



HMY 370

Εισαγωγή στη Βιοϊατρική Μηχανική

Υπολογιστική Βιολογία και Βιοπληροφορική



- **Οι όροι υπολογιστική βιολογία και βιοπληροφορική συχνά χρησιμοποιούνται εναλλακτικά ... ωστόσο**

- Υπολογιστική βιολογία → ανάπτυξη αλγορίθμων, μαθηματικών μοντέλων, και μεθόδων για τη μελέτη βιολογικών συστημάτων
- Βιοπληροφορική → ανάπτυξη εργαλείων λογισμικού ανάλυσης βάσεων δεδομένων (ανακάλυψη νέας γνώσης) και μεθόδων απεικόνισης και οπτικοποίησης.
- Κανένας ορισμός δεν θα μπορούσε να εξαλείψει εντελώς την επικάλυψη με άλλες δραστηριότητες ή να αποκλείσει διαφορετικές ερμηνείες από διαφορετικά άτομα και οργανισμούς.

Ορισμοί του National Institutes of Health (NIH), USA

- **Υπολογιστική Βιολογία (Computational Biology):**

- Η ανάπτυξη και εφαρμογή ανάλυσης δεδομένων, θεωρητικών μεθόδων, μαθηματικών μοντέλων και υπολογιστικών μεθόδων προσομοίωσης για τη μελέτη συστημάτων βιολογίας, συμπεριφοράς και κοινωνιολογίας.

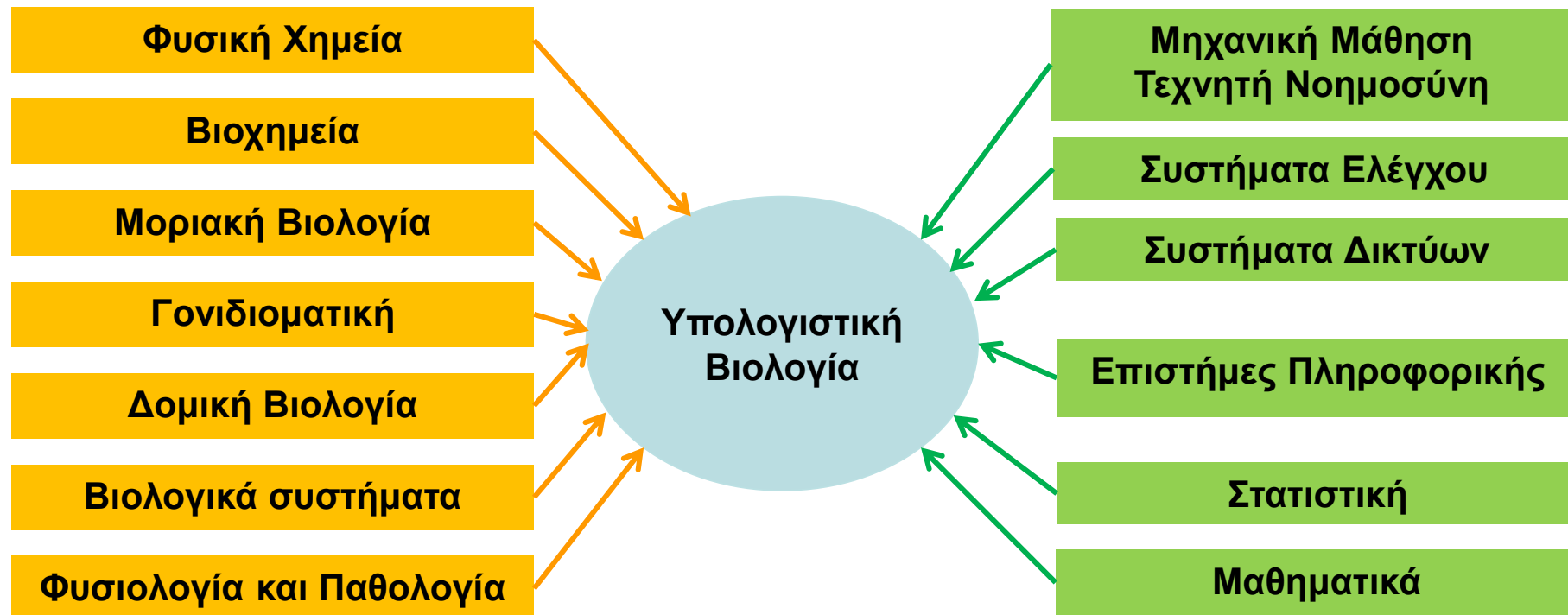
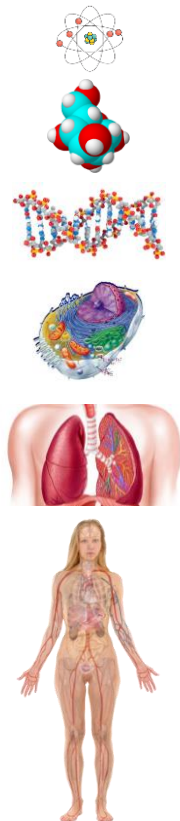
- **Βιοπληροφορική (Bioinformatics):**

- Έρευνα, ανάπτυξη, ή εφαρμογή υπολογιστικών εργαλείων και προσεγγίσεων για την επέκταση της χρήσης δεδομένων βιολογίας, ιατρικής, συμπεριφοράς ή υγείας, συμπεριλαμβανομένων εκείνων για την απόκτηση, αποθήκευση, οργάνωση, αρχειοθέτηση, ανάλυση, ή οπτικοποίηση αυτών των δεδομένων.



- **Τι είναι η Υπολογιστική Βιολογία;**

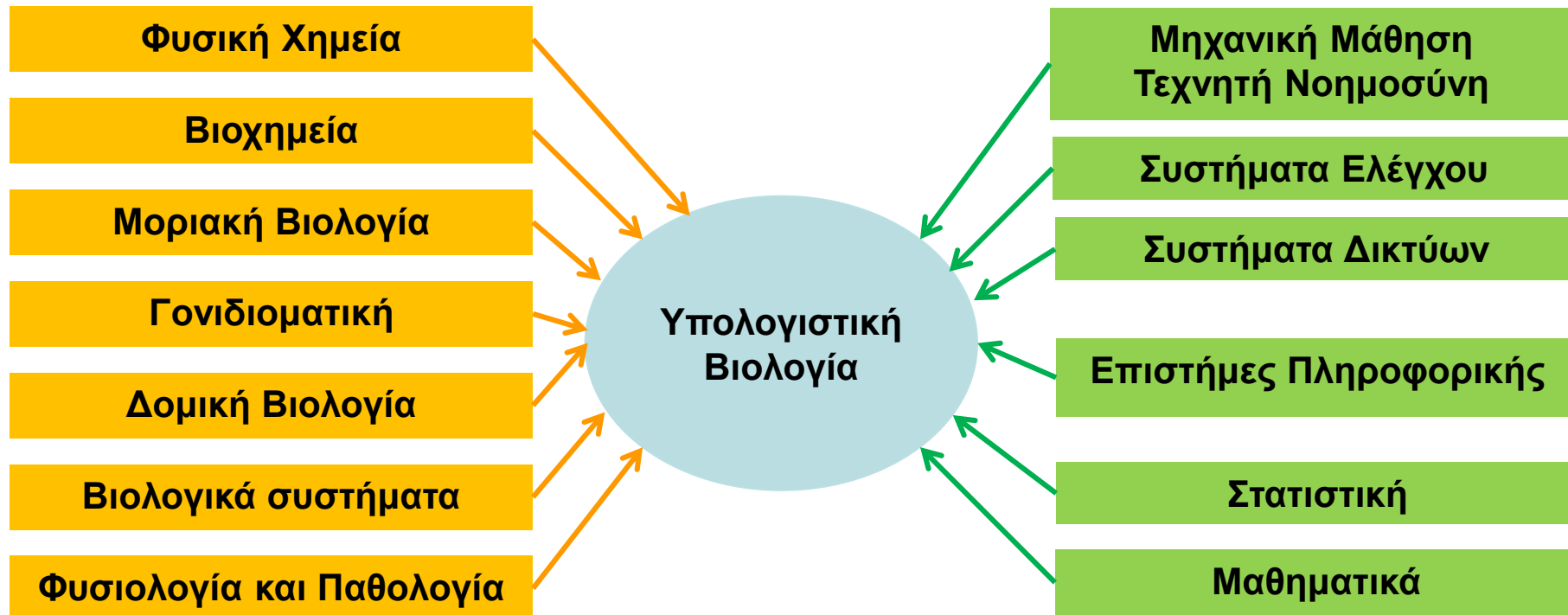
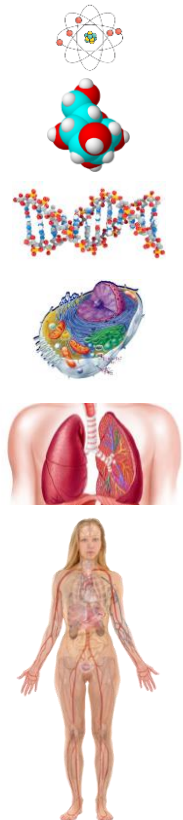
- Χρήση υπολογιστικών τεχνικών για τη μοντελοποίηση βιολογικών συστημάτων
- Διάφορα επίπεδα πολυπλοκότητας
 - Ατομικό, μεταβολικό, κυτταρικό ή/και παθολογικό επίπεδο.





