



ΕΙΔΙΚΑ ΘΕΜΑΤΑ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ

Ενότητα 1^η: Εισαγωγή στη γονιδιωματική

Τριανταφυλλίδης Α
Τμήμα Βιολογίας

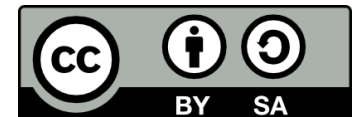


Ευρωπαϊκή Ένωση
Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο



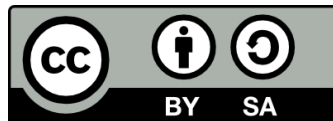
ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ & ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ, ΠΟΛΙΤΙΣΜΟΥ & ΑΘΛΗΤΙΣΜΟΥ
ΕΙΔΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ

Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης



Άδειες Χρήσης

- Το παρόν εκπαιδευτικό υλικό υπόκειται σε άδειες χρήσης Creative Commons.
- Για εκπαιδευτικό υλικό, όπως εικόνες, που υπόκειται σε άλλου τύπου άδειας χρήσης, η άδεια χρήσης αναφέρεται ρητώς.



Χρηματοδότηση

- Το παρόν εκπαιδευτικό υλικό έχει αναπτυχθεί στα πλαίσια του εκπαιδευτικού έργου του διδάσκοντα.
- Το έργο «Ανοικτά Ακαδημαϊκά Μαθήματα στο Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης» έχει χρηματοδοτήσει μόνο τη αναδιαμόρφωση του εκπαιδευτικού υλικού.
- Το έργο υλοποιείται στο πλαίσιο του Επιχειρησιακού Προγράμματος «Εκπαίδευση και Δια Βίου Μάθηση» και συγχρηματοδοτείται από την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο) και από εθνικούς πόρους.



Περιεχόμενα ενότητας

- Εισαγωγικά
- Ορολογία
- Οργανισμοί Μοντέλα
- Η αύξηση των γονιδιωματικών δεδομένων
- Μια νέα εποχή για τη γονιδιωματική και τον άνθρωπο
- Παραδείγματα μεγάλων προγραμμάτων μελέτης γονιδιωμάτων



Εισαγωγικά (1/4)

Τρεις βασικές ανακαλύψεις έδωσαν ώθηση στη γενετική:

- Mendel (1860): Ανακάλυψη των βασικών νόμων της κληρονομικότητας
- Watson & Crick (1953): Καθορισμός της δομής του DNA
- Human Genome Project (1986-2003...): Πρόγραμμα Αποκρυπτογράφησης του ανθρώπινου γονιδιώματος

http://www.youtube.com/watch?feature=player_embedded&v=TwXXgEz9o4w#!



Εισαγωγικά (2/4)

Χρωμοσωμική Θεωρία Κληρονομικότητας (1857-1865)

- Ο G. Mendel μελέτησε τον τρόπο κληρονόμησης των χαρακτηριστικών στο μπιζέλι
- Οι νόμοι της κληρονομικότητας ή νόμοι του Mendel έθεσαν τα θεμέλια της γενετικής



Εικόνα 2: Peas in pods



Εισαγωγικά (3/4)

Watson, Crick & Wilkins

Σάββατο 7 Μαρτίου 1953

Τρεις δημοσιεύσεις - Nature, τεύχος της 25ης
Απριλίου 1953 – Πρότειναν μοντέλο για τη
δευτεροταγή δομή του μορίου του DNA

Βραβείο Νόμπελ 1962 για την
Ανακάλυψη της δομής του DNA



Εικόνα 3: James Watson & Francis Crick



Εισαγωγικά (4/4)

Πρόγραμμα αποκρυπτογράφησης του Ανθρώπινου Γονιδιώματος (1986-2003)

- Ξεκίνησε με σκοπό την εύρεση της αλληλουχίας του και στη συνέχεια ακολούθησε η προσπάθεια ανάλυσης της λειτουργίας του, σε συνδυασμό με τη σύγκρισή του με άλλους **οργανισμούς μοντέλα**
- 2 παράλληλες προσπάθειες
 - **Δημόσιος τομέας:** Εθνικό Ινστιτούτο Υγείας των Η.Π.Α (NIH) και Τμήμα Ενέργειας των Η.Π.Α. (DOE) με επικεφαλή τον **Francis Collins**. Το μεγαλύτερο μέρος του προγράμματος διεξήχθη σε πανεπιστήμια και σε ερευνητικά κέντρα της Κίνας, της Γαλλίας, της Γερμανίας, της Ιαπωνίας, της Ισπανίας, του Ηνωμένου Βασιλείου και των Η.Π.Α. Τα αποτελέσματα δημοσιεύτηκαν στο περιοδικό **Nature**
 - **Ιδιωτικός τομέας:** Celera Corporation με διευθυντή τον **Craig Venter**. Τα αποτελέσματα δημοσιεύτηκαν στο περιοδικό **Science**



Ορολογία (1/7)

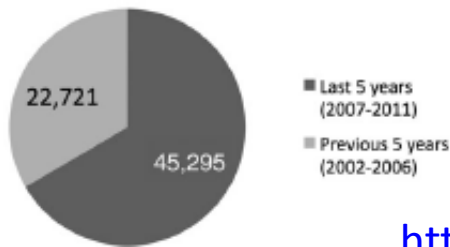
- **Γονιδίωμα:** περιλαμβάνει όλη την πληροφορία σε μια σειρά (απλοειδή) από το σύνολο των χρωμοσωμάτων που συναντώνται στον πυρήνα (ή και έξω από αυτόν) κάθε κυττάρου ενός οργανισμού
- Το **Ανθρώπινο Γονιδίωμα**, για παράδειγμα, περιλαμβάνει 24 διαφορετικά χρωμοσώματα (22 αυτοσωματικά χρωμοσώματα και τα φυλετικά χρωμοσώματα X και Y) καθώς και το DNA του μιτοχονδρίου, δηλ. το ανθρώπινο γονιδίωμα περιλαμβάνει 25 διαφορετικά μακρομόρια DNA. – σύνολο 3,2 Gb ($3,2 \times 10^9$ base pairs).
- Το μέγεθος κάθε χρωμοσώματος κυμαίνεται από ~50-300 Mbp, ενώ
- Το μέγεθος του μιτοχονδριακού γονιδιώματος είναι 16.571 bp



Ορολογία (2/7)

- Η **Γονιδιωματική Επιστήμη (Genomics)** έχει σκοπό της τη μελέτη και την ανάλυση ολόκληρων γονιδιωμάτων
- Ο όρος χρησιμοποιήθηκε πρώτη φορά το 1986.
- Εφαρμογή εργαστηριακών μεθόδων χαρτογράφησης, εύρεσης αλληλουχίας, σύγκρισης αποτελεσμάτων και εξαγωγής συμπερασμάτων
- Απαραίτητοι οι ηλεκτρονικοί υπολογιστές για την ανάλυση των μεγάλων ποσοτήτων δεδομένων που παράγονται
- Σχετικά Περιοδικά : Genome, BMC Genomics, Genome Research, Comparative and Functional Genomics...
- Παρατηρείται μεγάλη αύξηση του αριθμού των δημοσιεύσεων τα τελευταία χρόνια (ανάλυση γονιδιωμάτων, βιοπληροφορική)

PubMed MeSH index: Computational Biology



Εικόνα 4: Το διάγραμμα δείχνει την αύξηση του αριθμού των δημοσιεύσεων την πενταετία 2007-2011

Kerfeld (2013). *Biochem Mol Biol Educ* 41, 12-15.

