

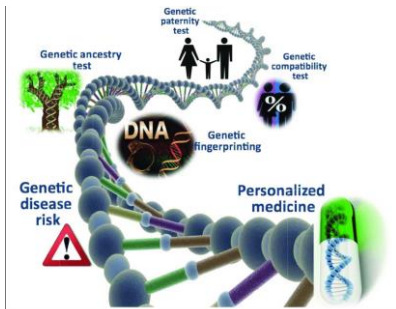
Τεχνολογίες Γονιδιωματικής

Δέσποινα Σανούδου
Αναπληρώτρια Καθηγήτρια
Δ' Παθολογική Κλινική

Η Εποχή της -ομικής

- Γονιδιωματική
- Επιγονιδιωματική
- Μεταγραφωμική
- Πρωτεομική
- Μεταβολωμική
- Λιπιδωμική

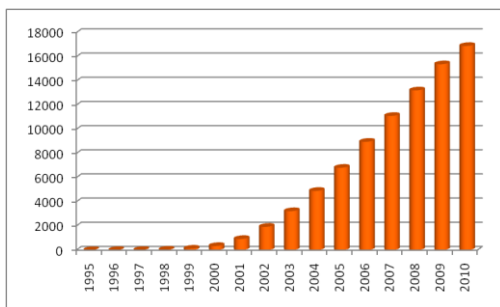
Εφαρμογές στην Ιατρική



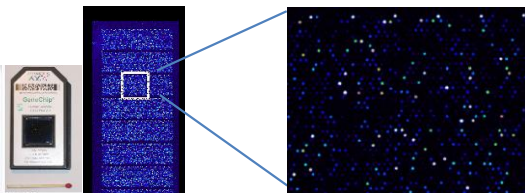
Κύριες μεθοδολογίες Γονιδιωματικής

Η τεχνολογία προάγει τις επιστημονικές εξελίξεις

Μικροσυστοιχίες=> Εποχή Γονιδιωματικής



Τι είναι οι μικροσυστοιχίες;



«Αντικειμενοφόρες πλάκες που φέρουν 100.000s ολιγονουκλεοτίδια/τμήματα DNA, αντιπροσωπευτικά γνωστών/άγνωστων γονιδίων, στα οποία υβριδοποιούμε φθορίζον DNA ή RNA»

Κύρια διαθέσιμα είδη μικροσυστοιχιών

DNA { • Ανάλυση SNP
• Ανάλυση αριθμού αντιγράφων περιοχών DNA

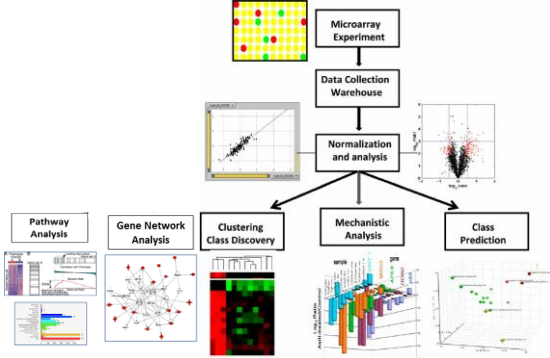
RNA { • Έκφραση γονιδίων
• Έκφραση εξωνίων
• Επίπεδα microRNA