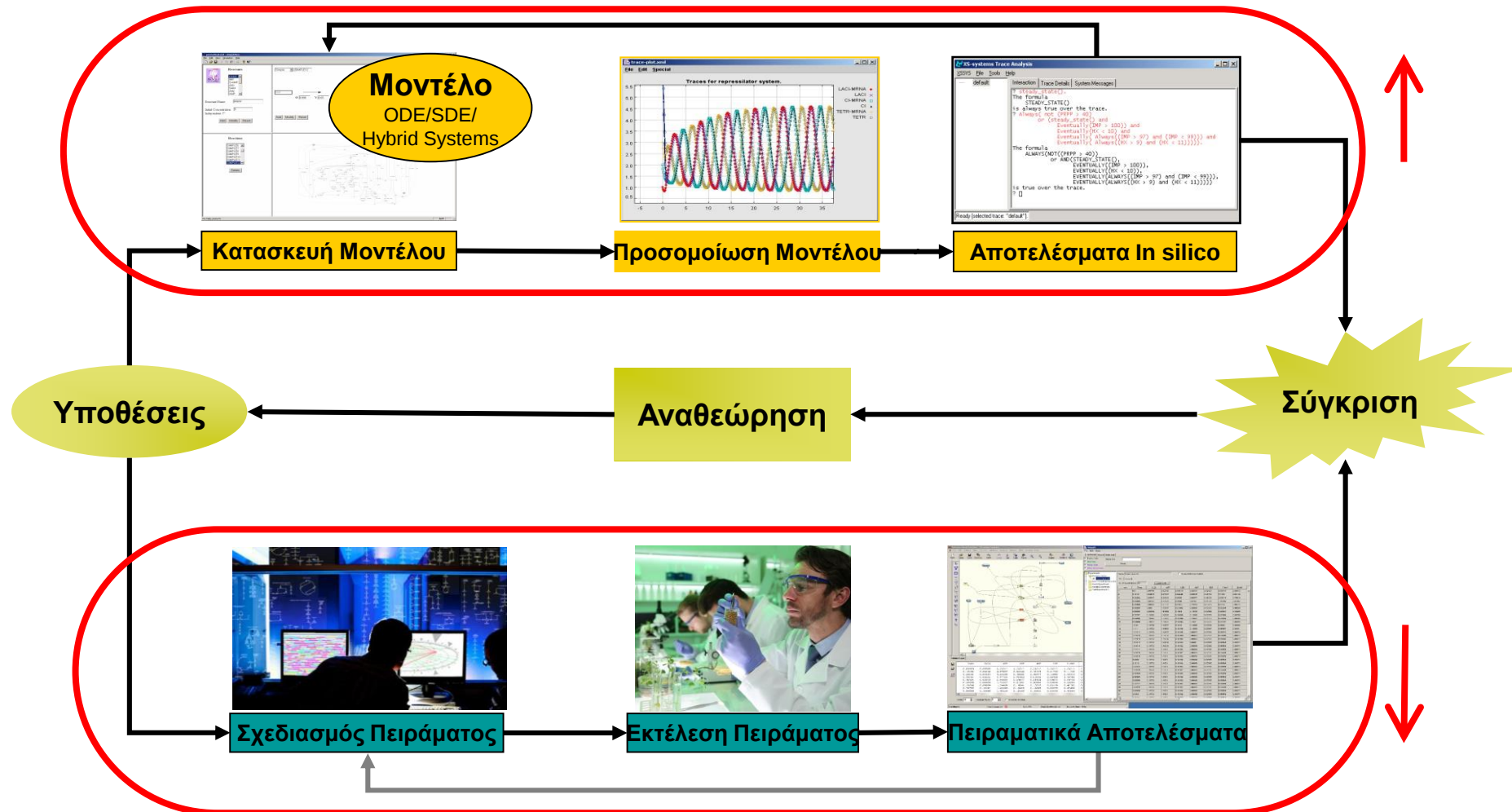
- Δημιουργεί ισχυρά εργαλεία **προσομοίωσης, ανάλυσης και διάκρισης**

- Κατανόηση της λειτουργίας
 - Γονιδιωμάτων, πρωτεϊνών, κυττάρων, οργάνων και οργανισμών
- Αποκρυπτογράφηση των υφιστάμενων διαδικασιών
- Επινόηση νέων πειραμάτων





- *In Silico* Βιολογία / *In Silico* Ιατρική





- **Η βιολογία στο (όχι και τόσο μακρινό) παρελθόν**
 - Απομονωμένη (μεμονωμένα εργαστήρια / μεμονωμένοι ερευνητές)
 - Βασικό επίπεδο (μία μεταβλητή κάθε φορά, πολλά πειράματα, επίπονη και επαναλαμβανόμενη εργασία)
 - Αργή συσσώρευση της γνώσης
- **Βιολογία σήμερα**
 - Παγκόσμια
 - Ψηλό επίπεδο (οργανισμικό / θεωρητικό)
 - Ταχεία συσσώρευση της γνώσης - Ταχεία δημιουργία καινούργιων αναπάντητων ερωτήσεων
- **Υπολογιστές – όχι μόνο για ανάλυση**
 - Παρελθόν: Βιολόγοι παρήγαγαν δεδομένα και υπολογιστές έκαναν την ανάλυση
 - Μέλλον: Υπολογιστές θα καθορίζουν τα πειράματα και βιολόγοι τα εκτελούν





Functional genomic hypothesis generation and experimentation by a robot scientist

Ross D. King¹, Kenneth E. Whelan¹, Ffion M. Jones¹, Philip G. K. Reiser¹, Christopher H. Bryant², Stephen H. Muggleton³, Douglas B. Kell⁴ & Stephen G. Oliver⁵

¹Department of Computer Science, University of Wales, Aberystwyth SY23 3DB, UK

²School of Computing, The Robert Gordon University, Aberdeen AB10 1FR, UK

³Department of Computing, Imperial College, London SW7 2AZ, UK

⁴Department of Chemistry, UMIST, P.O. Box 88, Manchester M60 1QD, UK

⁵School of Biological Sciences, University of Manchester, 2.205 Stopford Building, Manchester M13 9PT, UK

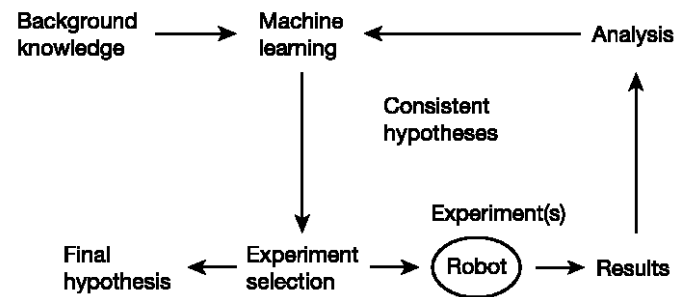


Figure 1 The Robot Scientist hypothesis-generation and experimentation loop.

Το κόστος κλινικής δοκιμής κάθε φαρμάκου είναι περίπου \$ 2,6 δισ και μόνο το 10% αυτών των φαρμάκων κυκλοφορούν με επιτυχία στην αγορά.

Το ρομπότ Εύα, ανακάλυψε ότι η τρικλοζάνη, ένα κοινό συστατικό στην οδοντόκρεμα, μπορεί να καταπολεμήσει τα παράσιτα που προκαλούν ελονοσία.





Το μέλλον της βιολογίας

- **Η βιολογία του μέλλοντος θα πρέπει να περιλαμβάνει μόνο ένα βιολόγο και τον σκύλο του:**
 - Ο βιολόγος για να παρακολουθεί τα βιολογικά πειράματα και να κατανοεί τις υποθέσεις που οι αλγόριθμοι ανάλυσης δεδομένων παράγουν
 - Ο σκύλος για να τον δαγκώσει αν αγγίξει ποτέ τα πειράματα ή τους υπολογιστές.

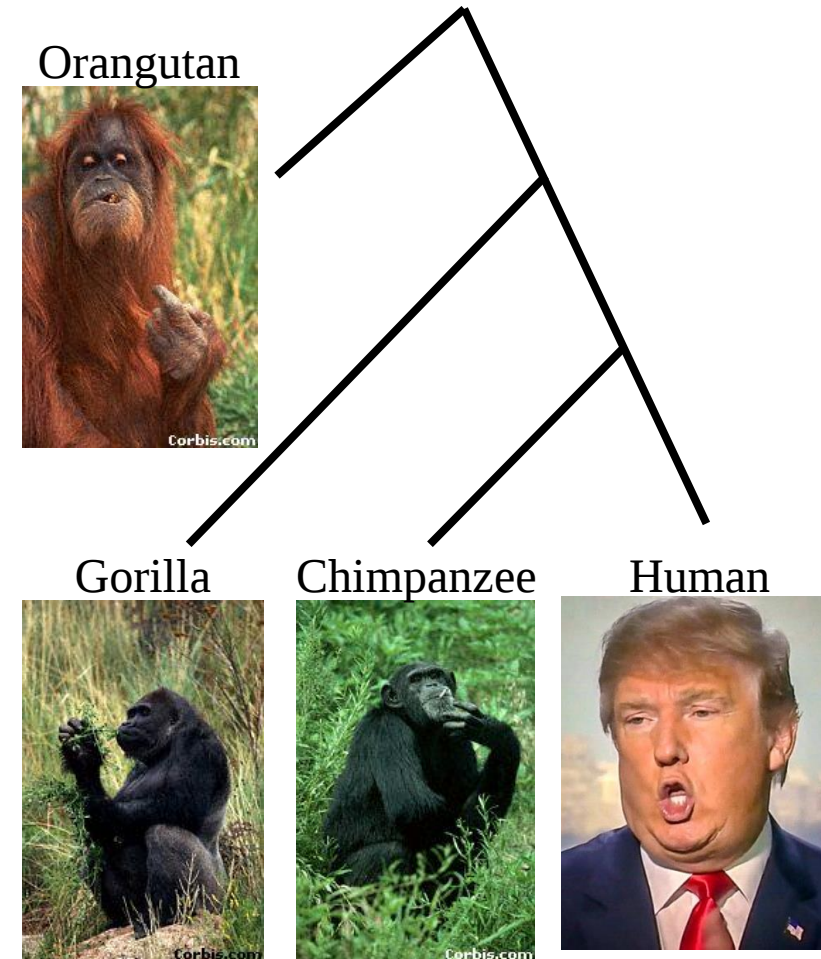




Παράδειγμα εφαρμογής: Εξέλιξη & Φιλογένεια (Phylogeny)

• Φιλογένεια

- Αναπαράσταση σε μορφή δέντρου της εξελικτικής ιστορίας των ειδών που μας ενδιαφέρουν
- Κάθε κλαδί του δέντρου = ένα είδος
- Κάθε εσωτερικός κόμβος = συμβάν ειδογένεσης στο παρελθόν
- Κατά την ανακατασκευή του φυλογενετικού δέντρου
 - Συγκρίνουμε τα χαρακτηριστικά των ομάδων



