning of the complete set of AHSV1 genome segments



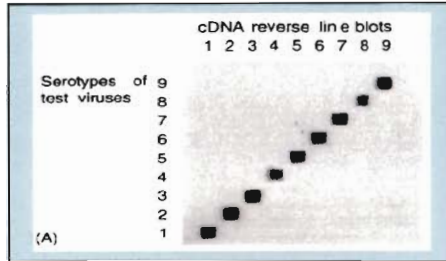
Potgieter, A.C., Steele, A.D. and Van Dijk, A.A. (2002). *J Gen Virol*, 83, 2215-2223.



1. Die van u wat baie opletting is, sou opgemerk het dat ek noem het dat die genoom van perdesiekte uit dsRNA bestaan en nie uit DNA nie.
2. As gevolg daarvan moet ons eers die RNA omskakel na DNA voordat ons die voordele en krag van rekombinante DNA tegnologie, soos base volgorde bepaling, PCR en klonering kan benut. Die probleem was dat dit baie, baie moeilik was om die DNA kopieë van die groot dsRNA genoomsegmente te maak. Vir meer as 15 jaar het die hele veld as gevolg van hierdie bottelnek maar stadig gevorder in vergelyking met virusse wat DNA genome het.
3. In 2002 het Pottie Potgieter, wat ook vanaand hier is, daardie bottelnek oopgemaak en 'n robuuste metode ontwikkel om die hele genoom van dsRNA virusse na dsDNA om te skakel. Hierdie figuur wys die resultaat van een van sy 1ste suksesse. Dit is 'n etidiumbromied gekleurde agarose gel waarin die gekloneerde 10 dsDNA segmente sigbaar is. Bane 2-11 wys dat al 10 genoomsegmente van perdesiekte serotipe 1 in DNA vorm in 'n plasmied gekloneer is en met die restriksie-ensiem SmaI maklik daar uit gehaal kan word.
4. Deur hierdie metode is binne 'n baie kort tydjie groot vordering gemaak in die veld.
5. Die voordeel vir entstof ontwikkeling is dat die VP2 segmente van al die nege serotipes gekloneer en hulle base volgorde bepaal kon word om as basis te dien vir die ontwikkeling van rekombinante entstowwe en molekuleêre diagnostiese metodes vir al die perdesiekte serotipes.

Potgieter, A.C., Steele, A.D. and Van Dijk, A.A. (2002). Cloning of complete genome sets of six dsRNA viruses using an improved cloning method for large dsRNA genes. *J Gen Virol*, 83, 2215-2223.

African horsesickness virus serotyping with a single genome segment 2 RT-PCR amplification and reverse line blot hybridization



1. **First one-day serotyping procedure that requires only a single RT-PCR and hybridization and which can identify multiple serotypes in mixed infections in one assay.**
2. **Conventional virological serotyping takes 10 - 21 days.**

Koekemoer, J.J.O. and Van Dijk, A.A. (2004). *J. Virol. Methods*, 122,49-56.



NORTH-WEST UNIVERSITY
 FAKULTEIT YA POSEKHE BOFOPHINA
 MOCORDWEL-UNIVERSITEIT

Hier is die resultaat van Otto Koekemoer waarin hy 'n metode ontwikkel het om die serotipe van perdesiekte virusse binne een dag te bepaal.

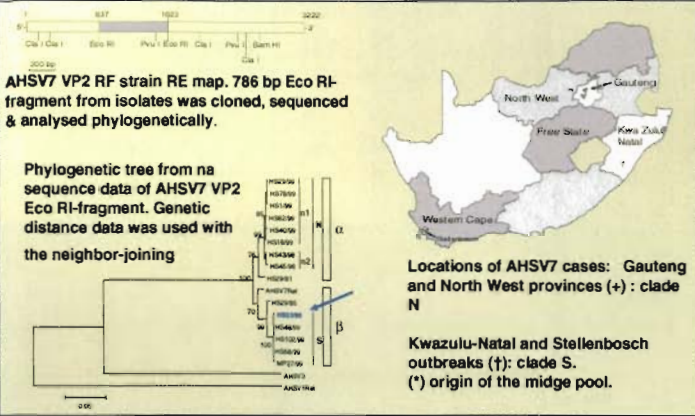
As daar iewers 'n uitbraak van perdesiekte is, is baie belangrik so gou moontlik te kan vasstel watter serotipe 'n uitbraak veroorsaak sodat die korrekte inentings-strategie gevolg kan word. Met konvensionele virologiese metodes het mens 10-21 dae nodig om die serotipe te bepaal.

Hierdie werk is een voorbeeld van die toepassing van die kloneringsmetode wat Pottie ontwikkel het en daaropvolgende basevolgorde bepaling van die genoom segmente wat vir VP2 van al nege perdesiekte serotipes kodeer.