Μικροβίωμα

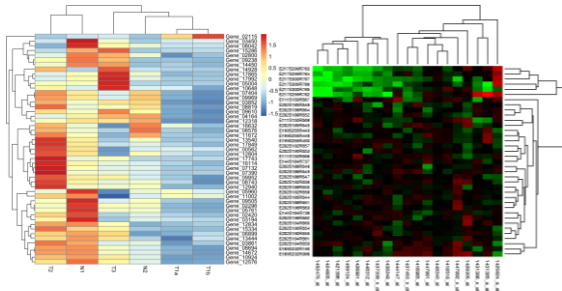
Πρωτογενείς μετρήσεις

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
1		T21101311	T21101312	T21101313	T21101314	T21101315	T21101316	T21101317	T21101318	T21101319
2	SOAT1	5.367326	5.320233	5.897962	5.624287	5.409871	5.584613	5.322377	5.487342	5.585398
3	LSS	9.772752	9.780137	8.109067	8.66727	9.828498	9.852128	10.0045	9.719076	9.883177
4	SQLE	7.715346	8.05712	6.99877	8.589871	8.131684	8.553738	6.991804	7.471945	7.973404
5	EBP	4.683021	5.118117	5.78426	5.638914	5.725045	5.130736	5.863561	5.157558	5.395714
6	CYP51A1	8.269938	8.20528	8.199251	8.067303	9.381888	9.397497	8.081391	6.669024	7.911481
7	DHCR7	8.324285	8.326344	8.394122	8.639337	8.145494	8.712485	9.253899	7.371023	8.059263
8	CYP7B1	6.775091	6.469703	6.571085	6.466788	6.426431	6.506063	6.860352	6.898506	6.580879
9	DHCR24	4.700653	5.960657	4.39423	4.979013	5.026865	4.874913	4.722111	4.920409	5.062947
10	HSD17B7	7.630522	7.634301	8.152597	8.133018	7.696132	7.748463	8.785136	7.503293	8.164965
11	MSMO1	7.59752	7.333556	7.6071	5.559931	6.301034	7.768603	6.967683	5.481133	7.060781
12	FDFT1	10.48093	10.59119	10.22231	10.42314	9.988841	9.784424	10.65633	10.54698	10.27892
13	SC5DL	9.528375	9.350177	9.823833	9.702557	9.503177	9.335774	9.302106	9.280652	10.05913
14	LIPA	8.174425	6.751661	7.338589	7.169110	6.824679	7.824024	6.881841	7.561808	6.948957
15	CEL	10.54184	9.85274	10.01474	9.802644	10.62017	9.664595	10.21456	9.494757	9.512268
16	TM7SF2	9.828398	10.47254	9.832193	10.0013	10.31168	9.462928	9.757942	10.51902	9.601789
17	NSDHL	6.881942	7.472447	7.754443	6.162545	5.938341	6.740438	6.324345	6.5229	8.127225
18	COX7C	7.790903	7.47784	6.064507	7.781364	7.735076	7.533304	6.644814	7.815304	7.706716

Επεξεργασία δεδομένων - Βιοπληροφορική



Ανάλυση: Δενδρόγραμμα & heatmap



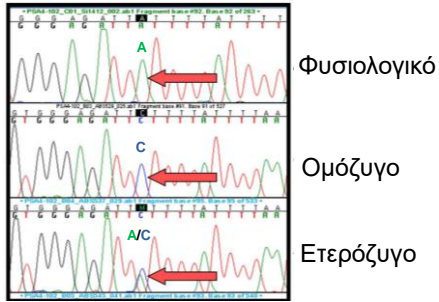
Ανάλυση: Λίστα στατιστικά σημαντικών γονιδίων