From the Tree of the Life Website, University of Arizona



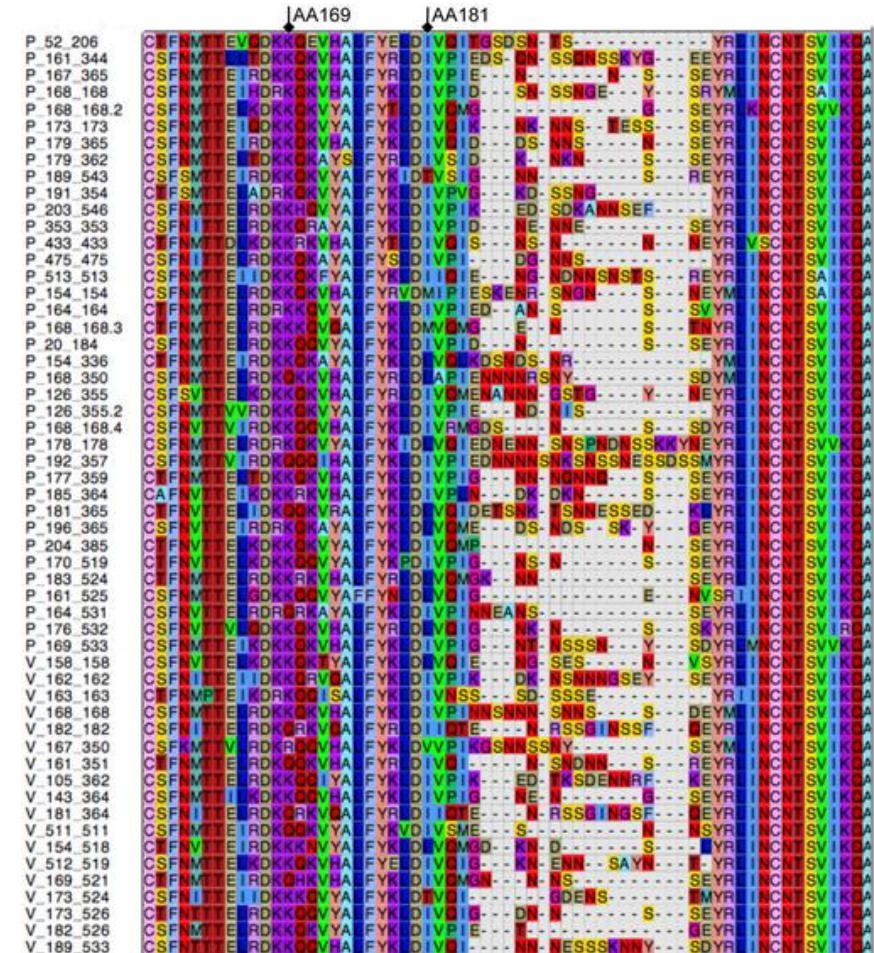
Παράδειγμα εφαρμογής: Εξέλιξη & Φιλογένεια (Phylogeny)

• Δεδομένα (Στο παρελθόν)

- Φυσιολογικά, ανατομικά και μορφολογικά χαρακτηριστικά

• Δεδομένα (Τώρα)

- Βιομοριακές αλληλουχίες: DNA, RNA, αμινοξέα
- Μοριακοί δείκτες (διάφορα μόρια)
- Μορφολογία
- Η σειρά των γονιδίων και το περιεχόμενό τους
- Καθένα από αυτά τα δεδομένα είναι ένα στοιχείο (γράμμα)
- Κάθε γράμμα είναι μια λειτουργία που κατατάσσει την ομάδα σε διαφορετική κατάσταση (state)
- Η εξέλιξη μοντελοποιείται ως μια διαδικασία που αλλάζει την κατάσταση

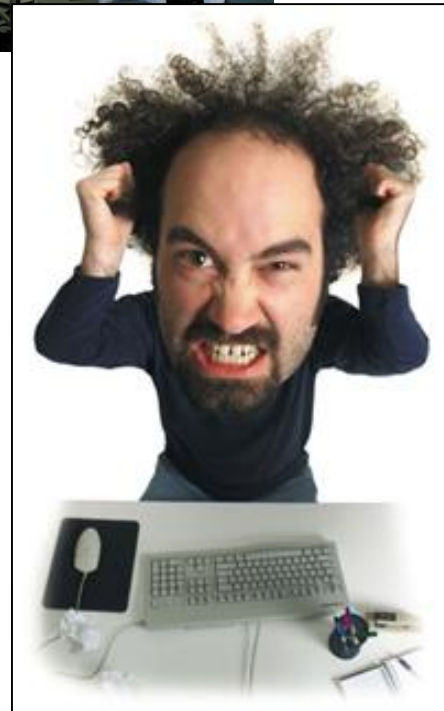




Παράδειγμα εφαρμογής: Εξέλιξη & Φιλογένεια (Phylogeny)

• Φυλογενετική ανάλυση

- Βήμα 1:
 - Συγκέντρωση δεδομένων αλληλουχίας και εκτίμηση της πολλαπλής ευθυγράμμισης των αλληλουχιών.
- Βήμα 2:
 - Ανακατασκευή δέντρων από τα δεδομένα. (Αυτό μπορεί να οδηγήσει σε πολλά δέντρα.)
- Βήμα 3:
 - Εφαρμογή μεθόδων συναίνεσης στο σύνολο των δέντρων για να βρεθεί το πιο αξιόπιστο.

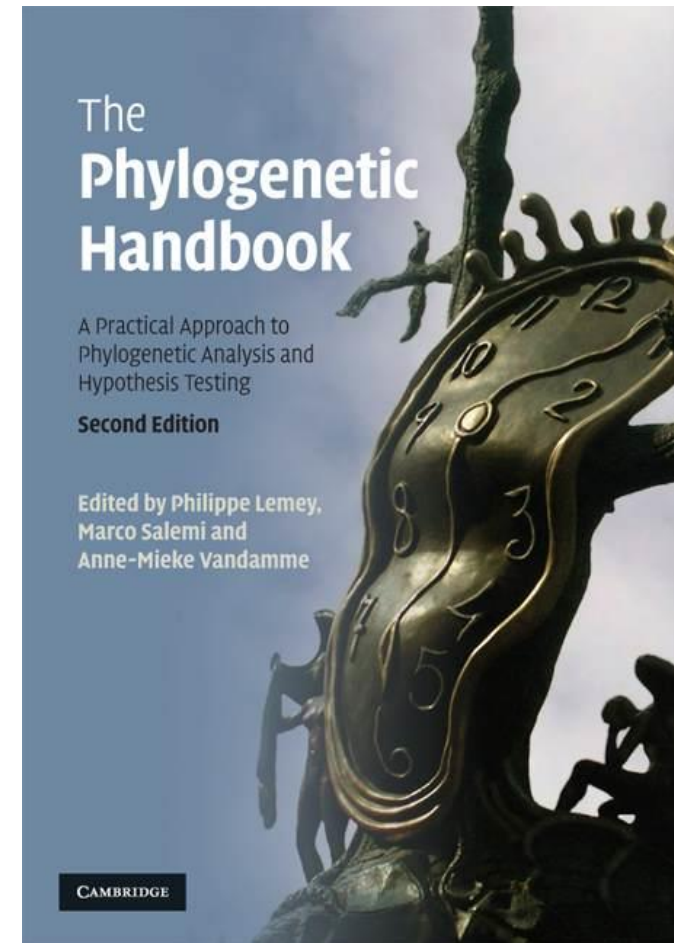




Παράδειγμα εφαρμογής: Εξέλιξη & Φιλογένεια (Phylogeny)

• Σημαντικές προκλήσεις

- Κύρια πρόκληση:
 - Να καταστεί δυνατή η λήψη καλών λύσεων σε λογικό χρόνο για μεγάλα σύνολα δεδομένων
- Επίσπευση αναζήτησης μέσα στα δέντρα
- Ενσωμάτωση νέων δεδομένων (π.χ., σειρά γονιδίων και το περιεχόμενό τους)
- Αξιολόγηση νέων μεθοδολογιών
 - Μοντέλα που δεν είναι δέντρα
 - Μέθοδοι που εφαρμόζονται σε τμήματα δέντρων





- **Κεντρικό Δόγμα Βιοπληροφορικής**

- Η γενετική πληροφορία καθορίζει τη δομή και λειτουργία

**Γενετική
Πληροφορία**



**Μοριακή
Δομή**

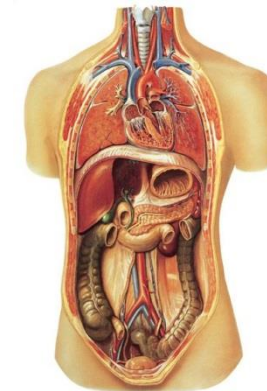
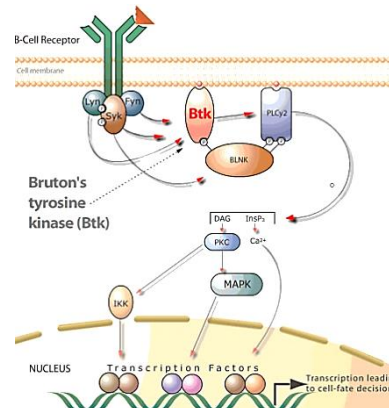


**Βιοχημική
Λειτουργία**



**Συμπτώματα
(Φαινότυπος)**

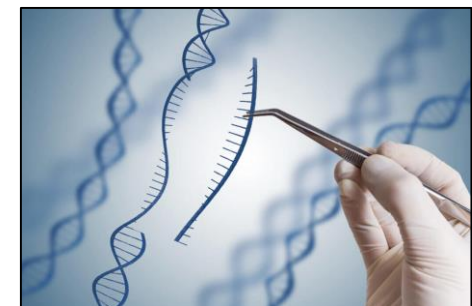
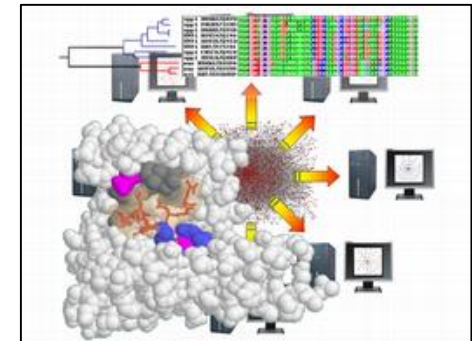
TTGGAACATTCATG
ATTTATGGGATAGAGC
TTTAGATCAAATTGAA
AAAAAATTAAGCAAAC
CTAGTTTTGAAACCTG
GCTCAAATCGACAAA
GCTCATGCTTTACAAG
GAGACACGCTCATTAT
TACTGCACCTAATGAT
TTTGCACGGGACTGGT
TAGAATCTAGGTATTC
TAATTTAATTGCTGAA
ACACTTTATGATCTTA
CGGGGAAGAGTTAGA
TGTAATAATTATTATT