<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/bmb.20660/pdf>



Ορολογία (3/7)

Οι αλλαγές που συμβαίνουν είναι τόσο μεγάλες όσο αυτές της Γεωργικής και Βιομηχανικής Επανάστασης, με εφαρμογές στη:

- **Βασική έρευνα** - Πληροφορίες σχετικά με την κυτταρική διαίρεση, τη διαφοροποίηση, την ανάπτυξη, την αναπαραγωγή αλλά και την ποικιλομορφία που υπάρχει στους πληθυσμούς
- **Εφαρμοσμένη έρευνα** - Πληροφορίες σχετικά με νέα φάρμακα, αντιμετώπιση και πρόληψη ασθενειών, καθορισμός χαρακτηριστικών (ποιοτικών και ποσοτικών) με οικονομικό ενδιαφέρον



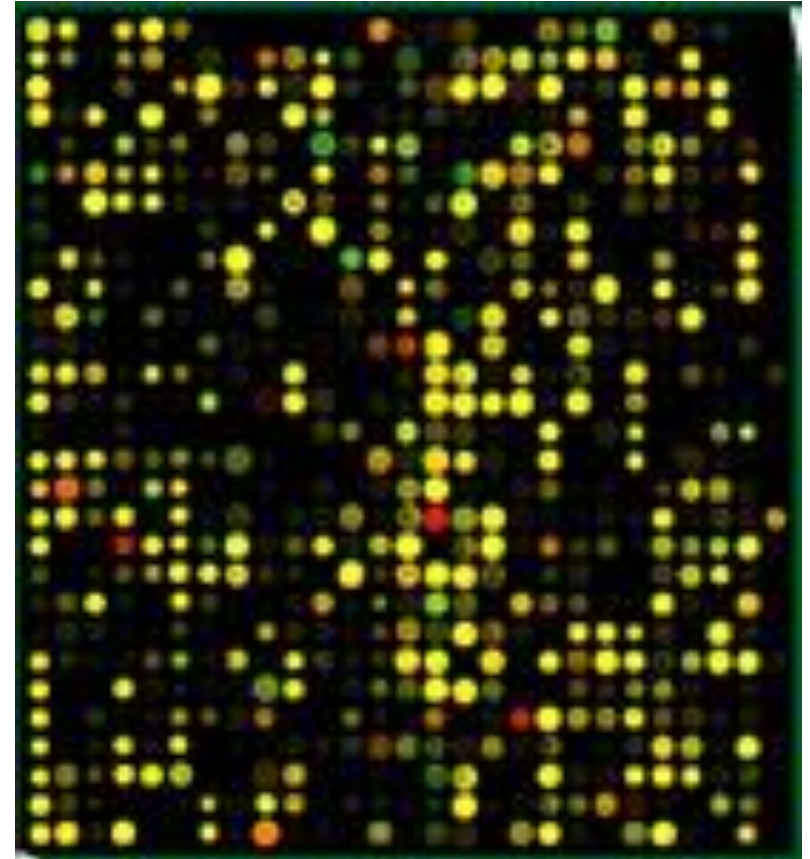
Ορολογία (4/7)

- **Δομική Γονιδιωματική (Structural Genomics)** - αναλύει τη δομή του γονιδιώματος (γενετική χαρτογράφηση, φυσική χαρτογράφηση, αλληλούχιση). Αναπτύσσεται ραγδαία
- **Λειτουργική Γονιδιωματική (Functional Genomics)** - αναλύει τη λειτουργία του γονιδιώματος, δηλ. το φαινότυπο. Περιλαμβάνει την ανάλυση όλων των RNAs που μεταγράφονται στο κύτταρο (**transcriptome**-μεταγράψωμα) και όλων των πρωτεϊνών που κωδικοποιεί το γονιδίωμα (**proteome**-πρωτέωμα). Είναι το επόμενο στάδιο: "**post-genome era**"



Ορολογία (5/7)

- Οι **DNA μικροσυτοιχίες** (DNA chips) επιτρέπουν την παρακολούθηση της έκφρασης ολόκληρου του γονιδιώματος σε διάφορα αναπτυξιακά στάδια ή διάφορα όργανα ή, τέλος, σε απόκριση σε περιβαλλοντικές αλλαγές
- Αυτές οι τεχνολογίες πιστεύεται πως θα δώσουν απαντήσεις στο πώς αλληλεπιδρούν τα γονίδια μεταξύ τους και με το περιβάλλον για να δώσουν τον τελικό φαινότυπο, κάτι που ήταν αδύνατο να γίνει μέχρι σήμερα



Εικόνα 5: DNA microarray



Ορολογία (6/7)

Πρωτεωμική (Proteomics): Μελετά την έκφραση, τη δομή, τη λειτουργία καθώς και τη χρονική και χωρική τοποθέτηση των πρωτεϊνών. Συντελεί στη μελέτη του φαινοτύπου

Βιοπληροφορική (Bioinformatics): Υπολογιστικές-Αλγοριθμικές προσεγγίσεις στην παραγωγή και επεξεργασία πληροφορίας από μεγάλα σετ βιολογικών δεδομένων. **Από τους σημαντικότερους κλάδους της σύγχρονης Βιολογίας**



Ορολογία (7/7)

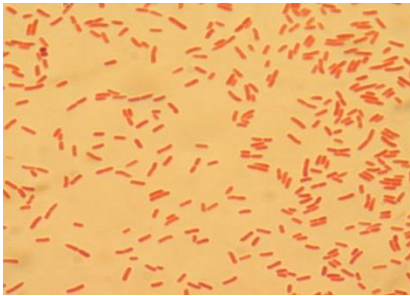
- **Συγκριτική Γονιδιωματική (Comparative Genomics)**
 - Εφαρμογή της γνώσης από ένα είδος σε άλλους οργανισμούς (ακόμα και απομακρυσμένους εξελικτικά)
- Οι πληροφορίες συλλέγονται από οργανισμούς μοντέλα και έχουν προεκτάσεις σε γεωργικά και ιατρικά προβλήματα → ανάλυση της σχέσης γενότυπου-φαινότυπου



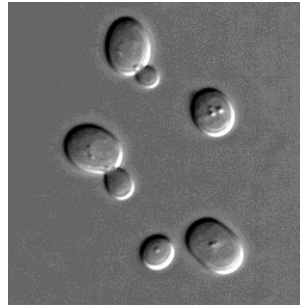
Οργανισμοί Μοντέλα (1/3)

Οι 6 πρώτοι οργανισμοί μοντέλα, στους οποίους έγιναν γονιδιωματικές αναλύσεις (Εικόνα 6):

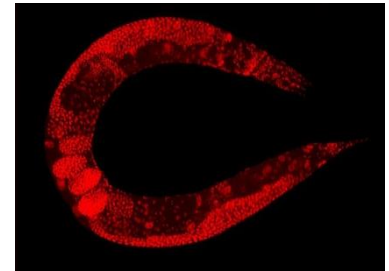
E. coli



S. cerevisiae



C. elegans



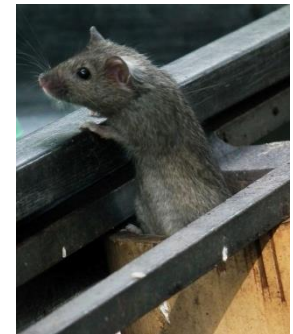
D. melanogaster



A. thaliana



M. musculus



Οργανισμοί Μοντέλα (2/3)