Koekemoer, J.J.O. and Van Dijk, A.A. (2004). African horsesickness virus serotyping and identification of multiple co-infecting serotypes with a single genome segment 2 RT-PCR amplification and reverse line blot hybridization. *Journal of Virological Methods*, 122,49-56.



Molecular analysis of AHSV7 outbreaks in SA in 1998-1999 using the VP2-genes



Koekemoer, J.J.O., Paweska, J.T., Pretorius, P.J. and Van Dijk, A.A. (2003). *Virus Res.* 93, 159-167.

Hier is nog 'n voorbeeld van die toepassing van die kloneringsmetode vir dsRNA en die basevolgorde bepaling van die genoom segmente wat vir VP2 van die verskillende perdesiekte serotipes kodeer, was die gebruik van molekuleêre epidemiologie om uitsluitel te kry oor waar die virus wat 'n perdesiekte serotipe 7 uitbraak in die Wes-Kaap in 1999 veroorsaak het vandaan gekom het. Dit was 'n CSI- forensiese tipe projek!

Daar was altesaam 13 perdesiekte serotipe 2 isolate in SA gedurende 1998/1999. Daar was virusse van die noordelike provinsies, die Wes-Kaap en een van Kwazulu-Natal. DNA kopieë is van die genoomsegment wat vir VP2 kodeer van al 13 isolate gemaak. Die basevolgorde van 'n 786 lang gedeelte van elkeen is bepaal en filogeneties ge-analiseer om die verwantskappe uit te vind. Dit was duidelik dat al die virusse volgens geografiese oorsprong gegroepeer het. Die virusse uit die noordelike provinsies het saam gegroepeer het en al die virusse van die Wes-Kaap het ook saam gegroepeer.

Die interessantheid was dat die enkele virus wat in 1998 in Kwazulu-Natal ge-isoleer is feitlik identies was aan die virusse wat die daaropvolgende seisoen in 1999 in die Wes-Kaap die uitbraak veroorsaak het. Die data het dus daarop gedui dat die 1999 uitbraak in die Wes-Kaap waarskynlik deur die invoer van 'n virus uit Kwazulu-Natal veroorsaak is en nie soos vermoed is deur die inbring van 'n besmette perd uit een van die noordelike provinsies nie!

Koekemoer, J.J.O., Paweska, J.T., Pretorius, P.J. and Van Dijk, A.A. (2003). VP2-gene Phylogenetic characterization of field isolates of African horsesickness virus serotype 7 circulating in South Africa during the time of the 1999 African horsesickness outbreak in the Western Cape. *Virus Research*, 93, 159-167.

Hierdie tipe benadering is basies dieselfde wat ek hier aan die NWU moet doen om mutasies en polimorfismes van mense wat aan metaboleiese siektes lei, te bestudeer.

Large Scale *In Vivo* Production of dsRNA and siRNA Libraries for RNA Interference and Therapy Using a Novel Viral System

Formation of a stable carrier state relationship between $\phi 6$ and *P. syringae* Ctr7 (pLM1086) host cells.

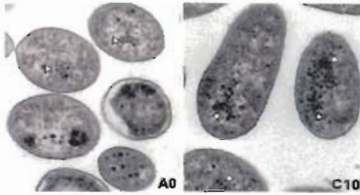
Aalto AP, Sarin LP, van Dijk AA, Saarna M, Poranen MM, Arumae U, Bamford DH. (2007). RNA, 13:422-9.

- > In Finland het ek die geleentheid gehad om by ander baie opwindende en uitdagende navorsing en ontwikkeling betrokke te raak.
- > Prof Dennis Bamford en sy groep het die heel eerste omgekeerde genetiese sisteem, "reverse genetics" in Engels, vir 'n dubbeldraad RNA virus ontwikkel. Hulle werk op 'n virus wat bakterieë infekteer, nl. Bakteriofaag phi6.
- > Vroeër in my rede het ek u vertel dat die ontdekking van RNA inmenging tot 'n revolusie in biologiese navorsing gelei het waardeur gene nou maklik afgeskakel kan word en dat dit groot potensiaal vir die terapie van siektes inhou.
- > Maar daar is 2 logistiese probleme in die veld.
 1. Die een is dat die klein stukkie dsRNA wat gene kan afskakel tans net op klein skaal (mikrogram skaal) vir navorsing en ontwikkeling geproduseer kan word.
 2. En die 2de probleem is dat die produksie baie, baie duur is.
- > Siende dat bakteriofaag phi6 se genoom heeltemal uit dsRNA bestaan en dat die virus goedkoop op grootskaal geproduseer kan word, het Prof Bamford se groep besluit om die omgekeerde genetiese sisteem van hierdie dsRNA virus verder te ontwikkel vir die grootskaalse produksie van dsRNA en klein inmengingsRNAs vir geenafskakeling. Ek was deel van die projek wat Antti Aalto en Peter Sann voltooi het.
- > Die linker kant van die figuur wys hoe die sisteem werk. 'n Stabiele draer sisteem is berei in bakteriese selle wat heeltly die T7 RNA polimerase produseer wat nodig is om RNA te maak.
 1. Twee plasmiede word dan in die sel ingesit. Die een bevat die geen wat nodig is om die virus se leë proteïendop te maak en die ander die geen wat afgeskakel moet word. Die T7 polimerase maak dan enkeldraad RNA van al twee die plasmiede. Die RNA word verpak in die proteïendop en daarinne omgeskakel in dsRNA.
 2. Die dsRNA kan dan gesuiwer word en in klein stukkie gesny word wat gebruik kan word om gene af te skakel. In hierdie geval het ons die geen wat kodeer vir groen fluoïserende proteïen gebruik.
 3. Die onderste figuur aan die regterkant wys die groen fluoïserensie as HeLa selkulture die groen fluoïserende proteïen sintetiseer.
 4. Die boonste figuur aan die regterkant wys hoe die fluoïserensie afneem as die geen afgeskakel word deur die klein inmengingsRNAs wat ons van ons dsRNA berei het.