• Υπολογιστικοί Στόχοι της Βιοπληροφορικής

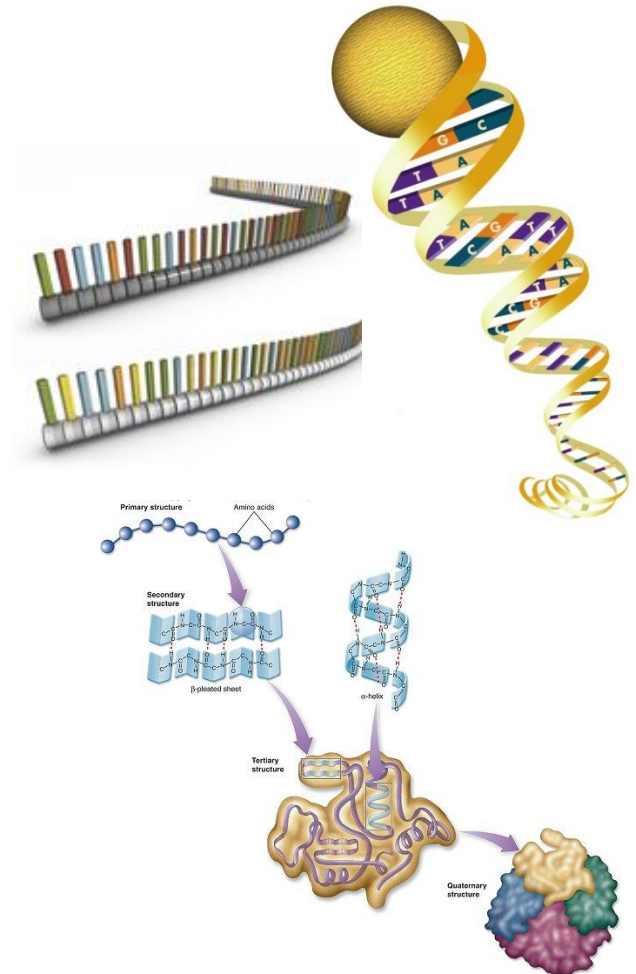
- Μάθηση & Γενίκευση:
 - Ανακάλυψη από καλά μελετημένα παραδείγματα και δημιουργία μοντέλων
- Πρόβλεψη:
 - Εξαγωγή της λειτουργίας νέων αλληλουχιών από τις πιο πάνω γενικεύσεις.
- Οργάνωση & Ενσωμάτωση:
 - Ανάπτυξη μιας οργανωτικής προσέγγισης ως τη λειτουργία και τις αλληλεπιδράσεις → δίκτυα
- Εξομοίωση:
 - Μοντέλα έκφρασης και αλληλεπίδρασης, λειτουργίας, μεταβολισμού ...
- Γενετική Μηχανική:
 - Κατασκευή νέων οργανισμών ή νέων λειτουργιών ή νέας ρύθμισης γονιδίων και πρωτεϊνών.
- Θεραπεία:
 - Γονιδιακή θεραπεία: στόχευση συγκεκριμένων γονιδίων ή μεταλλάξεων για να αλλάξει ο φαινότυπος της νόσου.





- Έκρηξη των “-ωμα” & “-ωματική!”

- Γονιδίωμα (genome)
 - Η πλήρης αλληλουχία του DNA (γονίδια και “μη γονίδια”) ενός οργανισμού
- Μεταγράψωμα (transcriptome)
 - Η πλήρης αλληλουχία των RNA (mRNA και άλλων) που εκφράζονται σε έναν οργανισμό
- Πρωτέωμα (proteome)
 - Η πλήρης αλληλουχία των πρωτεϊνών που εκφράζονται σε έναν οργανισμό
- Σημείωση:
 - Το σύνολο των RNA ή πρωτεϊνών που εκφράζονται ποικίλλει σημαντικά σε διαφορετικά κύτταρα και ιστούς και εξαρτάται επίσης από την ηλικία, το αναπτυξιακό στάδιο, την κατάσταση της νόσου, κλπ. του οργανισμού

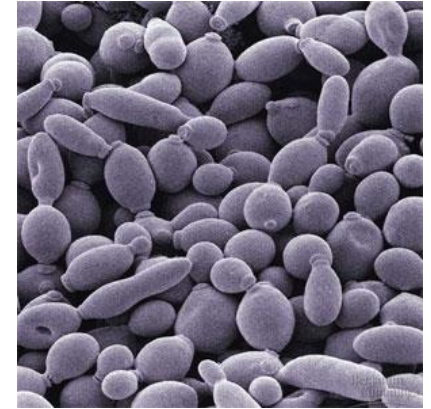


Γονιδιωματική (Genomics)



- **Γονιδίωμα (Genome)**

- Η πλήρης αλληλουχία του DNA (γονίδια και “μη γονίδια”) ενός οργανισμού
- ~ 1000 ζεύγη βάσεων (base pairs – bp) σε ένα μικρό γονίδιο
- ~ 3×10^9 bp σε ένα γονιδίωμα (ανθρώπινο)
- Το σύνολο γενετικών οδηγιών που καθορίζουν ένα οργανισμό (δομικά, λειτουργικά, κλπ.)



- **Γονιδιωματική (Genomics)**

- Ανάλυση και κατανόηση ολόκληρου του γονιδιώματος ενός είδους

- **Αρχικά**

- Η γονιδιωματική ήταν περισσότερο καταγραφή αλληλουχιών
- Η αλληλουχία του ανθρώπινου γονιδιώματος δημοσιεύτηκε = 3 Gb
- Γιατί χαίρεται και χαμογελάει ο κόσμος πατέρα;!



Γονιδιωματική (Genomics)



- Η αλληλούχιση του DNA είναι φθηνή, και τείνει να γίνει ευκολότερη και φθηνότερη πολύ γρήγορα.

- Πρόγραμμα Ανθρώπινου Γονιδιώματος
 - Κόστισε περίπου 3 δισεκατομμύρια δολάρια
 - Διήρκεσε 12 χρόνια (1991-2003).
- Αλληλούχιση του γονιδιώματος του James Watson (2007)
 - Κόστισε 2 εκατομμύρια δολάρια
 - Πήρε 2 μήνες
- Το βραβείο Άρχον Χ:
 - Κερδίζετε \$ 10 εκατομμύρια δολάρια, αν μπορείτε να αποκωδικοποιήσετε 100 ανθρώπινα γονιδιώματα σε 10 ημέρες, με κόστος \$ 10.000 ανά γονιδίωμα → **Ακυρώθηκε!**
- Ιανουάριος 2014
 - Η εταιρία Illumina ανακοίνωσε την πώληση της συσκευής HiSeq X Ten Sequencer → Αλληλουχεί το DNA με **\$1,000** και 30x κάλυψη σε ~ 4.5 hrs
- Είναι ρεαλιστικό το κόστος να κατέλθει στα \$100 ανά γονιδίωμα μέσα στα επόμενα χρόνια:
 - Ο καθένας θα μπορεί να έχει το γονιδίωμα του
 - Αν το ήθελε ή το χρειαζόταν.





- **Από το DNA στο γονίδιο**

- Αλλά: Η εξαγωγή πληροφοριών είναι δύσκολη.
 - Πώς να μετατρέψεις μια σειρά από ACGT σε κατανόηση της λειτουργίας του οργανισμού;;;!!!
 - Η περισσότερη δουλειά γίνεται στον υπολογιστή με πειράματα “κλειδιά” για επιβεβαίωση να γίνονται στο βιολογικό εργαστήριο
- Η πιο κάτω αλληλουχία περιέχει ένα γονίδιο κρίσιμο για τη ζωή
 - Το γονίδιο που εκκινεί την αντιγραφή του DNA. Μπορείτε να το βρείτε;
- Χρησιμοποιούνται τεχνικές εξόρυξης δεδομένων (data mining)
 - Εξόρυξη δεδομένων = επιλογή, εξερεύνηση, και μοντελοποίηση μεγάλων όγκων δεδομένων για να αποκαλυφθούν άγνωστα/κρυμμένα/καινούργια μοτίβα.

```
TTGAAAACATTCATGATTTATGGGATAGAGCTTTAGATCAAATTGAAAAAAATTAAGCAAACCTAGTTTTGAAACCTG
GCTCAAATCGACAAAAGCTCATGCTTTACAAGGAGACACGCTCATTTACTGCACCTAATGATTTTGACGCGGACTGGT
TAGAATCTAGGTATTCCTAATTTAATTGCTGAAACACTTTATGATCTTACGGGGGAAGAGTTAGATGTAAAAATTTATTATT
CCTCCTAACCAGGCCGAGGAAGAATTCGATATTCAAACTCCTAAAAAGAAAGTCAATAAAGACGAAGGAGCAGAATTTCC
TCAAAGCATGCTAAATTCGAAGTATACCTTTGATACATTTGTTATCGGATCTGGAAATCGGTTTGCGCATGCAGCTTCTT
TAGCAGTAGCAGAAGCGCCGGCTAAAGCGTATAATCCGCTTTTTATTTACGGGGGAGTAGGATTAGGCAAAACACACTTA
ATGCACGCCATAGGCCACTATGTGTTAGATCATAATCCTGCCGCGAAAGTCGTGTACTTATCATCTGAAAAATTCACAAA
CGAGTTTATTAACTCTATTCGTGACAATAAAGCAGTAGAATTCGCAACAAATACCGTAATGTAGATGTTTTACTGATTG
ATGATATTCGAATTCCTTAGCAGGTAAAGAGCAGACACAAGAAGAATTTTTCCATACGTTTAATACGCTTCACGAAGAAAGC
AAGCAGATTGTCATCTCAAGTGATCGACCGCCGAAAGAAATTCCTACACTTGAAGATCGACTTCGCTCTCGCTTTGAATG
GGGCCTTATTACAGACATCACACCACGATTTGGAAACACGAATTGCTATTTTGCCTAAAAAAGCCAAAGCGGACGGCT
TAGTTATTCCAAATGAAGTTATGCTTTATATCGCCAATCAGATTGATTCAAATATTAGAGAATTAGAAGGCGCACTTATT
```

Γονιδιωματική (Genomics)



- **Τι γίνεται μετά;**

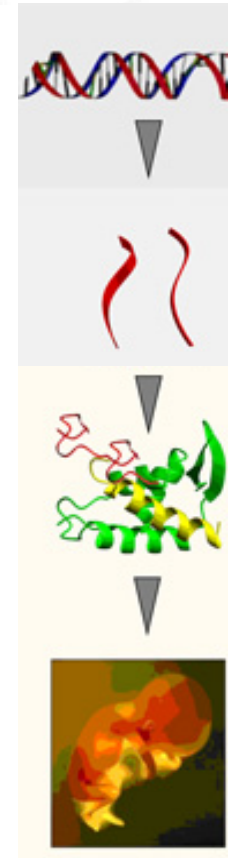
- Ακόμα και αν βρεις ένα γονίδιο ...
- Ποια είναι η λειτουργία του; Διαλογή από το χάος!