- Έχουν πλήθος κοινών γενετικών μηχανισμών και μονοπατιών μεταξύ τους και με τον άνθρωπο.
- Δεν υπάρχουν μεγάλα ηθικά προβλήματα.
- Είναι δυνατά πειράματα ελεγχόμενων διασταυρώσεων και κατευθυνόμενης τροποποίησης γενετικού υλικού
- Δεν επιλέχτηκαν τυχαία – Βρίσκονται σε διαφορετικά σκαλοπάτια της εξελικτικής αλυσίδας.
- Υπάρχουν πολλά βιολογικά δεδομένα και μελετούνται για πολλά χρόνια



Οργανισμοί Μοντέλα (3/3)

Τα πρώτα Προγράμματα Αλληλούχισης

| Οργανισμός | # Γονιδίων | % γονιδίων με γνωστή λειτουργία | Ημερομηνία ολοκλήρωσης |
|----------------------|------------|---------------------------------|------------------------|
| <i>E. coli</i> | 4.288 | 60 | 1997 |
| <i>S. cerevisiae</i> | 6.600 | 40 | 1996 |
| <i>C. elegans</i> | 20.000 | 40 | 1998 |
| <i>Drosophila</i> | 15.000 | 25 | 1999 |
| <i>Arabidopsis</i> | 25.000 | 40 | 2000 |
| Ποντίκι | ~30.000 | 20 | 2002 |
| Άνθρωπος | ~30.000 | 20 | 2001/4 |



Η Αύξηση των δεδομένων (1/2)

1976/79: Πρώτο μικρό γονιδίωμα –MS2/fX174

1995: Πρώτο προκαρυωτικό γονιδίωμα – *H. influenzae*

1996: Πρώτο γονιδίωμα μονοκύτταρου ευκαρυώτη - Ζύμη

1997: Πρώτο γονιδίωμα πολυκύτταρου ευκαρυώτη - *C. elegans*

2001: Το ανθρώπινο γονιδίωμα ~3Gb

2014: 3141 ολοκληρωμένα προκαρυωτικά γονιδιώματα (+ 25000 σε εξέλιξη), + 1700 ευκαρυωτικά γονιδιώματα (μόνο 21 πλήρως ολοκληρωμένα)

Τα τελευταία χρόνια παρατηρείται μια ραγδαία αύξηση του αριθμού τόσο των ολοκληρωμένων όσο και των προσχέδιων γονιδιωμάτων που δημοσιεύονται:

(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/browse/>)



Η Αύξηση των δεδομένων (2/2)

- Πολλά προγράμματα αλληλούχισης γονιδιωμάτων βρίσκονται αυτή τη στιγμή σε εξέλιξη
- Αρχαία, Βακτήρια: Ένας σημαντικός αριθμός γονιδιωμάτων έχει ήδη αλληλουχηθεί, ενώ έχουν δημοσιευθεί και κάποια προσχέδια
- Ευκαρυωτικοί οργανισμοί: Ελάχιστα γονιδιώματα έχουν πλήρως αλληλουχηθεί, ενώ ένας μικρός αριθμός προσχέδιων γονιδιωμάτων έχουν δημοσιευθεί
- Τα περισσότερα προγράμματα αφορούν την ανάλυση του γονιδιώματος, ενώ στα ευκαρυωτικά ένας σημαντικός αριθμός προγραμμάτων ερευνά και το Μεταγράψωμα
- Τα προγράμματα αυτά δεν μπορούν να εφαρμοστούν σε κάποιες ομάδες των Αρχαίων και των Βακτηρίων, καθώς παραμένει δύσκολη η καλλιέργειά τους

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genomes/static/gpstat.html>



Μια νέα Εποχή

- Η ολοκλήρωση του HGP σηματοδότησε το ξεκίνημα μιας νέας εποχής στη Γονιδιωματική και την Πρωτεωμική.
- Νέες μέθοδοι αναπτύσσονται.
- Νέα αποτελέσματα παράγονται.



Νέοι οργανισμοί

Συνεχώς νέοι οργανισμοί μπαίνουν στο στόχαστρο των ερευνητών με σκοπό την αλληλούχιση των γονιδιωμάτων τους. Μεταξύ αυτών περιλαμβάνονται οι: *Guillardia theta*, *Encephalitozoon cuniculi*, *Plasmodium falciparum*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Anopheles gambiae*, Χιμπατζής, μακάκος, ουρακοτάγκος, γάτα, ελέφαντας της Αφρικάνικης σαβάνας, αρουραίος, άλογο, αγελάδα, σκύλος, γουρούνι (+10 θηλαστικά), zebrafish, pufferfish, μπακαλιάρος, βρώμη, κριθάρι, σόγια, ρύζι, σιτάρι, καλαμπόκι, τομάτα.

Το (NHGRI) National Human Genome Research Institute είναι πρωτοπόρο στην ανάλυση νέων γονιδιωμάτων

<http://www.genome.gov/>



Παραγωγή δεδομένων

Στον Πίνακα φαίνονται η όλο και καλύτερη με τα χρόνια κάλυψη των διαφορετικών ταξινομικών κλάσεων σε αρχαία, βακτήρια (βλ. και σχετικά προγράμματα πιο κάτω) και ευκαρυώτες. Βέβαια ειδικά για τους ευκαρυώτες χρειάζεται πολλή ακόμα προσπάθεια.

| Domain | Projects | | Phyla | | Class | | Order | | Family | | Genus | |
|---------------------|----------|------|-------|-------|--------|--------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| | 2011 | 2009 | 2011 | 2009 | 2011 | 2009 | 2011 | 2009 | 2011 | 2009 | 2011 | 2009 |
| Archaea | 327 | 179 | 5/5 | 5/5 | 10/10 | 10/10 | 18/18 | 18/18 | 28/29 | 24/26 | 96/118 | 85/109 |
| Percentage coverage | | | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 97 | 92 | 81 | 78 |
| Bacteria | 8458 | 4184 | 32/34 | 27/29 | 51/53 | 45/47 | 109/118 | 234/281 | 254/298 | 234/281 | 885/2106 | 730/1930 |
| Percentage coverage | | | 94 | 93 | 100 | 96 | 92 | 83 | 85 | 83 | 42 | 38 |
| Eukarya | 2205 | 1280 | 33/57 | 29/55 | 93/182 | 80/188 | 258/1037 | 350/6288 | 458/6689 | 350/6288 | 729/54 K | 536/48 K |
| Percentage coverage | | | 58 | 53 | 51 | 43 | 25 | 6 | 7 | 6 | 1 | 1 |

DOE Joint Genome Institute

- A Genomic Encyclopedia of Bacteria and Archaea

<http://genome.jgi.doe.gov/programs/bacteria-archaea/GEBA.jsf>



Αποθήκευση δεδομένων

Η βάση δεδομένων **GOLD** (Genomes online database) είναι μια ηλεκτρονική πηγή που παρέχει ολοκληρωμένη πρόσβαση σε πληροφορίες που αφορούν γονιδιωματικά και μεταγονιδιωματικά προγράμματα αλληλούχισης, καθώς και των δεδομένων που προκύπτουν από αυτά

Τα δεδομένα της έχουν αυξηθεί με μεγάλο ρυθμό τα τελευταία χρόνια (Οκτώβριος 2014: 58.311 προγράμματα)

http://genomesonline.org/cgi-bin/GOLD/index.cgi?page_requested=Statistics

Σχετικές εργασίες:

The Genomes On Line Database (GOLD) in 2009: status of genomic and metagenomic projects and their associated metadata

Liolios K., *et al.* 2010, Nucleic Acid Research , Vol. 38, D346–D354

The Genomes OnLine Database (GOLD) v.4: status of genomic and metagenomic projects and their associated metadata

Pagani I., *et al.* 2012, Nucleic Acid Research , Vol. 40, D571-D579



Παραγωγή Δεδομένων (1/3)

- ✓ Σήμερα σε 31 χώρες παγκοσμίως παράγονται δεδομένα από γονιδιωματικές έρευνες
- ✓ Στον παρακάτω σύνδεσμο φαίνονται οι χώρες αυτές, καθώς και ο αριθμός των προγραμμάτων σε καθεμία από αυτές:

http://genomesonline.org/cgi-bin/GOLD/index.cgi?page_requested=GenomeMap

- ✓ Η.Π.Α: Η χώρα με τα περισσότερα γονιδιωματικά προγράμματα (κατέχει το προβάδισμα με διαφορά από τις υπόλοιπες, > 3.000 προγράμματα)
- ✓ Ακολουθούν το Η. Βασίλειο (~ 250 προγράμματα), η Ιαπωνία (~ 200 προγράμματα) και η Γαλλία (~ 200 προγράμματα)
- ✓ Μεταξύ των σημαντικότερων κέντρων αλληλούχισης περιλαμβάνονται τα: JGI (Joint Genome Institute), JCVI (J. Craig Venter Institute), Broad Institute

http://genomesonline.org/cgi-bin/GOLD/index.cgi?page_requested=Statistics

<http://www.jgi.doe.gov/>

<http://www.jcvi.org/>

<http://www.broadinstitute.org/>

<http://www.hgsc.bcm.tmc.edu/>



Παραγωγή Δεδομένων (2/3)

Αρχαία: Το μεγαλύτερο ποσοστό των προγραμμάτων αφορούν την ανάλυση ολόκληρου γονιδιώματος (92,3%), ενώ σε πολύ μικρότερο ποσοστό την ανάλυση του τρανσκριπτώματος και προγράμματα επαναλληλούχισης.

Βακτήρια: Τα προγράμματα που σχετίζονται με τα βακτήρια περιλαμβάνουν κυρίως την ανάλυση ολόκληρου του γονιδιώματος (96,3%).

Ευκαρυωτικά: Το 66,3% των προγραμμάτων για ευκαρυωτικούς οργανισμούς σχετίζεται με ανάλυση ολόκληρου γονιδιώματος, το 19% με προγράμματα επαναλληλούχισης και το 12,2% με ανάλυση του τρανσκριπτώματος .



Παραγωγή Δεδομένων (3/3)

Ορισμοί

Μεταγονιδιωματικά (Metagenome) προγράμματα αλληλούχισης: προγράμματα που στόχος τους είναι ένα συνολικό περιβαλλοντικό δείγμα με το DNA όλων των οργανισμών που διαβιούν εκεί χωρίς πρώτα να διαχωρίζονται

Προγράμματα επανααλληλούχισης (Resequencing): Η αλληλούχιση περισσότερων ατόμων από ένα είδος που έχουμε ήδη αποκτήσει το γονιδίωμα του



Αύξηση δεδομένων / Μείωση τιμών

- 2000: Δημοσίευση των πρώτων προσχέδιων του ανθρώπινου γονιδιώματος

Τα επόμενα χρόνια η αύξηση των δεδομένων είναι εκθετική

<http://www.nature.com/news/2010/100331/pdf/464670a.pdf>

- *Nature* 28/10/10: Μέχρι το τέλος του 2011 έχουν ολοκληρωθεί 30.000 ανθρώπινα γονιδιώματα

- Οι νέες τεχνολογίες που αναπτύσσονται συνεχώς επιτρέπουν την αλληλούχιση των γονιδιωμάτων με όλο και μειωμένο κόστος

http://www.nature.com/nature/journal/v464/n7289/fig_tab/464674a_F1.html#figure-title



Δημοσιεύσεις αλληλούχισης ανθρώπινων γονιδιωμάτων (1/2)

- The Diploid Genome Sequence of an Individual Human

<http://www.plosbiology.org/article/fetchObject.action?uri=info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pbio.0050254&representation=PDF>

- Accurate whole genome sequencing using reversible terminator chemistry

<http://www.nature.com/nature/journal/v456/n7218/pdf/nature07517.pdf>

- DNA sequencing of a cytogenetically normal acute myeloid leukaemia genome

<http://www.nature.com/nature/journal/v456/n7218/pdf/nature07485.pdf>

- The diploid genome sequence of an Asian individual

<http://www.nature.com/nature/journal/v456/n7218/pdf/nature07484.pdf>



Δημοσιεύσεις αλληλούχισης ανθρώπινων γονιδιωμάτων (2/2)

- Complete Khoisan and Bantu genomes from southern Africa
<http://www.nature.com/nature/journal/v463/n7283/pdf/nature08795.pdf>
- Illumina sequences DNA of American actress Glenn Close
<http://www.news-medical.net/news/20100311/Illumina-sequences-DNA-of-American-actress-Glenn-Close.aspx>
- The characterization of Twenty Sequenced Human Genomes
<http://www.plosgenetics.org/article/fetchObject.action?uri=info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pgen.1001111&representation=PDF>
- Αλληλούχιση μόνο για το έξωμα του γονιδιώματος
<http://www.nimblegen.com/>



Το γονιδίωμα 1000 ανθρώπων (1/2)

- Αποτελεί το πρώτο πρόγραμμα που έχει ως κύριο στόχο την αλληλούχιση γονιδιωμάτων από ένα μεγάλο αριθμό ατόμων, παρέχοντας έτσι μια πιο ολοκληρωμένη πηγή πληροφοριών για την ανθρώπινη γενετική ποικιλότητα
- Φιλόδοξο πρόγραμμα με σκοπό να ανιχνεύσει μεταλλάξεις χαμηλών συχνοτήτων που σχετίζονται με ευπάθεια σε ασθένειες
- Όλα αυτά γίνονται χρησιμοποιώντας αλληλούχιση με νέα μηχανήματα και βιοπληροφορική ανάλυση

<http://www.1000genomes.org/>



Το γονιδίωμα 1000 ανθρώπων (2/2)

28/10/2010

ΣΙΓΟΥΡΑ ΔΕΝ ΕΙΜΑΣΤΕ ΤΕΛΕΙΟΙ... με αποδείξεις

A map of human genome variation from population-scale sequencing

The 1000 Genomes Project Consortium

<http://www.nature.com/nature/journal/v467/n7319/full/nature09534.html>



Κατά μέσο όρο κάθε άνθρωπος, φέρει 250 - 300 μη λειτουργικές μεταλλάξεις και 50 - 100 αλληλόμορφα σχετιζόμενα με κληρονομικές ασθένειες



Δημοσιεύσεις αλληλούχισης γονιδιωμάτων άλλων οργανισμών

Προγράμματα αλληλούχισης γονιδιωμάτων δεν διεξήχθησαν μόνο στον άνθρωπο αλλά και σε έναν αριθμό ζώων:

➤ Whole genome sequencing of a single *Bos taurus* animal for single nucleotide polymorphism discovery