Antti P. Aalto; L. Peter Sarin; Alberdina A. van Dijk; Umas Arumae; Minna M. Poranen; Mart Saarna & Dennis H. Bamford

Large scale production of dsRNA for industry

Propagation of carrier state cells in fermenters



Yield of dsRNA:

- 1.6 mg dsRNA/g wet cells was produced (~10% of the total RNA synthesized in the cell).
- Consequently, it should be possible to produce kilogram quantities of dsRNA in industrial scale bioreactors.

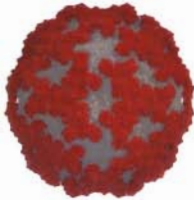
← dsRNA extraction and purification

Aalto AP, Saini LP, van Dijk AA, Saarna M, Poranen MM, Arumae U, Bamford DH. (2007). RNA, 13:422-9.

Die stabiele draer selsisteem produseer 1.6 mg dsRNA/ gram nat selgewig. Dit kan maklik in fermenters opgeskaal word. Die baktenofaag phi 6 sisteem sal dus kilogram hoeveelhede dsRNA vir die wêreldmark kan lewer!

In Die Skool vir Biochemie inkorporeer verskeie PhD studente tans ook reeds RNAi tegnologie om aspekte van oorerflike metaboliese siektes en detoksifikasie te ondersoek.

Developing an insect virus as a targetable medical drug delivery platform
(Shimoda Biotech Ltd and CSIRO Entomology, Canberra, Australia)



Crystal structure of the *Nudaurelia ω Capensis* virus (NwV), a T = 4 tetravirus.



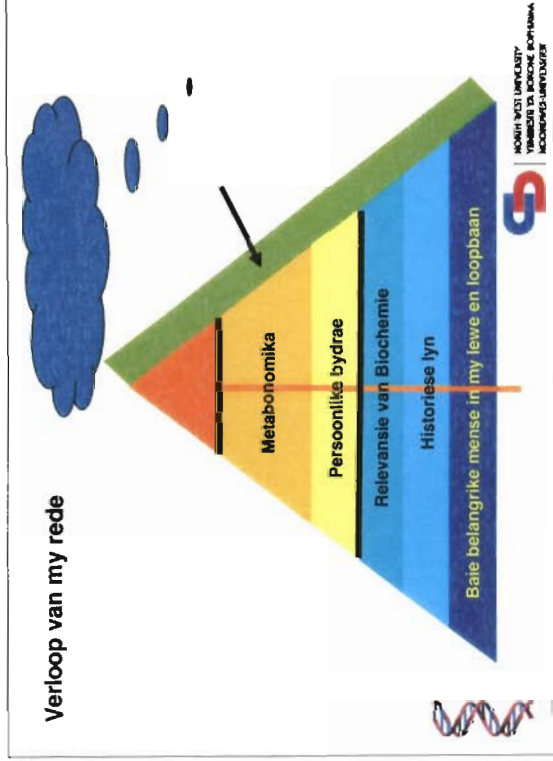
Baculovirus expressed coat protein p68 [240 copies] assembles in VLPs. The immunoglobulin-like domain is shown in red on the crystal structure and the analogous 'knob' on the capsid surface.

VLPs = nanospheres that can package small molecules or 8 kb mRNA.



Een van die probleme met medikasie is dat dit soms baie nuwe-efekte het omdat dit baie moeilik is om die medikasie spesifiek na die regte liggaamsdeel te stuur.

Die doel van die projek waarop by die CSIRO in Australië gewerk het was om hierdie insekvirus, *Nudaurelia ω Capensis* virus, te ontwikkel as 'n teikenbare nanopartikel om medikasie in te verpak en dan in die liggaam by die gewenste plekke af te lewer. Die idee was om die rooi immunoglobulien-agtige domein van sy buitedopproteïen met genetiese ingenieurswese te manipuleer vir teikening.