- **Γιατί είναι χρήσιμο να γνωρίζουμε τα γονίδια και τη λειτουργία τους;**

- Αν μπορούσαμε να το αποκωδικοποιήσουμε, θα ξέραμε πώς λειτουργεί η ζωή!
 - Πρόληψη και θεραπεία ασθενειών, π.χ. καρκίνος (προκαλείται από μεταλλάξεις στο DNA), κληρονομικές ασθένειες.
 - Θεραπεία λοιμωδών νόσων, από AIDS και ελονοσία μέχρι και το κοινό κρυολόγημα
 - Αν κατανοήσουμε πώς λειτουργεί ένας μικροοργανισμός, θα μπορούσαμε να μάθουμε και πώς να τον εμποδίσουμε.
 - Κατανόηση των γενετικών και εξελικτικών σχέσεων μεταξύ των ειδών

- **Η μετά-αλληλούχηση εποχή**

- Συγκριτική Γονιδιωματική
- Λειτουργική Γονιδιωματική
- Δομική Γονιδιωματική

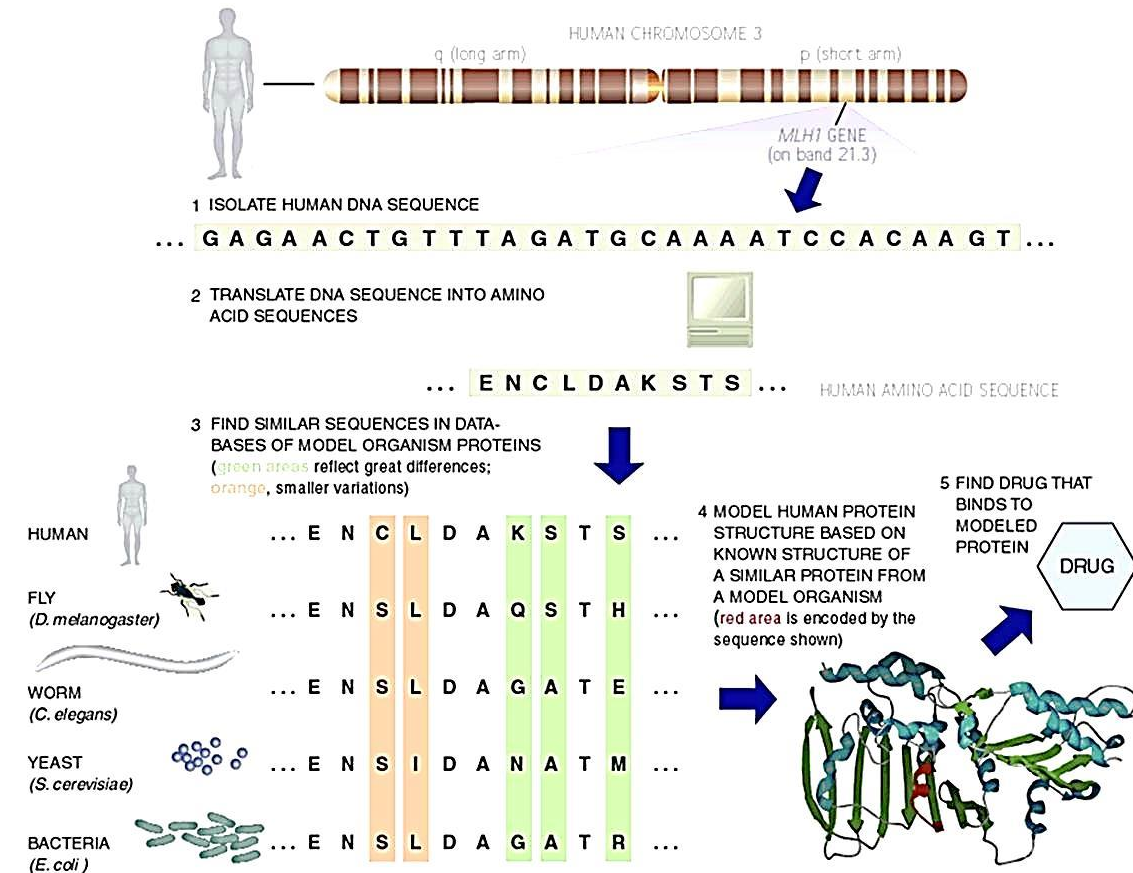


Γονιδιωματική (Genomics)



- Συγκριτική Γονιδιωματική = Εύρεση ομόλογων

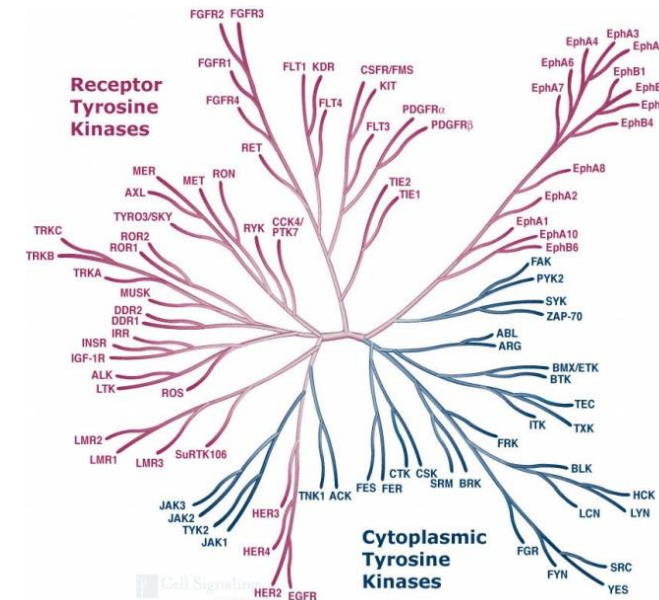
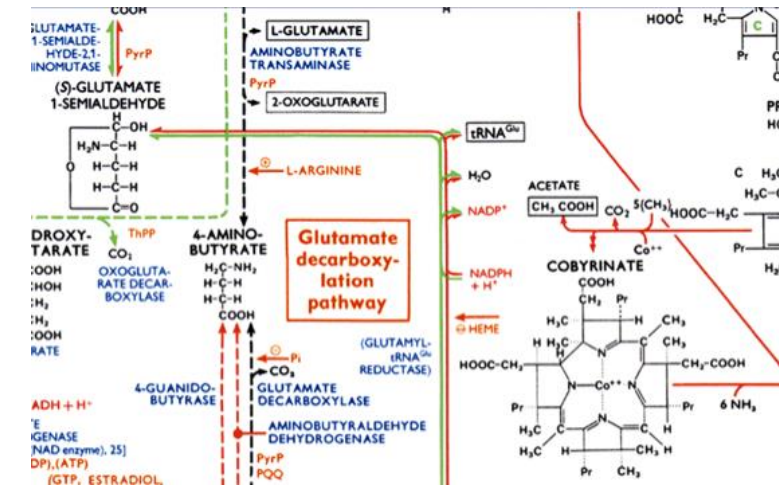
- Σύγκριση γονιδίων από διαφορετικούς οργανισμούς
 - Κάποια κοινά χαρακτηριστικά που κωδικοποιούνται στο DNA μερικές φορές διατηρούνται μέσα από την εξέλιξη
 - Ομόλογα – “ίδια γονίδια” σε διαφορετικούς οργανισμούς
- Αναζήτηση ενός γονίδιου το οποίο να είναι παρόμοιο με το ανθρώπινο
 - Κατανόηση του ρόλου του με πειράματα σε ζώα
 - Πολύ πιο εύκολα τα πειράματα σε ζύμη ή ποντίκια!



Γονιδιωματική (Genomics)



- **Λειτουργική Γονιδιωματική = Από το γονίδιο στη λειτουργία**
 - Άμεση και μεγάλης κλίμακας ανάλυση για εντοπισμό των λειτουργιών των γονιδίων και των μορίων
 - Εξετάζεται το γονοδίωμα για να αποκαλυφθούν ποια γονίδια είναι ενεργά σε κάθε περίπτωση
 - Χαρτογράφηση γενετικής αλληλεπίδραση
 - Πώς μοτίβα γονιδιακής έκφρασης καθορίζουν τον φαινότυπο;
 - Πώς οι πρωτεΐνες αλληλεπιδρούν σε βιολογικά δίκτυα;
 - Ποια γονίδια και πρωτεΐνες απαιτούνται για τη διαφοροποίηση κατά την ανάπτυξη;
 - Ποια γονίδια και τα οδοί έχουν διατηρηθεί πιο ανέπαφα μέσα από την εξέλιξη;

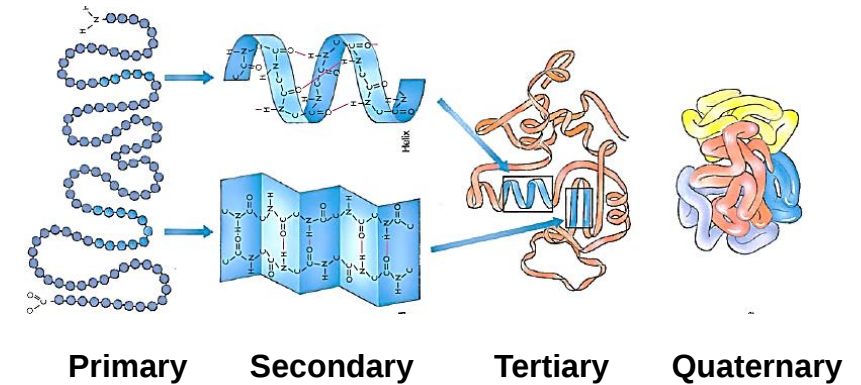


Γονιδιωματική (Genomics)