Eck *et al.*, 2009, *Genome Biology*, **10**:R82

Το γονιδίωμα μιας αγελάδας σε ένα πέρασμα

➤ Drosophila Population Genomics Project

Το γονιδίωμα 50 Drosophila

<http://www.dpgp.org/>

➤ Population Genomics of Parallel Adaptation in Threespine Stickleback using Sequenced RAD Tags

Hohenlohe *et al.* 2010, *PLoS Genetics*, 6(2)

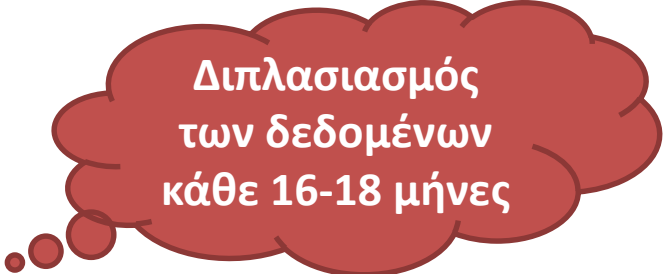
Το γονιδίωμα 45.000 SNP σε 100 stickleback



Μια νέα Εποχή

Σύμφωνα με στοιχεία της GenBank/NCBI:

- ✓ 2000: 8 δις βάσεις κατατεθειμένες
- ✓ Απρίλιος 2011: 126 δις βάσεις κατατεθειμένες



Διπλασιασμός
των δεδομένων
κάθε 16-18 μήνες

☞ **2013**: Διπλασιασμός των δεδομένων στην NCBI σε λιγότερο από χρόνο

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Genbank/genbankstats.htm>

!

Μόνο για το 2014 ο στόχος παραγωγής
στο DOE JGI της Αμερικής είναι 68 δις βάσεις

<http://jgi.doe.gov/our-projects/statistics/>



Τα δεδομένα αυξάνονται

□ Η αύξηση των κατατεθειμένων δεδομένων την τελευταία δεκαετία οφείλεται στην εκρηκτική παραγωγή δεδομένων sequence (παλιά ... short) read archive (SRA) από τα μηχανήματα αλληλούχισης νέας γενιάς (ειδικά στον άνθρωπο).

Έχουμε φτάσει τα 2 petabases (10^{15})

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Traces/sra/>

□ Αντίθετα έχει μειωθεί η παραγωγή trace δεδομένων από μηχανήματα πρώτης γενιάς

(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Traces/trace.cgi?view=statistics>)

http://openi.nlm.nih.gov/detailedresult.php?img=3013722_gkη1150f1&req=4

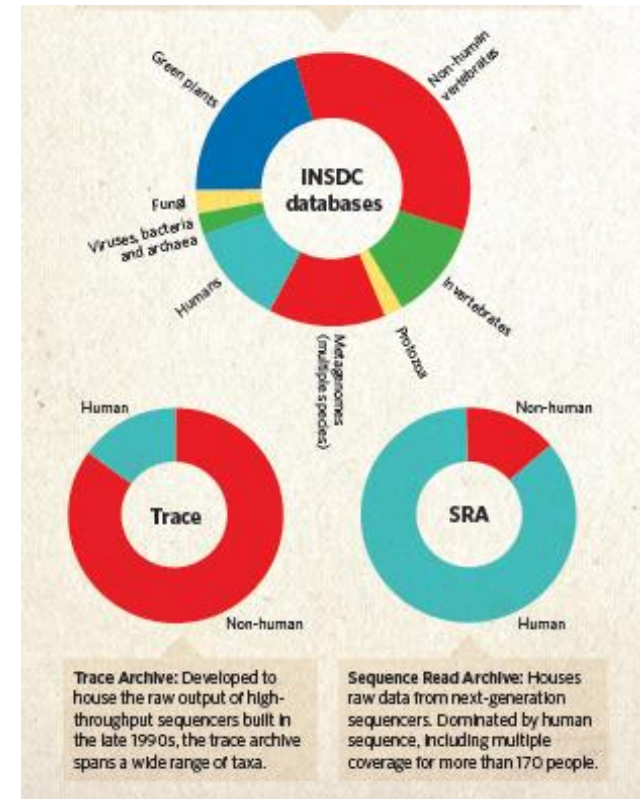


Μια νέα Εποχή

Εικόνα 7

Trace archive – δεδομένα από κλασικά μηχανήματα αλληλούχησης (τα χρωματογραφήματα), συνήθως μεγέθους 600 βάσεων, όπου ένα τμήμα DNA διαβάζεται μια φορά

Sequence read archive – δεδομένα από μηχανήματα αλληλούχησης νέας γενιάς, μεγέθους από μερικές δεκάδες (παλιότερα) έως εκατοντάδες βάσεις (σήμερα), όπου ένα τμήμα DNA διαβάζεται πολλές φορές και απαιτείται συναρμολόγηση των κομματιών με βιοπληροφορικές μεθόδους



Οι τιμές πέφτουν

- Από το 1990 το κόστος για την αλληλούχιση του ανθρώπινου γονιδιώματος έχει κατέβει >50 φορές
- Σήμερα απαιτούνται <10.000 \$
- Στο απώτερο και άμεσο μέλλον **1.000 \$!!!!**
- Αλληλούχιση μόνο των κωδικών περιοχών κοστίζει ήδη 1.000 δολάρια. Τα κόστη αφορούν την επαναλληλούχιση ενός γνωστού γονιδιώματος

<http://www.genome.gov/sequencingcosts/>



Το μέλλον είναι τώρα

The 1000\$ genome

15/1/2014

HiSeq: Παραγωγή 16 Human Genomes / 3 ημέρες = 18.000 HG / χρόνο 30X κάλυψη, χάρη σε καλύτερο πακετάρισμα των αντιδράσεων στους μικροανιχνευτές, καλύτερη καταγραφή του σήματος μέσω βελτιωμένης κάμερας, φθηνότερη πολυμεράση
Αλλά ... πρέπει να αγοράσεις 10 τέτοια μηχανήματα = 10 M \$

<http://www.nature.com/news/is-the-1-000-genome-for-real-1.14530>



**Νέες ανακαλύψεις
ανατρέπουν ό,τι ξέραμε μέχρι
σήμερα**



Μια νέα Εποχή

Widespread RNA and DNA Sequence Differences in the Human Transcriptome-*Science* May 19 2011 (vol. 333, p. 53-58) <http://www.sciencemag.org/content/333/6038/53.full.pdf>

RNA-DNA differences (RDDs)

Ανάλυση στο RNA από Β λεμφοκύτταρα έδειξε ότι είναι πιθανές και οι 12 τροποποιήσεις και όχι μόνο οι γνωστές A → G και C → U

Τα mRNA μπορούν να διαφέρουν σε 10.000 διαφορετικές θέσεις από το γονιδιωματικό DNA!