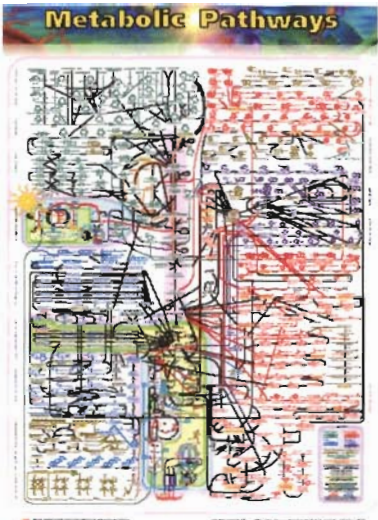
Hierdie laaste deel van my rede gaan oor die navorsing en ontwikkeling
waarvoor ek by die NWU is.

Metabolism is the totality of all the chemical reactions that operate in a living organism.


Inborn errors of metabolism (IEM) are inherited genetic disorders that cause alterations of a specific chemical reaction in metabolism.

~ 500 IEMs are already known


Incidence: 1-2% of population



Metabolic Pathways



NORD-OWES UNIVERSITY
 TUNISIESE UNIVERSITEIT
 NORD-OWES UNIVERSITEIT



Wat doen ek hier op NWU?

Ek het u reeds vertel dat daar in die Skool vir Biochemie meer as 20 jaar se bewese kundigheid in metabolisme en detoksifikasie is wat nasionale en internasionale erkenning geniet.

Ek sluit my navorsing hierby aan - juis omdat die klassieke metabolisme nie meer in isolasie kan funksioneer nie, maar op molekuleêre vlak aangevul en uitgebou moet word.

Die term metabolisme verwys na al die chemiese reaksies wat in lewende organismes plaasvind. Die plakaat bevat al die metaboliese weë wat u liggaam instand hou!

Oorerflike metaboliese foute is genetiese foute wat veroorsaak dat daar veranderings is van spesifieke chemiese reaksies in die metabolisme. Daar is reeds meer as 500 oorerflike metaboliese siektes bekend en nog baie meer sal ontdek word soos wat ons kennis en tegnologie verbeter.

Die voorkoms van elke afsonderlike siekte is laag, maar gesamentlik affekteer hierdie metaboliese siektes 1-2% van alle mense. Kliniese simptome kan enige tyd begin vanaf geboorte tot selfs eers laat in volwassenheid.

3-Methylcrotonyl CoA-Carboxylase deficiency

Autosomal recessive disease

Caused by mutations in 3MCC which catalyses the 4th step in the catabolism of leucine

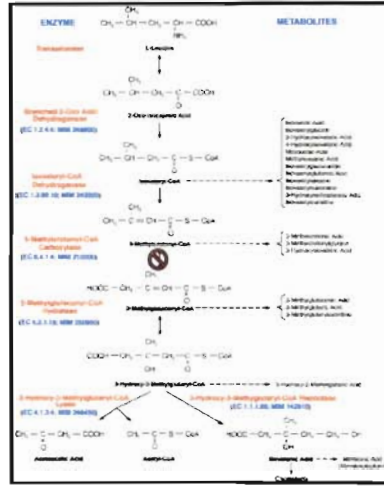
Most frequent organic aciduria

1:50 000 detected by new born screening programs in the USA, Europe and Australia.

It is an emerging disease

Phenotype: Varies from asymptomatic to death in infancy

The catabolism of leucine



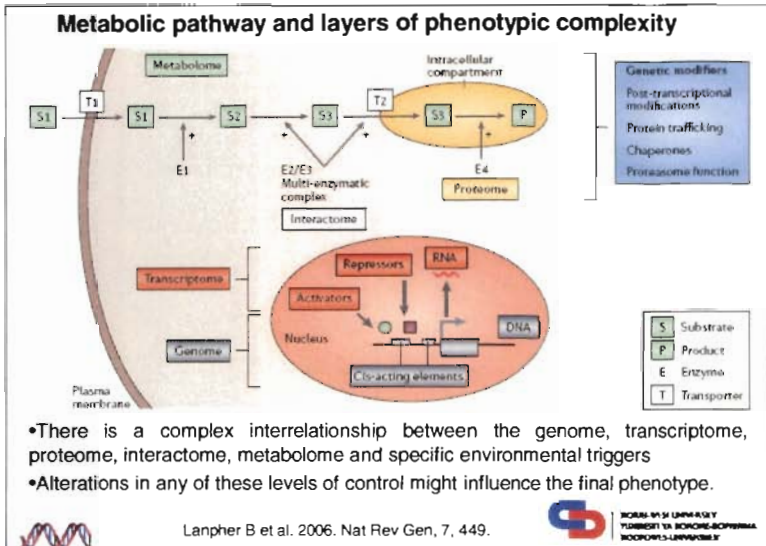
Een van die metabiese siektes waarop ek navorsing begin het, is die 3-Metielkrotoniel CoA-karboksilase gebrek.