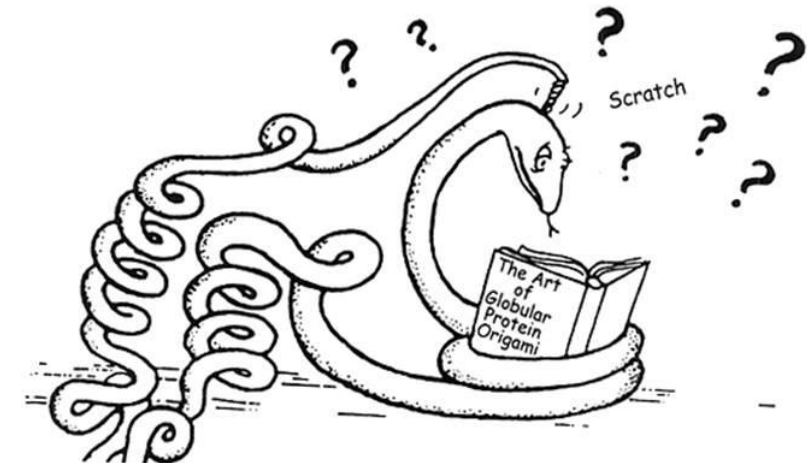


- **Δομική Γονιδιωματική = Από το γονίδιο στην πρωτεΐνη**

- Προσδιορισμός της δομής από το γονιδίωμα
- Εκτεταμένες μοντελοποιήσεις και προσομοιώσεις
 - Μακρομοριακές δομές των πρωτεϊνών
 - 3-D σχήμα και δέσμευση άλλων μορίων
 - Δεν έχουμε κατανοήσει ακόμη τους κανόνες αναδίπλωσης των πρωτεϊνών αλλά προσπαθούμε!
- Σημαντικά ερωτήματα
 - Πώς μια αλληλουχία πρωτεΐνης (ή RNA) αναδιπλώνεται σε μια τρισδιάστατη δραστική δομή;
 - Μπορούμε να προβλέψουμε τη δομή από την αλληλουχία;
 - Μπορούμε να προβλέψουμε τη λειτουργία από τη δομή (ή ίσως από την αλληλουχία και μόνο;)
- Πολλά πιθανά οφέλη
 - Σχεδιασμός καινούργιων πρωτεϊνών και φαρμάκων
 - Ψηλής απόδοσης ανάλυση σε ολόκληρο το γονιδίωμα



"Now collapse down hydrophobic core, and fold over helix 'A' to dotted line, bringing charged residues of 'A' into close proximity to ionic groups on outer surface of helix 'B' ..."





- **Μεταγράψωμα (Transcriptome)**

- Η πλήρης αλληλουχία των RNA (mRNA και άλλων) που εκφράζονται (παράγονται) σε ένα συγκεκριμένο κύτταρο ενός συγκεκριμένου οργανισμού υπό συγκεκριμένες συνθήκες

- **Γιατί είναι σημαντική η μεταγραφωματική;**

- Το DNA ενός κυττάρου (γονιδίωμα) είναι ένα προσχέδιο για τις δυνατότητες του κυττάρου, αλλά δεν αντιστοιχεί στη μορφή ή λειτουργία του κυττάρου
 - Όλα τα κύτταρα σε έναν οργανισμό περιέχουν το ίδιο DNA (όλο τον κώδικα 160,000 γονιδίων!)
 - Μόνο ελάχιστα από αυτά καθορίζουν τη δομή και λειτουργία του κάθε κυττάρου.

- **Η μεταγραφωμική στη θεραπεία ασθενειών**

- Σχεδόν όλες οι μεγάλες ασθένειες (περισσότερο από το 98% του συνόλου των εισαγωγών στα νοσοκομεία) προκαλούνται από συγκεκριμένη αλλαγή σε μια ομάδα γονιδίων.
- Η απομόνωση αυτής της ομάδας συγκρίνοντας τις εκατοντάδες χιλιάδες των γονιδίων σε κάθε γονιδίωμα δεν θα ήταν πολύ πρακτική.
- Μελέτη του μεταγραφώματος των κυττάρων που συνδέονται με την ασθένεια είναι πολύ πιο εφικτή.

Πρωτεωμική (Proteomics)



- **Πρωτέωμα (Proteome)**

- Η πλήρης αλληλουχία των πρωτεϊνών που εκφράζονται σε έναν οργανισμό
- Κώδικας με 20 αμινοξέα (γράμματα)
 - ACDEFGHIKLMNPQRSTVWY (όχι BJOUXZ)
- ~ 300 αα σε μια μέση πρωτεΐνη
- ~ 3×10^6 γνωστές αλληλουχίες πρωτεϊνών

- **Γιατί είναι σημαντική η πρωτεωμική;**

- Πολλά από τα ενδιαφέροντα χαρακτηριστικά σχετικά με την κατάσταση ενός συγκεκριμένου κυττάρου μπορούν να εξαχθούν από τον τύπο και τη δομή των πρωτεϊνών που εκφράζει.
- Αλλαγές μπορούν παρατηρηθούν στις πρωτεΐνες του.

- **Η πρωτεωμική στη θεραπεία ασθενειών**

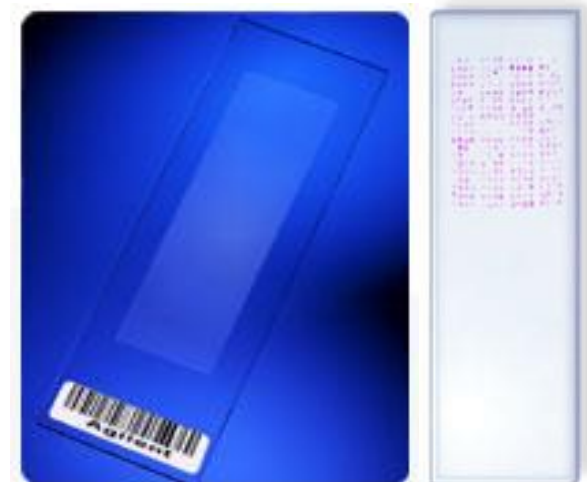
- Πολλές ανθρώπινες ασθένειες προκαλούνται από μια κανονική πρωτεΐνη που έχει τροποποιηθεί εσφαλμένα.
 - Αυτό μπορεί να ανιχνευθεί μόνο στο πρωτέωμα και όχι στο γονιδίωμα.
- Οι στόχοι όλων σχεδόν των φαρμάκων είναι πρωτεΐνες.
 - Με τον προσδιορισμό αυτών των πρωτεϊνών, η πρωτεωμική βοηθά σημαντικά στην πρόοδο της φαρμακευτικής

Μικροσυστοιχίες (Microarrays)



- **Τι είναι οι μικροσυστοιχίες;**

- Μικρές γυάλινες επιφάνειες ή επιφάνειες πυριτίου πάνω στις οποίες παρατάσσονται χιλιάδες ανιχνευτές
 - Συνήθως μεταξύ 500 έως ένα εκατομμύριο
 - Μπορούν να ελέγξουν διάφορα χαρακτηριστικά από πολλά κύτταρα ταυτόχρονα
- Οι ανιχνευτές μπορεί να είναι
 - DNA ή RNA
 - Πρωτεΐνες (Πρωτεωμική)
 - Αντισώματα
 - Ιστοί
- Πάνω στους ανιχνευτές προσκολλώνται μόρια και μπορούμε να ανιχνεύσουμε ποια έχουν προσκολληθεί



Μικροσυστοιχίες (Microarrays)

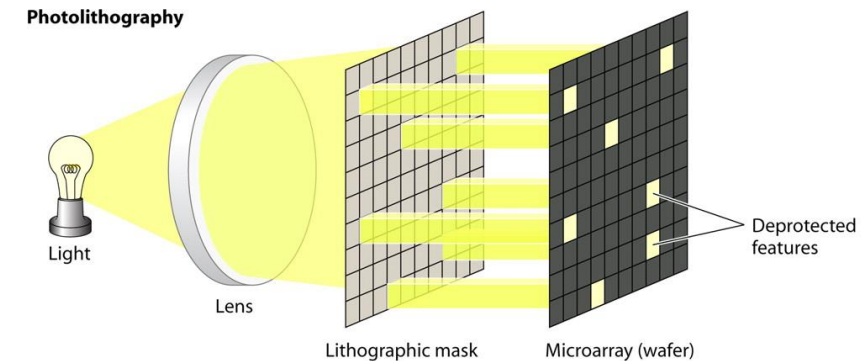
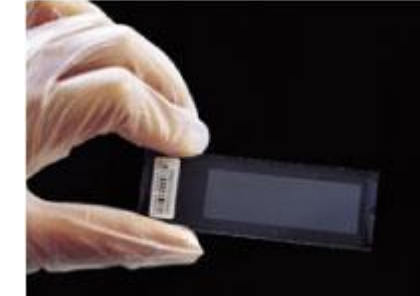
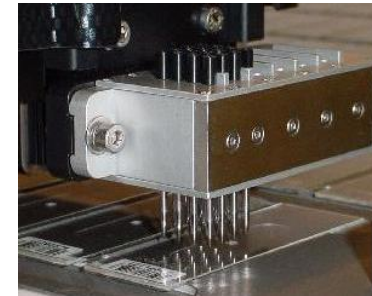


- **Κατασκευή Μικροσυστοιχιών**

- Διαφάνειες με στίγματα μορίων ή δείγματα ιστών
- Εκτύπωση με φωτολιθογραφία
- Εκτύπωση με inkjet

- **Εκτυπωμένες μικροσυστοιχίες**

- Η Agilent παράγει εκτυπωμένες μικροσυστοιχίες
- Η διαδικασία inkjet χρησιμοποιείται για να τοποθετήσει εξαιρετικά μικρές ποσότητες (picoliters) από τις χημικές ουσίες σε κάθε στίγμα.