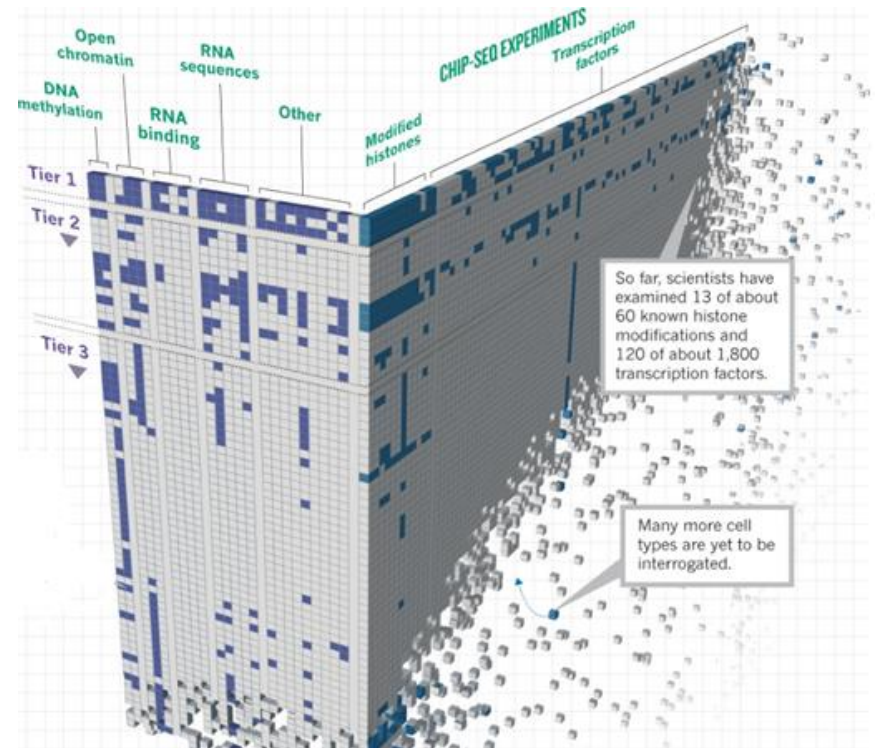
Οι πρωτεΐνες που παράγονται διαφέρουν επίσης!

Αλλά δείτε και ... DOI: 10.1371/journal.pone.0025842



Μια νέα Εποχή

6/9/2012- Το πρόγραμμα **ENCODE** (αποτέλεσμα μεγάλης έρευνας 32 ερευνητικών ομάδων, που δημοσίευσαν ταυτόχρονα 30 επιστημονικές εργασίες) μελετάει τους ρυθμιστικούς παράγοντες που καθορίζουν την έκφραση του γονιδιώματος. Ανακάλυψαν ότι τουλάχιστον το 80% του γονιδιώματος έχει κάποια λειτουργία με >70.000 περιοχές προαγωγέων και 400.000 περιοχές ενισχυτή. Το γονιδίωμα μεταγράφεται στο μεγαλύτερο ποσοστό του σε μη κωδικοποιόν RNA.



Η **Εικόνα 8** δείχνει την προσπάθεια των ερευνητών του ENCODE να κάνουν 24 διαφορετικές αναλύσεις (κατά μήκος της Εικόνας) σε 150 διαφορετικές κυτταρικές σειρές (από πάνω προς τα κάτω). Πολλές αναλύσεις είναι ακόμα υπό επεξεργασία...

<http://www.nature.com/news/encode-the-human-encyclopaedia-1.11312>



Μια νέα Εποχή

Exonic Transcription Factor Binding Directs Codon Choice and Affects Protein Evolution *Science* 13 December 2013: Vol. 342 no. 6164 pp. 1325-1326

Τα γονιδιώματα περιλαμβάνουν δύο τύπους γενετικού κώδικα

1) αυτόν που καθορίζει το αμινοξύ 2) έναν ρυθμιστικό κώδικα που δείχνει θέσεις σύνδεσης για παράγοντες μεταγραφής (TF). Με ανάλυση του human exome σε 81 διαφορετικές κυτταρικές σειρές βρέθηκε ότι το ~15% των ανθρώπινων κωδικονίων είναι dual-use codons (“**duons**”). Αυτές οι θέσεις είναι συντηρημένες. Το 17% των μεταλλάξεων στα duons επηρεάζει και τη σύνδεση των παραγόντων μεταγραφής.



Το γονιδίωμα του Neandertal

A Draft Sequence of the Neandertal Genome

<http://www.sciencemag.org/content/328/5979/710.full.pdf>

<http://www.mpg.de/914714/Neandertal>

Οι σύγχρονοι άνθρωποι εκτός Αφρικής οφείλουν ~4% του γονιδιώματός τους στους Neandertal

Η Ιστορία είναι πολύ πολύπλοκη!!

Prufer et al 2014, Meyer et al 2014, Huerta-Sanchez et al. 2014

Richard E. Green *et al.* *Science* 328, 710 (2010)

<http://www.mpg.de/914714/Neandertal>



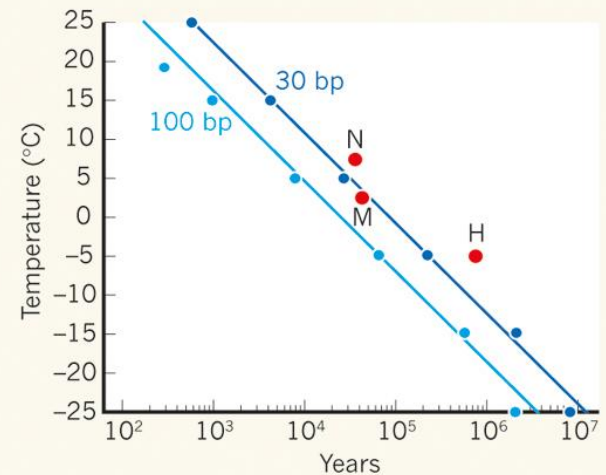
Δημοσιεύσεις αλληλούχισης ακόμα και πανάρχαιων γονιδιωμάτων

Recalibrating *Equus* evolution using the genome sequence of an early Middle Pleistocene horse

Nature 499, 34–35 (04 July 2013)

Οι ερευνητές κατάφεραν να μελετήσουν το γονιδίωμα από οστό αλόγου ηλικίας 560-780 χιλιάδων χρόνων!!!

Στην **Εικόνα 9** φαίνεται ότι ο ρυθμός αποσύνθεσης του DNA (τμημάτων 30 ή 100 βάσεων) εξαρτάται από τη θερμοκρασία διατήρησης του ιστού. Αναφορά γίνεται στα γονιδιώματα Νεατερντάλ (N), μαμούθ (M) και αλόγου (H)