Dit word beskou as 'n ontluikende siekte en word veroorsaak deur mutasies in die ensiem 3-Metielkrotoniel CoA-karboksilase wat die 4de stap in die afbraak van die aminosuur leusien kataliseer.

Omdat die ensiem nie werk nie, hoop die substrate vir die foutiewe ensiem op en ontstaan daar terselfdertyd 'n tekort aan die produkte stroomaf van die foutiewe ensiem in die metabiese pad gevorm moet word. Baie keer is die verhoogde vlakke van substrate wat ophoop baie toksies vir die liggaam.

Een van die probleme met die diagnose van die siekte is dat die fenotipe baie varieer, van heeltemal asimptomaties tot dood in die babastadium.

Een van die aspekte wat ek hier by NWU wil bestudeer, is om meer te wete te kom van die rol wat die liggaam se detoksifikasie-vermoë speel in die groot variasie in die fenotipe van metabiese siektes.



Hierdie figuur dui 'n metabliese pad aan van 'n substraat wat die sel binnekom en omgesit word in 'n produk en die vlakke van fenotipesse kompleksiteit.

Hieruit is die komplekse verwantskap duidelik tussen al die 'omics waarvan ek u vertel het, nl die genom, die transkriptoom, die proteoom, die interaktroom, die metaboloom en omgewingsfaktore.

Veranderinge in enige van hierdie vlakke van beheer kan die finale fenotipe beïnvloed.

Therapies for IEMs:

1. Dietary intervention,

- i. restriction (PKU, phenylalanine)
- ii. supplementation of downstream compounds
- iii. enhancement of detoxification

2. Enzyme replacement therapy

for some diseases (Gaucher's disease, Fabry disease, Hunter syndrome)



3. Gene therapy



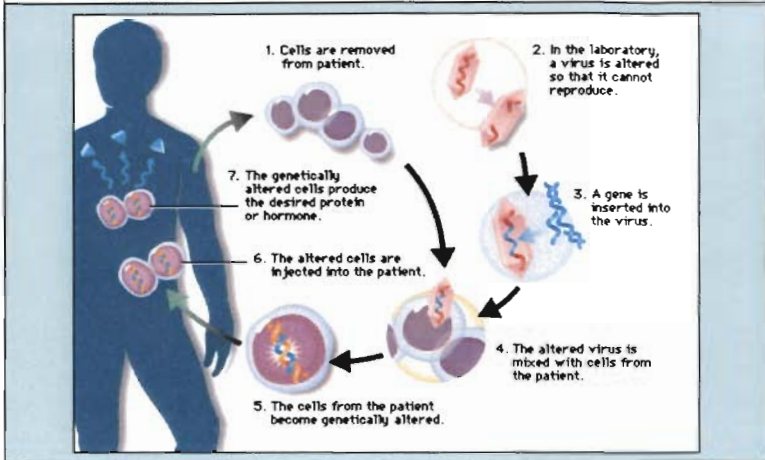
NORTH-WEST UNIVERSITY
YINBURG TO BOKONE BOPHATHA
KONINGSBERG-LINDFORSER

Daar is 3 tipes terapie vir oorefrlike metaboliese siektes.

Diëet ingrepe wat insluit

- i. Die beperking van inname van voedingstowwe wat die liggaam nie kan prosesseer nie, soos die aminosuur fenielalanien (in die geval van fenielketouria).
 - ii. Die inname van verbindings wat stroomaf van die blokkasie in die bepaalde genetiese pad lê
 - iii. En die verhoging van die liggaam se detoksifikasie-vermoë.
- Dieet-behandeling is tans die enigste terapie wat wyd gebruik kan word.
 - Ensiemvervangings-terapie en Geen-terapie is die behandelings van die toekoms.
2. **Ensiemvervangings-terapie** Vir 'n paar siektes is daar reeds rekombinante ensieme beskikbaar om die liggaam se foutiewe ensieme te vervang, soos vir Gaucher en Fabry se siekte en Elaprased vir Hunter se sindroom.
3. **Geen-terapie** is nog nie beskikbaar vir enige metaboliese siekte nie.

My eie navorsing by NWU fokus op die bestudering van die verhoging en optimalisering van detoksifikasie en ensiemvervangings-terapie



Hier is 'n tekenprent van Geen-terapie.