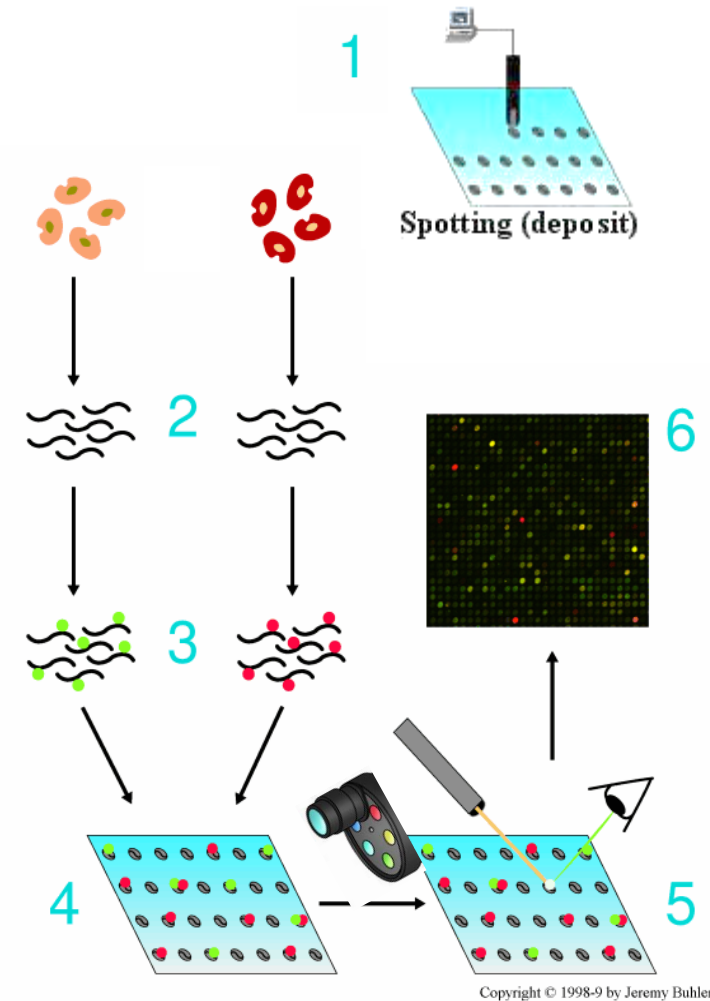
Agilent Microarray Slide Holder

Μικροσυστοιχίες (Microarrays)



• Βήματα ενός πειράματος σε μικροσυστοιχία (για mRNA)

1. Προετοιμάστε τη(ις) μικροσυστοιχία(ες) επιλέγοντας ανιχνευτές και συνδέοντας τους με το υπόστρωμα. Σημειώστε τη θέση και τις ιδιότητες του κάθε ανιχνευτή.
2. Από δείγματα 2 ειδών κυττάρων (π.χ. φυσιολογικά και καρκινικά) συλλέξτε mRNA και από αυτό φτιάξτε πιο σταθερό cDNA ή πρωτεΐνες
3. Προσθέστε δείκτες φθορισμού (π.χ. πράσινο στα φυσιολογικά και κόκκινο στα καρκινικά) και αναμείξτε σε ένα διάλυμα υβριδισμού.
4. Επωάστε τις μικροσυστοιχίες με το διάλυμα.
5. Εντοπίστε που έγινε και πόση είναι η υβριδοποίηση, με ανιχνευτή φθορισμού με λέιζερ
6. Σαρώστε τις μικροσυστοιχίες και δημιουργήστε εικόνες
7. Ποσοτικοποιείστε το κάθε σημείο, αφαιρέστε το υπόβαθρο και κανονικοποιείστε
8. Εξαγάγετε πίνακα με τις εντάσεις φθορισμού για κάθε γονίδιο και δημιουργήστε μια βάση δεδομένων
9. Αναλύστε τα δεδομένα χρησιμοποιώντας υπολογιστικές μεθόδους.

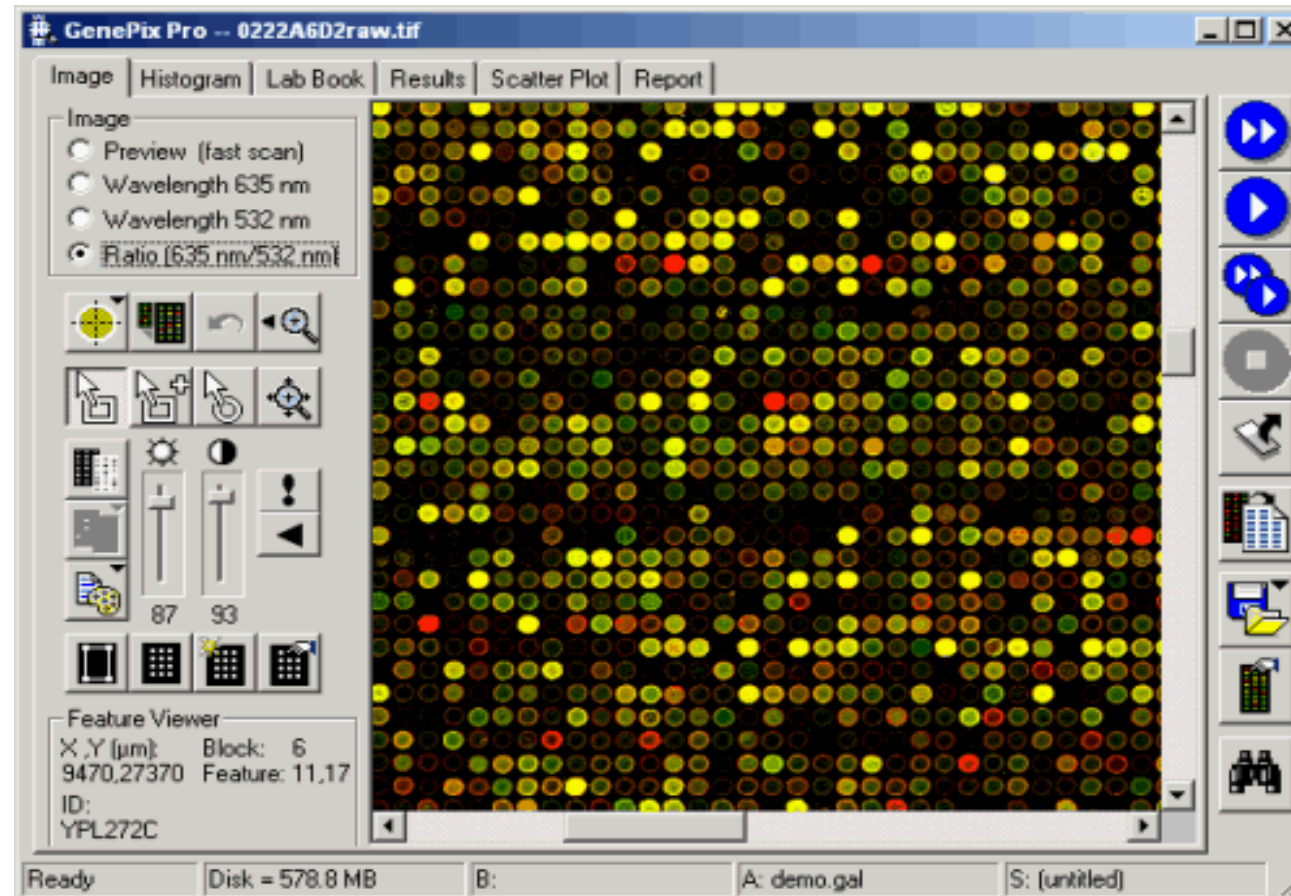


Copyright © 1998-9 by Jeremy Buhler

Μικροσυστοιχίες (Microarrays)



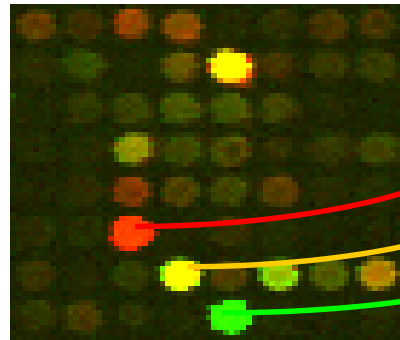
- Ανάλυση εικόνας από μικροσυστοιχία cDNA



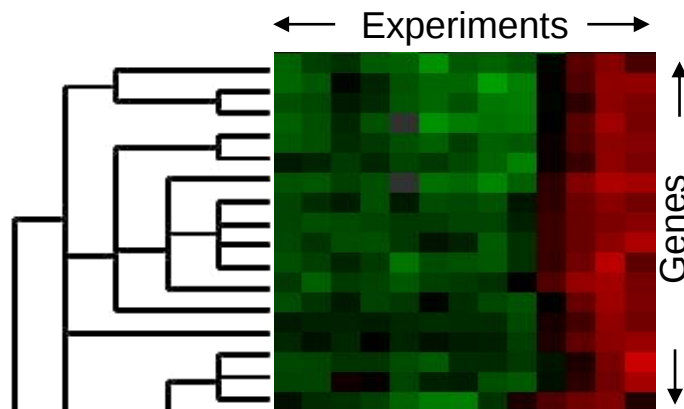
Μικροσυστοιχίες (Microarrays)



- Ανάλυση εικόνας από μικροσυστοιχία cDNA



Cy3	Cy5	$\frac{\text{Cy5}}{\text{Cy3}}$	$\log_2 \left(\frac{\text{Cy5}}{\text{Cy3}} \right)$	
200	10000	50.00	5.64	
4800	4800	1.00	0.00	
9000	300	0.03	-4.91	



Υπο εκφράζεται

Υπερ εκφράζεται



Μικροσυστοιχίες (Microarrays)



- **Γιατί να χρησιμοποιούνται μικροσυστοιχίες;**

- Καθορίζουν τα γονίδια που είναι ενεργά σε ένα κύτταρο και σε ποια επίπεδα
 - Καθορίζουν ποια γονίδια έχουν βιολογική σημασία σε ένα σύστημα
- Συγκρίνουν τη γονιδιακή έκφραση ενός ελέγχου ως προς τη ασθένεια ή θεραπεία
 - Καθορίζουν ποιων γονιδίων η έκφραση έχει αυξηθεί ή να μειωθεί
- Ανακαλύπτουν νέα γονίδια, οδούς, και κυτταρική διακίνηση

- **Γιατί να αναλύσουμε τόσα πολλά γονίδια;**

- Χιλιάδες γονίδια παραμένουν χωρίς διευκρινισμένη λειτουργία.
- Μοτίβα ή ομάδες γονιδίων είναι πιο κατατοπιστικά όσον αφορά την συνολική κυτταρική λειτουργία (πολύ-γονιδιακές ασθένειες)