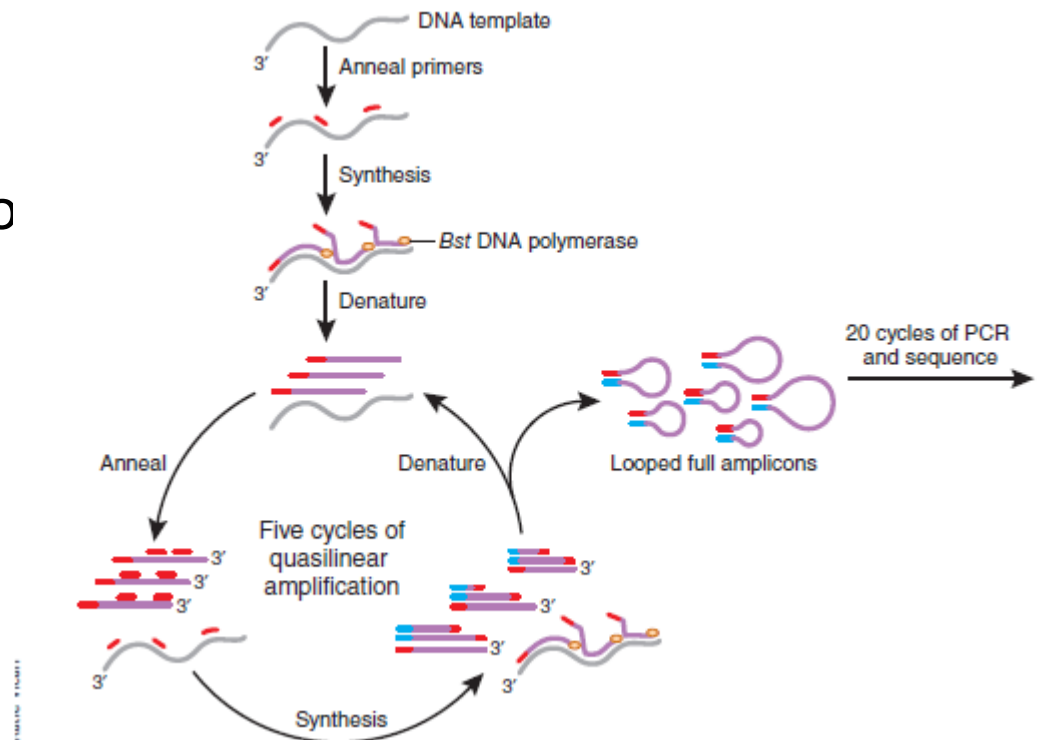
Το γονιδίωμα ενός κυττάρου

Single-cell sequencing in its prime

Lasken R.S., 2013, Nature Biotechnology 31, 211–212

Οι νέες τεχνολογίες έχουν επιτρέψει την αλληλούχιση του γονιδιώματος ενός μόνο κυττάρου

Στην **Εικόνα 10** φαίνεται η μεθοδολογία που ακολουθείται για την αλληλούχιση από ένα μόνο κύτταρο



Εφαρμογές με οικονομικό και ιατρικό ενδιαφέρον

5/7/2013 : Αλληλούχηση του γονιδιώματος
100.000 Βρετανών... μέχρι το 2017

Υπουργείο υγείας NHS – Welcome Trust - Illumina
<http://www.genomicsengland.co.uk/>

<https://www.youtube.com/watch?v=KiQgrK3tge8#t=26>



Εφαρμογές με οικονομικό και ιατρικό ενδιαφέρον

Αλληλούχηση 50 διαφορετικών τύπων καρκίνων

- **ICGC Goal:** Στόχος η πλήρης περιγραφή των γονιδιωματικών, μεταγραφικών και επιγονιδιωματικών αλλαγών σε 50 διαφορετικούς τύπους και υποτύπους καρκίνου με παγκόσμιο κοινωνικό και κλινικό ενδιαφέρον

<https://icgc.org/>



Μεταγονιδιωματικό Πρόγραμμα ανάλυσης ανθρώπινου μικροβιώματος

- HMP (**Human Microbiome Project**): Μια προσπάθεια που διήρκησε 5 χρόνια, χρησιμοποιώντας τη μεταγονιδιωματική
- Σκοπός: Ο ολοκληρωμένος χαρακτηρισμός της ανθρώπινης μικροχλωρίδας και η ανάλυση του ρόλου της στην ανθρώπινη υγεία και τις ασθένειες
- Επέτρεψε την ανάλυση του γενετικού υλικού που συλλέχθηκε απευθείας από μικροβιακές κοινότητες χωρίς να απαιτείται καλλιέργεια των μικροοργανισμών
- Από τα αποτελέσματά του προέκυψε μια συσχέτιση μεταξύ αλλαγών στη μικροβιακή σύνθεση κοινοτήτων στο ανθρώπινο σώμα και στην υγεία



Μεταγονιδιωματικό Πρόγραμμα ανάλυσης ανθρώπινου μικροβιώματος

Εργασίες που μελετούν το ανθρώπινο μικροβίωμα:

- ✓ **A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing** Nature, 464, 59-65 (4 March 2010), doi:10.1038/nature08821
 - 576,7 Gb αλληλουχίας, από δείγματα κοπράνων 124 Ευρωπαίων
 - Σετ γονιδίων 150X του ανθρώπινου
 - Συμπεριλαμβάνει ~1.000 – 1.150 βασικά είδη βακτηρίων
 - Καθένας έχει ~160 είδη, πολλά κοινά

<http://www.nature.com/nature/journal/v464/n7285/pdf/nature08821.pdf>

- ✓ **Chimpanzees and humans harbour compositionally similar gut enterotypes**

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3520023/pdf/nihms425633.pdf>

- ✓ **Genomic variation landscape of the human gut microbiome**

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3536929/pdf/nihms-417625.pdf>



Γονιδιωματικές υπηρεσίες

➤ The GenoGraphic Project

Δώσε 200 δολάρια κ μάθε την καταγωγή σου βάσει 150.000 δεικτών
<https://genographic.nationalgeographic.com/>

➤ GenePartner

250 δολάρια για έλεγχο σε HLA γονίδια για να βρεις το σωστό σύντροφο σου <http://www.genepartner.com/>

➤ 23andMe

Απαγορεύτηκε να δίνει πληροφορίες σχετικά με την πιθανή εμφάνιση κληρονομικών ασθενειών
<https://www.23andme.com/>



Η εποχή των - omics

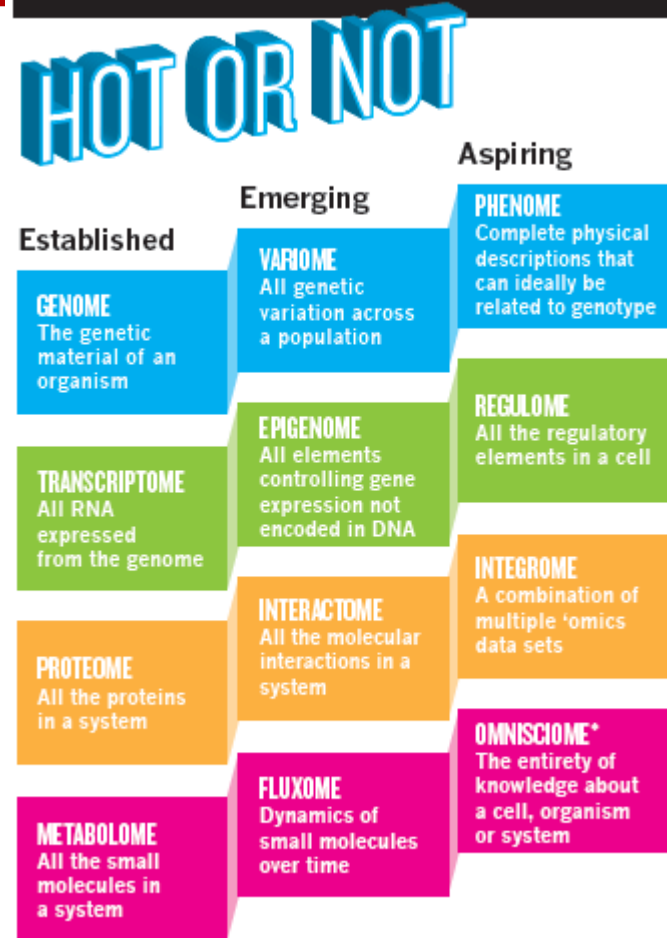
Phenome – πλήρης περιγραφή του φαινότυπου (χρήση νοκ-αουτ γονιδίων) ή πώς να μιλήσουμε με την ίδια γλώσσα

Interactome – Ο βασιλιάς των omics – η μοριακή αλληλεπίδραση όλων

Intergrome – η τοποθέτηση των δεδομένων σε βάσεις εύκολα κατανοητές

Incidentalome – τα γενετικά δεδομένα που ανακαλύπτονται «κατά λάθος» π.χ. 99 κοινές γενετικές παραλλαγές σχετιζόμενες με ασθένειες

Toxome – πώς αντιδρά ο οργανισμός σε τοξικές ενώσεις



*Nature's proposed addition to the scientific nomenclature.