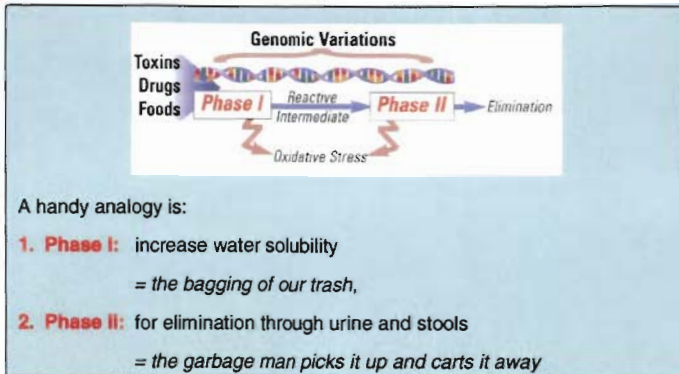
1. Selle word uit die pasiënt se liggaam gehaal.
2. Die geen wat kodeer vir die foutiewe metaboliiese ensiem word in die genoom van 'n virus klonkeer
3. en in die pasiënt se selle gebring deur infeksie van die selle met die rekombinante virus
4. Die virus integreer dan die nuwe korrekte geen in die pasiënt se genoom in
5. Die selle wat die korrekte geen bevat word dan terug in die pasiënt ingespuut
6. En produseer dan die ontbrekende ensiem.

Gene Therapy

page: library.thinkquest.org/.../load_image.php?id=50

Detoxification

The metabolic process the body uses to transform and eliminate toxins



A handy analogy is:

- 1. Phase I:** increase water solubility
= *the bagging of our trash,*
- 2. Phase II:** for elimination through urine and stools
= *the garbage man picks it up and carts it away*



Courtesy of Genova Diagnostics



UNIVERSITY OF LIMPOPO
TECHNOLOGY AND INNOVATION
RESEARCH AND DEVELOPMENT

Hierdie laaste deel van my rede gaan oor my fokus op


- detoksifikasie as behandelingsmetode vir die verwydering van toksiese stowwe wat in die liggaam ophoop a.g.v. metaboliese siektes en
- die genetiese variasies wat kan veroorsaak dat die effektiwiteit van detoksifikasie van persone baie kan verskil.

Daar is twee fases van detoksifikasie fase I en fase II.


Die maklikste manier om die fases te verstaan, is die analogie met huis vullisverwydering

- Fase I maak gifstowwe in die liggaam meer oplosbaar in water
= dit kan vergelyk word met ons wat by ons huise die vuilgoed in swart sakke gooi
- Fase II werk die opgeloste gifstowwe uit ons liggame uit deur urine en stoelgang
= dit kan vergelyk word met die vuilgoed verwyderingsspan wat die sakke oplaai en wegneem vuilgoedhoop toe.


Detoxification is increasingly viewed as important by:




**NORTH WEST UNIVERSITY
YEREBOSI EN BOKORONE BOPHONA
NOORHOPE-UNIVERSITEIT**





The general public
- to maximize quality of life



Sports participants
- to maximize performance



Patients with metabolic diseases
- as life-saving/life-improving therapy

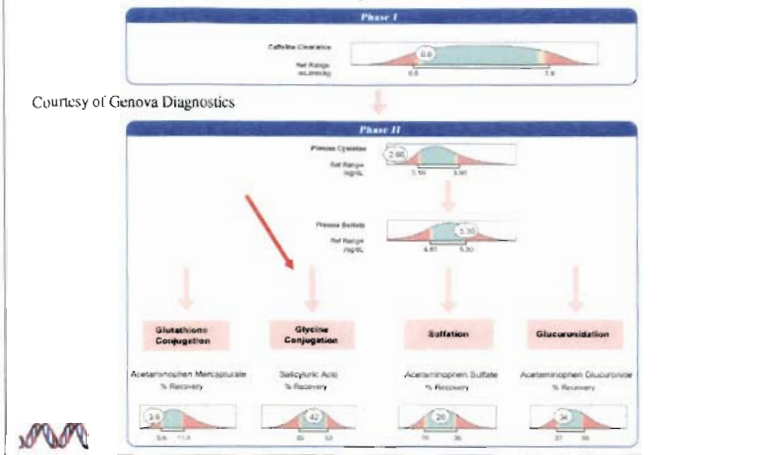
Die impak van detoksifikasie is nie net belangrik vir mense met metaboliese siektes nie, maar ook vir u en my en sportlui wat die bes moontlike kwaliteit van lewe en werkverrigting wil hê wat ons kan kry.

Ek is seker baie van u herken hierdie ontbytgraan. Die advertensie op die verpakking vestig ons aandag spesifiek die rol van detoksifikasie vir jou beskikbare energie.