202212_at	5.82	ρεκαθλίν ηεμολύση 1	PE51
211917_at	4.26	σφαιρίνη κλάση I&C2_2/17211	HTB28
206638_at	4.36	5-υδροξυγλυταμίνη (ισεπτασίνη) ρεσепτορ 2B	SPK11
219991_at	4.35	σπροντρίνη 1, εκτελεστική μακρής πρωτεΐνης	DNF1P
219894_at	4.30	δραμικίνη ρεσепτορ D11 interacting protein	DO22
203699_s_at	3.63	αμινοξέως-ισοδραμικίνη, τύπος 8	DO22
218223_at	3.49	(FEN1)/EN2, SDR4 (EN3), γινεά-ομοίω 1	ELC4L1
220789_s_at	3.26	ισεπτασίνης γινεά-ομοίω βήτα ρεγυλάτορ 4	TBR5C4
220913_s_at	2.67	νυκτερινή DNA ρεσепт factor 2	NUF2
219530_at	2.66	υπερθεωρητική πρωτεΐνη FLZ21616	FLZ1816A
201393_at	2.54	ισεπτασίνη, αλφά 5	ITGAS
210948_s_at	2.16	ρετιουλάνη 4	RTH4
211163_s_at	1.98	ακτίνη, αλφά 1	ACT1
209263_at	1.95	μακροσθεν ρεσепτορ, C τύπος 2	MRC2
211193_at	1.90	ισεπτασίνης οικογένεια 3b	SLC34A3
209122_at	1.90	αδριασίνη αλληλεπιδασίας-σχετιζόμενη πρωτεΐνη	ADIP
214751_s_at	1.74	βλαστίνης A, αλφά (ακτίνη-δένδρον) πρωτεΐνη 2B0	FL3A8
221889_at	1.74	πολυκλωνική χημειοκίνη τετραμετρικαζίνης ομοίω	KCTD13
220648_s_at	1.73	DNA κυκλική 5' μεθυλτρανσφεράση 3 βήτα	DNMT3B
209078_at	1.66	χημειοκίνη (C, C-ρεσепт) ρεσепτορ 1	CCR1
220061_s_at	1.62	υπερσπροντρίνη (17 βήτα) δευτερογενής 7	HSD17B7
220295_s_at	1.62	βενζοισοπυριμιδίνη ρεσепτορ (σπροντρίνη)	R2DP
200621_at	1.59	κυκλική και γλυκίνη-πλούσιη πρωτεΐνη 1	CBP1
203883_at	1.57	ισεπτασίνης-εξισωμετρικαζίνης ρεσепτορ 3	IG27G5
202876_s_at	1.55	ισεπτασίνης οικογένεια 1b	SLC16A3
212841_at	1.54	νυκτερινή κυτταρική οικογένεια 1	NCAR1
212330_at	1.54	Tauβίν	DNF7p51.01118
204821_at	1.53	σταθμίν 1	STAB1
207968_s_at	1.52	ακτίνης σχετιζόμενη πρωτεΐνη 2/3 σύνπλοκος, υπομονή 2, 34 kDa	APPC2
212861_s_at	1.46	ακτίνης βήτα	ACTB
220228_at	1.45	A κλινεπρίνη-ομοίω και μεταλλοπρωτεΐνη	ADM2513
206241_at	1.43	ισεπτασίνης ρεγυλάτορ 7	RPT1
221794_at	1.42	αδριασίνης κυκλική 5'	DO22A
221554_at	1.34	HMT1 1-υδροξυ-3-μεθυλτρανσφεράση-ομοίω 1	HMT1L1
211213_s_at	1.34	πολυπρωτεϊνική τριπλ-δένδρον πρωτεΐνη 1	PTP1
203818_s_at	1.34	σπροντρίνη factor 2a, υπομονή 3, 40 kDa	SF3A3
202443_s_at	1.33	ισεπτασίνης 1/3-εξισωμετρικαζίνης 5'	STS
200044_at	1.33	σπροντρίνη factor, αργινη-πλούσιη-ομοίω 9	SF69
17821_at	1.29	γινεά-δένδρον (ισεπτασίνης)	DNF
208104_s_at	1.23	SPI10 νυκτερινή οικογένεια 1	SPI10
203643_at	1.20	σπροντρίνη ρεσепτορ 34 kDa	SPT5A
56197_at	1.16	φωσφοπρίνη σκωραμίδαση 3	PLSCR3

Επεξεργασία δεδομένων – Βάσεις δεδομένων



Αλληλούχιση DNA



Αλληλούχιση του ανθρώπινου γονιδιώματος



13 χρόνια, 3 \$δισ

Αλληλούχιση Νέας Γενιάς

Next Generation Sequencing (NGS)