Εικόνα 11: Nature 494, 2013, 416-419

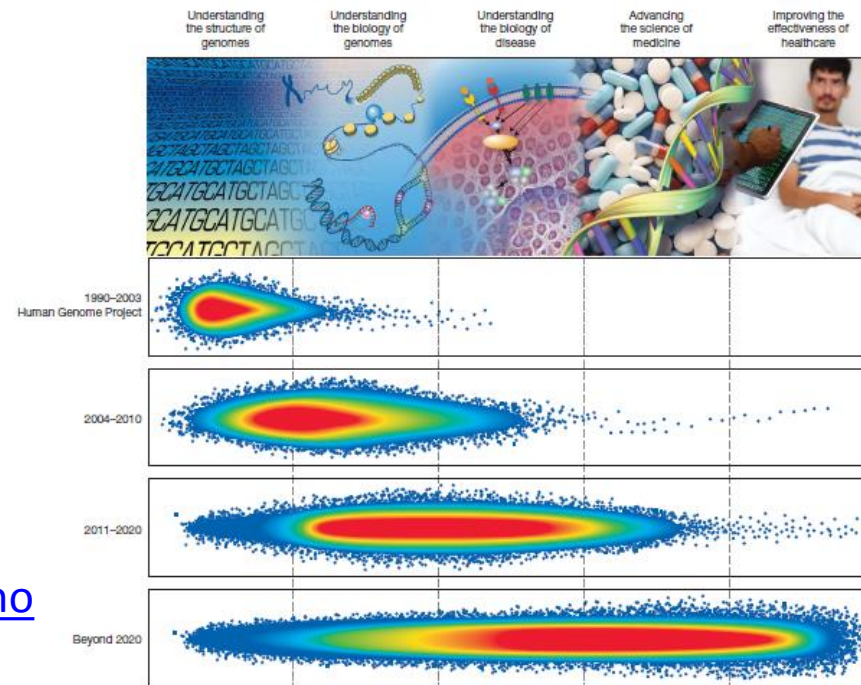


Το μέλλον?

Ακόμα και το υπουργείο Υγείας των ΗΠΑ παραδέχεται ότι θα πρέπει να περιμένουμε μέχρι το 2020, ώστε να μπορέσουμε να έχουμε πραγματική βελτίωση στις παρεχόμενες υπηρεσίες υγείας και στην προστασία από ασθένειες με βάση τα αποτελέσματα της γονιδιωματικής.

<http://www.nature.com/news/specials/humangenome/index.html>

Εικόνα 12



5/9/2013 - genome sequencing and newborn screening disorders

<http://www.genome.gov/27554886>

<http://www.nature.com/news/fast-genetic-sequencing-saves-newborn-lives-1.16027>

<http://www.technologyreview.com/featuredstory/513691/prenatal-dna-sequencing>



Σημείωμα χρήσης έργων τρίτων

Peas in pods, http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Peas_in_pods_-_Studio.jpg by Bill Ebbesen, CC-BY-SA-3.0 (creativecommons.org/licenses/by-sa/3.0/gr/), μέσω wikimedia commons

James Watson & Francis Crick, <http://www.flickr.com/photos/mamk/2377531211/sizes/l/>, by mark_am_kramer, CC-BY-NC-SA-2.0, (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.0/>)

DNA microarray, <http://www.flickr.com/photos/ajc1/2034113679/sizes/o/>, by AJC1, CC-BY-NC-2.0 (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/2.0/>)

Escherichia coli, http://commons.wikimedia.org/wiki/File:E_choli_Gram.JPG, by Bobjgalindo, CC-BY-SA-3.0 (<http://creativecommons.org/licenses/by-sa/3.0/deed.en>)

S. cerevisiae under DIC microscopy,

http://commons.wikimedia.org/wiki/File:S_cerevisiae_under_DIC_microscopy.jpg, by Masur

C. elegans, http://commons.wikimedia.org/wiki/File:C_elegans_stained.jpg, by Public Library of Science journal, CC-BY-2.5 (<http://creativecommons.org/licenses/by/2.5/deed.en>)

D. melanogaster, [http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Drosophila_melanogaster_-_side_\(aka\).jpg](http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Drosophila_melanogaster_-_side_(aka).jpg), by André Karwath, CC-BY-SA-2.5 (<http://creativecommons.org/licenses/by-sa/2.5/deed.en>)

A. thaliana, http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Arabidopsis_thaliana_inflorescencias.jpg, CC-BY-SA-3.0 (<http://creativecommons.org/licenses/by-sa/3.0/deed.en>)

M. musculus, http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Kletterk%C3%BCnstler_Hausmaus.JPG, by 4028mdk09, CC-BY-SA-3.0 (<http://creativecommons.org/licenses/by-sa/3.0/deed.en>)



Σημείωμα Αναφοράς

Copyright Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Τριανταφυλλίδης
Αλέξανδρος. «Ειδικά Θέματα Γενετικής. Εισαγωγή στη Γονιδιωματική».
Έκδοση: 1.0. Θεσσαλονίκη 2015. Διαθέσιμο από τη δικτυακή διεύθυνση:
http://opencourses.auth.gr/eclass_courses.



Σημείωμα Αδειοδότησης

Το παρόν υλικό διατίθεται με τους όρους της άδειας χρήσης Creative Commons Αναφορά - Παρόμοια Διανομή [1] ή μεταγενέστερη, Διεθνής Έκδοση. Εξαιρούνται τα αυτοτελή έργα τρίτων π.χ. φωτογραφίες, διαγράμματα κ.λ.π., τα οποία εμπεριέχονται σε αυτό και τα οποία αναφέρονται μαζί με τους όρους χρήσης τους στο «Σημείωμα Χρήσης Έργων Τρίτων».



Ο δικαιούχος μπορεί να παρέχει στον αδειοδόχο ξεχωριστή άδεια να χρησιμοποιεί το έργο για εμπορική χρήση, εφόσον αυτό του ζητηθεί.

[1] <http://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>





Τέλος ενότητας

Επεξεργασία: Μηνούδη Στυλιανή
Θεσσαλονίκη, Χειμερινό εξάμηνο 2014-2015



Ευρωπαϊκή Ένωση
Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο



ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ & ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ, ΠΟΛΙΤΙΣΜΟΥ & ΑΘΛΗΤΙΣΜΟΥ
ΕΙΔΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ

Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης



ΕΣΠΑ
2007-2013
πρόγραμμα για την ανάπτυξη
ΕΥΡΩΠΑΪΚΟ ΚΟΙΝΩΝΙΚΟ ΤΑΜΕΙΟ



Διατήρηση Σημειωμάτων

Οποιαδήποτε αναπαραγωγή ή διασκευή του υλικού θα πρέπει να συμπεριλαμβάνει:

- το Σημείωμα Αναφοράς
- το Σημείωμα Αδειοδότησης
- τη δήλωση Διατήρησης Σημειωμάτων
- το Σημείωμα χρήσης έργων τρίτων

μαζί με τους συνοδευόμενους υπερσυνδέσμους.