<http://www.tribuneindia.com/2003/20030622/s1.jpg>

http://www.nationalcordbloodprogram.org/images/photo_erik.jpg

Detoxification profiling: In the emerging era of personalized medicine, individuals determine their detoxification profile to select their personal best **Diet, Lifestyle, Medication**



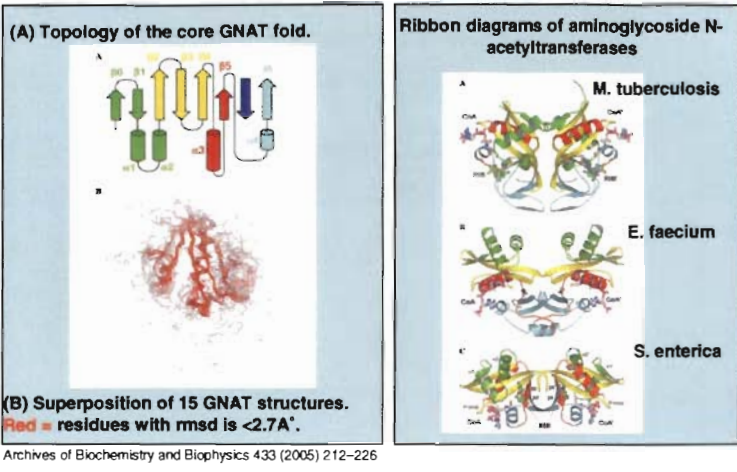
Oorsee en ook reeds hier in Biochemie op die NWU, onder leiding van Mnr Elardus Erasmus, is daar toetse beskikbaar waardeur elkeen sy eie persoonlike detoksifikasieprofiel kan laat bepaal.

Dit is baie nuttig sodat elkeen van ons gewone, gesonde mense ook die nodige dieet, lewensstyl en medikasie aanpassings kan maak wat die beste vir ons is om maksimum lewenskwaliteit te kan geniet.

Hierdie figuur van die Amerikaanse firma Genova Diagnostics wys die trefwydtes van normale, verlaagde en verhoogde detoksifikasie profiele van mense. Mnr Erasmus en sy span lewer hier in Biochemie selfs nog meer uitgebreide toetse.

Eksel self fokus met my navorsing op die fase II glisien-konjugerings detoksifikasieweg.

Structure and functions of the GNAT superfamily of acetyltransferases



Ek wys hierdie figuur vir u as voorbeeld van wat ek beoog met my navorsing op die detoksifikasie ensieme. Dit is dieselfde fase II detoksifikasie tipe ensieme wat ek besig is om hier te bestudeer.

Die figuur wys die verband tussen struktuur en funksie van N-asieltransferase ensieme. Die ensieme kom wyd in die natuur in feitlik alle lewende organismes voor. Hierdie is voorbeelde van ensieme waarvan beide die struktuur en die meganisme waarvolgens hulle werk, reeds gekarakteriseer is.

Wat opvallend is, is dat daar baie min ooreenkomste tussen die aminosuurvolgordes van die ensieme is, maar dat 4 motiewe van die sekondêre struktuur hoogs gekonserveer is. Hulle word links bo aangedui in groen, geel, rooi en blou.

Die superposisie van 15 verskillende ensieme se struktuur in die figuur links onder wys net hoe hoogs gekonserveer hierdie struktuur elemente is. Dit maak funksioneel sin uit want die ensieme kataliseer almal presies dieselfde tipe reaksies maar in heeltemal verskillende organismes.

Die regterkant van die figuur wys die lint-voorstelling van die basiese ooreenkomste en verskille van hierdie ensieme in 4 verskillende organismes en ligande wat aan hulle gebind is.

Die struktuur van die mens-ensiem is ongelukkig nog nie bekend nie.

Ek wil uitvind presies hoe die ensiem by mense werk en die variasie wat daar in hierdie ensiem by mense voorkom. Daardeur hoop ek om uiteindelik elke pasiënt met metaboliese siektes se detoksifikasie ensieme tot hulle maksimum te kan benut vir die wegwerking van die gifstowwe wat in hulle liggame ophoop.

Matthew W. Vetting; Luiz Pedro S. de Carvalho; Michael Yu; Subray S. Hegde; Sophie Magnet; Steven L. Roderick; John S. Blanchard. Structure and functions of the GNAT superfamily of acetyltransferases. Archives of Biochemistry and Biophysics 433 (2005) 212–226.

**FEITE:**

- Hier op die Potchefstroom Kampus van NWU in die Skool vir Biochemie is kundiges met baie kundigheid.
- Die kundigheid lê op die terrein van die metabolisme en is opgebou oor meer as 20 jaar!
- NWU het die afgelope twee jaar reeds 'n substansiële belegging in die molekulêre biologie gemaak.
- Die eksterne finansiële ondersteuning vir die navorsing en ontwikkeling van metabonomika in NWU is ongekend.