Παράλληλη αλληλούχιση εκατομμυρίων μικρών τμημάτων (35bp-100bp) σε μια αντίδραση

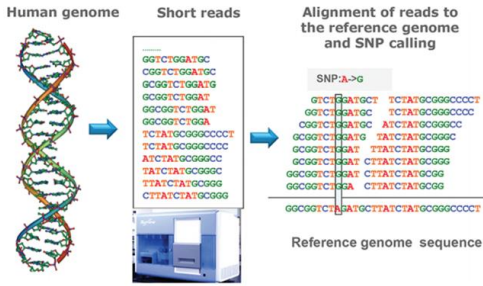


13 χρόνια
\$3billion

=>
=>

1-2 μέρες
\$1K

Αλληλούχιση Νέας Γενιάς

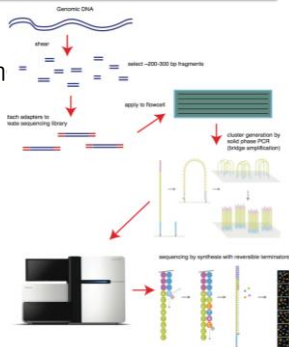


Πλατφόρμες NGS

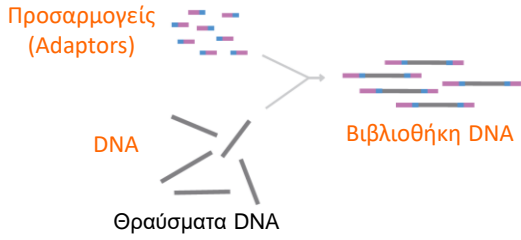
	454 FLX +	HiSeq 2000	PacBio RS	Ion Torrent 316
Company	Roche (USA)	Illumina (USA)	Pacific Biosciences (USA)	Life Technologies (USA)
Sequencing method	Synthesis (pyrosequencing)	Synthesis (cyclic reversible terminator)	Realtime sequencing	Synthesis (H ⁺ detection) on the chip
Amplification	emPCR	BridgPCR	None	emPCR
Run time	23h	11 days (dual flow cell)	0.5 - 2h	2h
Reads: Mb/run	1,000	\$40,000-600,000	5 - 10	>100
Reagent cost/run	\$6,200	~\$20,000	\$110 - 900	\$750
Reagent cost/Mb	\$7	>\$104	\$11 - 180	<\$7.5
Read length	500-1,000 (mode 700)	2*100 (paired-end reads)	850 - 1,100	>200
Primary errors	Indel	Substitution	CG deletion	Indel
Pros	Long read length	Highest throughput and lowest cost per Mb	Longest read length, no amplification error	Low cost per sample
Cons	High capital cost and high cost per Mb	High capital cost and high computation needs	Error rates, comparatively small outputs, high cost per Mb	High cost per Mb

Στάδια NGS αλληλούχισης με την πλατφόρμα της Illumina

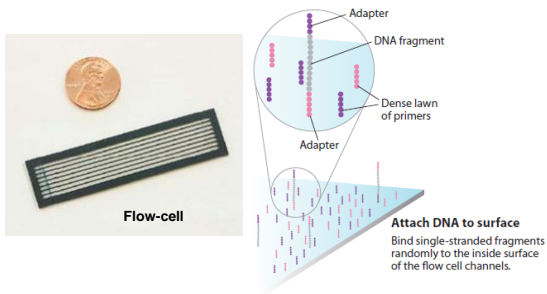
1. Προετοιμασία βιβλιοθήκη
2. Δημιουργία συστάδων
3. Αλληλούχιση
4. Ανάλυση δεδομένων



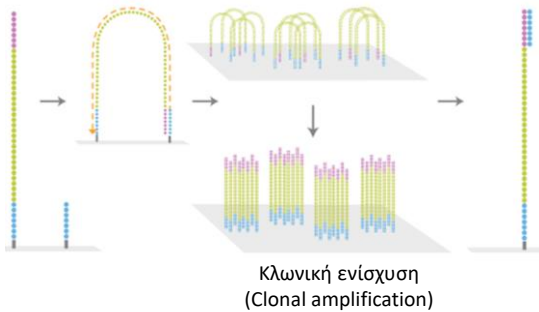
1. Προετοιμασία “βιβλιοθήκης” DNA



2. NGS- Δημιουργία συστάδων (Cluster)



2. NGS- Δημιουργία συστάδων (Cluster)



4. NGS- ανάγκες «υπολογιστικής δύναμης»

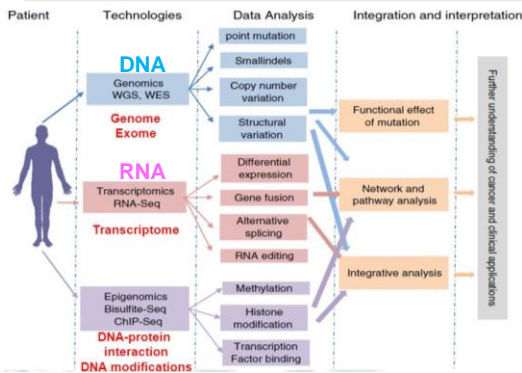
10 Γονιδιώματα, 5 Εξωτερικοί δίσκοι



Συστοιχία υπολογιστών



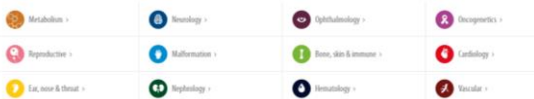
NGS τεχνολογίες-εφαρμογές



Διαθέσιμες εξετάσεις με βάση το NGS

Για >200 διαφορετικά νοσήματα
Σε επίπεδο:

- Προγεννητικό
- Προσυμπτωματικό
- Διαγνωστικό
- Προγνωστικό
- Πρόβλεψης ανταπόκρισης



Εργαστηριακή Γενετική