- **Στόχος: νέες εφαρμογές πέρα από την ανακάλυψη του γονιδίου**

- Προσυμπτωματικός έλεγχος, κλινικός καθορισμός του γονότυπου, κλπ.
- Ανίχνευση/Διάγνωση νόσου
- Ταξινόμηση και διαστρωμάτωση των ασθενών (π.χ. τύπων και υποτύπων καρκίνου)
- Καθορισμός θεραπευτικής παρέμβασης

- **Εξατομικευμένες πληροφορίες**

- Εξατομικευμένη Ιατρική

Αξιοποίηση των -ωματικών στην Ιατρική



- **Καινούργια Διαγνωστικά**

- Μικροτσίπ και Microarrays

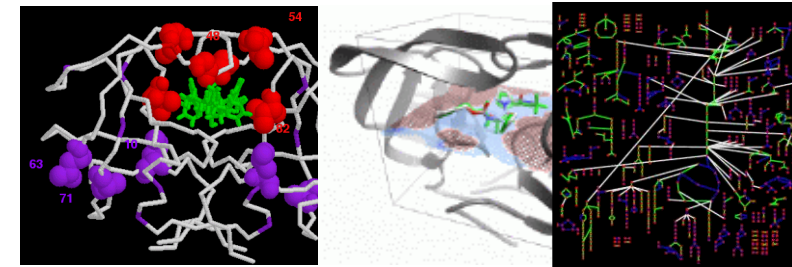
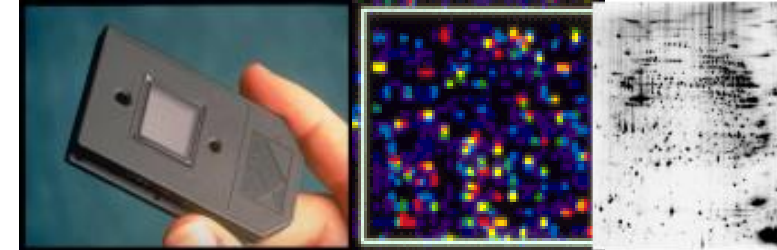
- **Καινούργιες Θεραπείες**

- Ανακάλυψη πιθανών στόχων για φάρμακα
- Ορθολογική σχεδίαση φαρμάκων
- Μοριακή σύνδεση
- Γονιδιακή θεραπεία

- **Κατανόηση του μεταβολισμού**

- **Κατανόηση των ασθενειών**

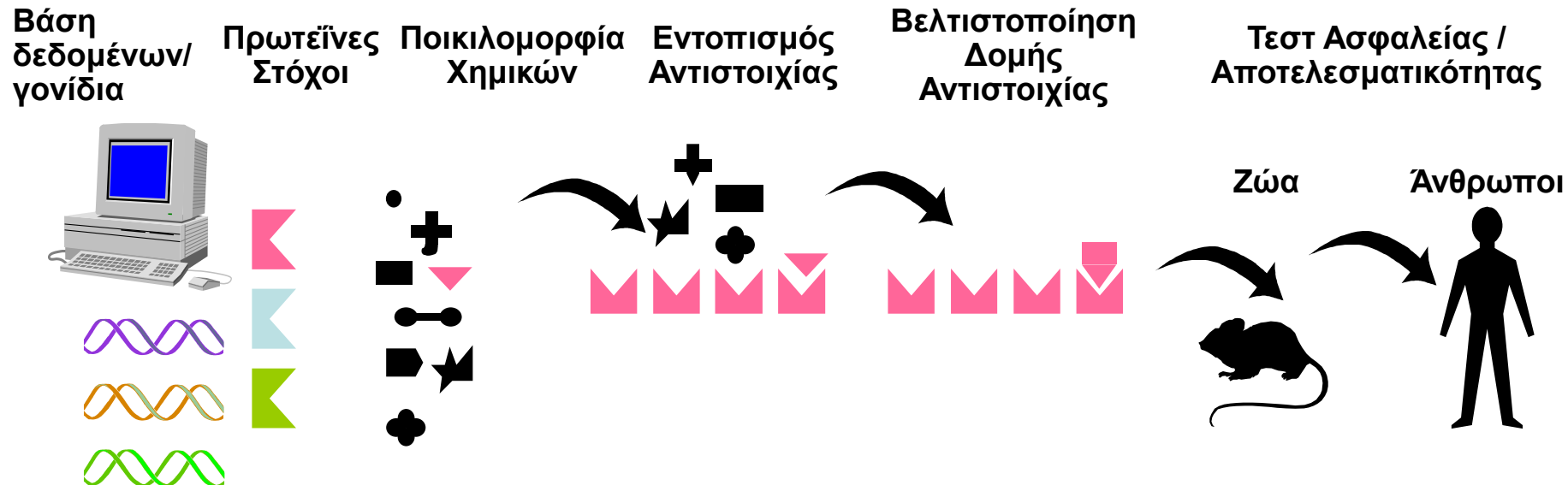
- Κληρονομικές Ασθένειες
- Λοιμώδη Νοσήματα
- παθογόνα βακτήρια
- Ιοί



Παράδειγμα Εφαρμογής: Σχεδιασμός Φαρμάκων



- Ο στόχος είναι να μεταφραστούν οι νέες πληροφορίες σε νέες θεραπείες
- Η διαδικασία ανακάλυψης φαρμάκων
 - Εύρεση γονίδιων που είναι υπεύθυνα για τη νόσο
 - Προσδιορισμός της δομής της πρωτεΐνης του στόχου
 - Κατανόηση του πώς οι πρωτεΐνες δεσμεύουν άλλα μόρια
 - Σύνδεση και μοντελοποίηση
 - Σχεδιασμός αναστολέων

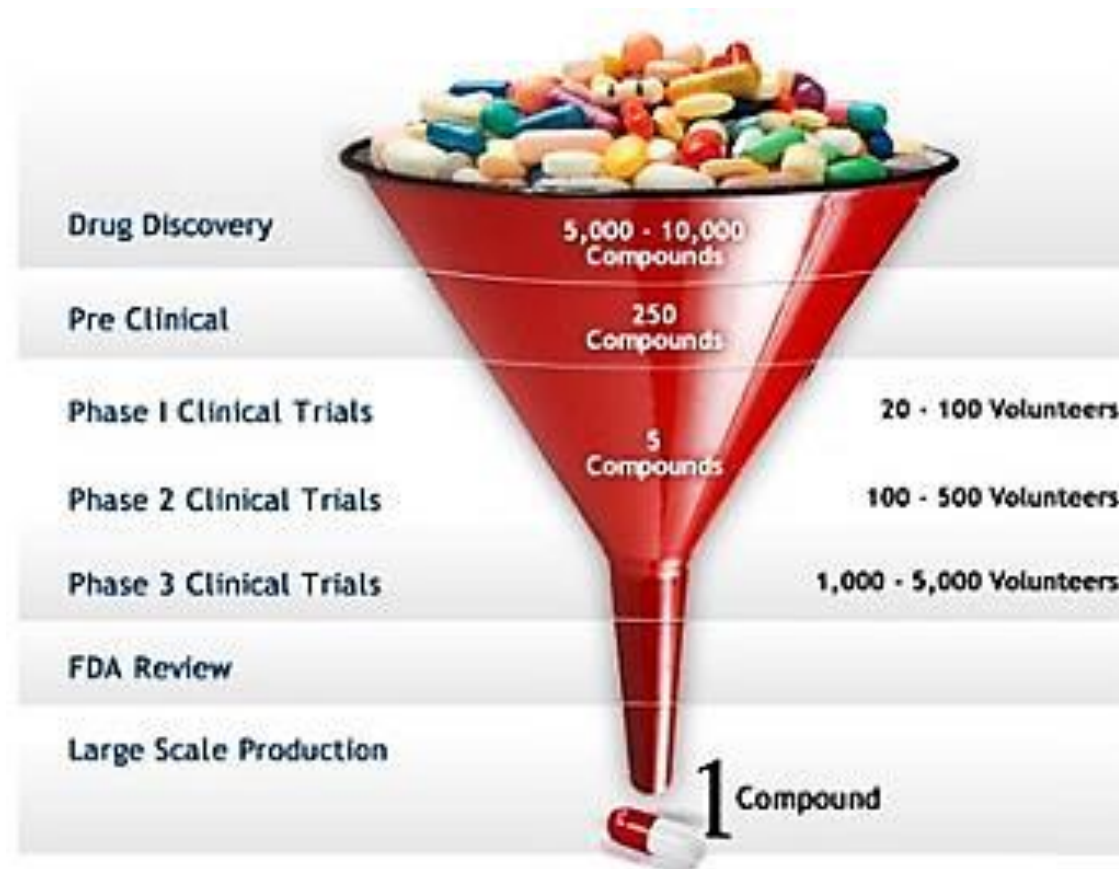


Παράδειγμα Εφαρμογής: Σχεδιασμός Φαρμάκων



- Πολυπλοκότητα ανακάλυψης φαρμάκων

- Εύρεση ενός μορίου που ικανοποιεί πολλά κριτήρια
- “Δοκιμές” *in silico* μπορούν να μειώσουν τον αριθμό των υποψηφίων σημαντικά (σε 10-100)





- **Ανάπτυξη νέων προσεγγίσεων σε τεχνολογικές προκλήσεις σε διάφορους τομείς με την εκμετάλλευση τεχνικών λύσεων που βρίσκονται στη φύση**
 - Η φύση είχε δισεκατομμύρια χρόνια για να βελτιστοποιήσει τις λύσεις της
- **Παραδείγματα**
 - Πληροφορική: γενετικοί αλγόριθμοι, νευρωνικά δίκτυα, τεχνητά ανοσοποιητικό δίκτυα, κλπ.
 - Υλικά: έξυπνα προσαρμόσιμα υλικά, μοναδικές ιδιότητες (το μετάξι της αράχνης, το κέλυφος του αστακού, οι χόνδροι)
 - Αεροδυναμική: πτήση των πουλιών και εντόμων
 - Αρχιτεκτονική: μιμείται τις ιδιότητες ψύξης των αναχώματων τερμιτών
 - Κατασκευαστική: βιομορφικής μεταλλοφορίας
 - Νανοτεχνολογία: αυτοσυγκροτούμενες και προσαρμόσιμες νανοδομές με μοναδικές ιδιότητες