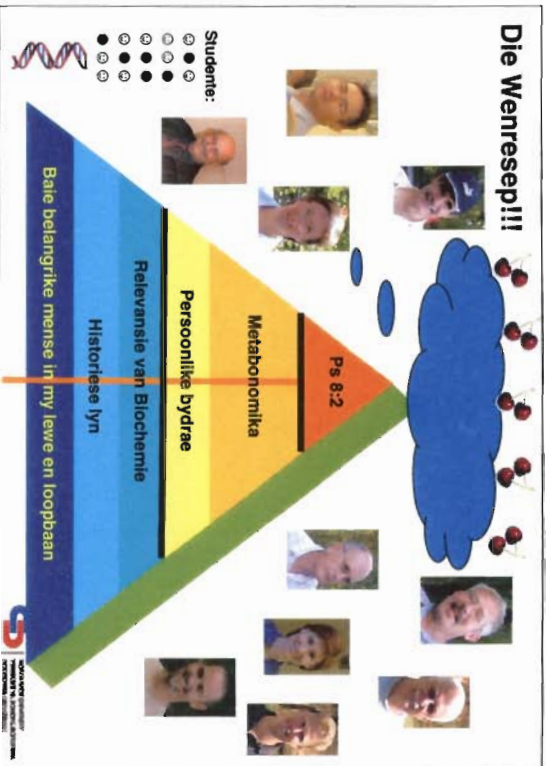


NORTH-WEST UNIVERSITY
YUNIBESITHI YA BOKONE BOPHIRIMA
NOROENWES-UNIVERSITEIT

Uit al die voorafgaande behoort u nou te besef dat die volgende feite vas is:

FEITE:

1. Hier op die Potchefstroom Kampus van NWU in die Skool vir Biochemie is kundiges met baie kundigheid.
2. Die kundigheid lê op die terrein van die metabolisme en is opgebou oor meer as 20 jaar!
3. NWU het die afgelope twee jaar reeds 'n substansiële belegging in die molekulêre biologie gemaak.
4. Die eksterne finansiële ondersteuning vir die navorsing en ontwikkeling van metabonomika in NWU is ongekend.



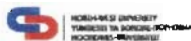
En hier is Biochemie se wenresep, 'n hele klomp kundiges en entoesiastiese studente!!!



Gulde geleentheid!

NWU kan die lewenskwaliteit van **Jan Publiek** en **pasiënte** met endogene en eksogene metaboliese siektes betekenisvol verbeter !!!

- Die Skool vir Biochemie se wenspan kan dit doen
- Met volgehoue steun van die NWU bestuur en ook
- Deur verdere ontginning van eksterne navorsings- en dienslewering befondsingsbronne vir 2de en 3de geldstroom inkomste
- En die insette van puik studente!



Dames en here, Ons het hier werklik 'n Gulde geleentheid!

NWU kan die lewenskwaliteit van **Jan Publiek** en **pasiënte** met endogene en eksogene metaboliese siektes betekenisvol verbeter !!!

1. Die Skool vir Biochemie se wenspan kan dit doen
2. Met volgehoue steun van die NWU bestuur en ook
3. Deur verdere ontginning van eksterne navorsings- en dienslewering befondsingsbronne vir 2de en 3de geldstroom inkomste
4. En die insette van puik studente!

**Die Kerk in die rots, Helsinki –
Luterse Internasionale Evangeliese
Kerk "IEC"**

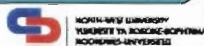


My woonstel in Viiki, Helsinki



Ps 84:4 Die mossie vind 'n huis, o Heer,
die swaeltjies lê in nesses neer; en ek
vind rus by u altare, ...

Ps 8:2 Here, ons Here, hoe wonderbaar is
u Naam oor die hele aarde, hoe glansryk
alles wat U in die hemelruim geplaas het!



Ter afsluiting: Hier is my woonstel in Viiki, in Finland regs bo; Links bo is die Kerk in die Rots in Helsinki waar ek deel was van die gemeente van die Luterse Internasionale Evangeliese Kerk. Die kerkgebou is letterlik binne-in 'n soliede granietrots. Die kerkruimte is uit die rots geskiet en die rotte is gebruik om die gapings op te vul.

Oorlede Prof Ben Jansen het my eendag as jong wetenskaplike in Esselenstraat in Sunnyside raakgeloop en gesê "Juffrou, die wetenskap hou 'n mens nederig." Al wat ek nou kan sê, is: Ja, voorwaar!

Ek sluit af met die vertroosting uit

Ps 84:4 Die mossie vind 'n huis, o Heer, die swaeltjies lê in nesses neer; en ek vind rus by u altare, ...

En die verwondering uit

Ps 8:2 Here, ons Here, hoe wonderbaar is u Naam oor die hele aarde, hoe glansryk alles wat U in die hemelruim geplaas het!



Prof Carools Reinecke sal nou die Bedankings doen en dan sal Ds Fanie Coetsee die Tafelgebed hier doen voor ons almal na die Gallery in die Ferdinand Postma Biblioteek stap vir ete!

Carools en Fanie, baie dankie by voorbaat!

Baie dankie ook aan u almal vir u aandag.