

Γονιδιωματική  
Συγκριτική γονιδιωματική[5]

Τμήμα Γεωπονίας, Ιχθυολογίας  
και Υδάτινου Περιβάλλοντος

Μεζίτη Αλεξάνδρα

# Οργάνωση Ευκαρυωτικού γονιδιώματος

- Διαχωρισμός γονιδιώματος πυρήνα και οργανιδίων (μιτοχόνδρια, χλωροπλάστες).
- Οργάνωση γονιδιώματος πυρήνα με ιστόνες
- Οργάνωση γονιδιώματος αντίστοιχη με των Προκαρυωτών (Ενδοσυμβιωτική θεωρία).
- Το μέγεθος του γονιδιώματος είναι ίδιο σε όλα τα κύτταρα με εξαίρεση τους γαμέτες.
- Κύτταρα διαφορετικών ιστών περιέχουν διαφορετικό αριθμό οργανιδίων
  - Περισσότερα μιτοχόνδρια σε ιστούς με μεγάλες ενεργειακές ανάγκες (π.χ. κύτταρα στην καρδιά)
  - Περισσότεροι χλωροπλάστες στα κύτταρα των φύλλων και καθόλου χλωροπλάστες στις ρίζες.
- Το μέγεθος του γονιδιώματος μιτοχονδρίων και χλωροπλαστών αλλάζει ανάλογα με το είδος (*H.sapiens* → 16,5 Kbp, Ζύμες → 75 kbp).
- Τα μιτοχόνδρια και οι χλωροπλάστες έχουν αυτόνομο σύστημα πρωτεϊνοσύνθεσης.

# Διαφορές/ Αλλαγές στα γονιδιώματα

1. Στο επίπεδο βάσεων
2. Στο επίπεδο γονιδίων
3. Στο επίπεδο μεγαλύτερων κομματιών
4. Στο επίπεδο ολόκληρου του γονιδιώματος

## 1. Στο επίπεδο βάσεων

Τα συγγενικά γονιδιώματα έχουν περιοχές που κωδικοποιούν συγγενικές πρωτεΐνες. Η ευθύγραμμη ομόλογων γονιδίων αναδεικνύει διαφορές που οφείλονται σε αλλαγές βάσεων, προσθήκες ή ελλείψεις.

```
Human      actgcttttcaggaagccttggacgctgcaggtgataaaccttgtagtagttgacttctca
Chicken    gctgattttgaggcagaactgaaagctgctgggtgagaagccttgtagtagttgatttctct
S.aureus    gcagattttgattcaaaagtagaatctggtgtacaa-----ttagtagatttttgg
           *:* ***** *:: *:   *: * :***: *:::* :: ::::****:* **:*:

Human      gccacgtggtgtgggccttgcaaaatgatcaagcctttcttcat-----
Chicken    gccacatggtgtggaccatgtaaaatgatcaagocatttttccatgtaagtagccttgtt
S.aureus    gcaacatggtgtggtccatgtaaaatgatcgctccggtattagaa-----
           **: ** ***** ** ** *****:::** :* ** :*:

Human      -----gtgagtattaaacaatgtctgctttgtaagagatttgtgttttttg
Chicken    ttttcacagtaacagtaagtat-acacaaatacttctgtgcaacttgtcagtaatatg-g
S.aureus    -----
           :: :::: : ::::  :: :: :: : :  :  ::  : :  :
```

Εικόνα 1: Ευθύγραμμη ομόλογων γονιδίων θειορεδοξίνης από διαφορετικά είδη. Η θειορεδοξίνες καταλύουν αντιδράσεις ανταλλαγής δισουλφιδίων που συνεισφέρουν στην ταχύτητα και την ακρίβεια της αναδίπλωσης των πρωτεϊνών.

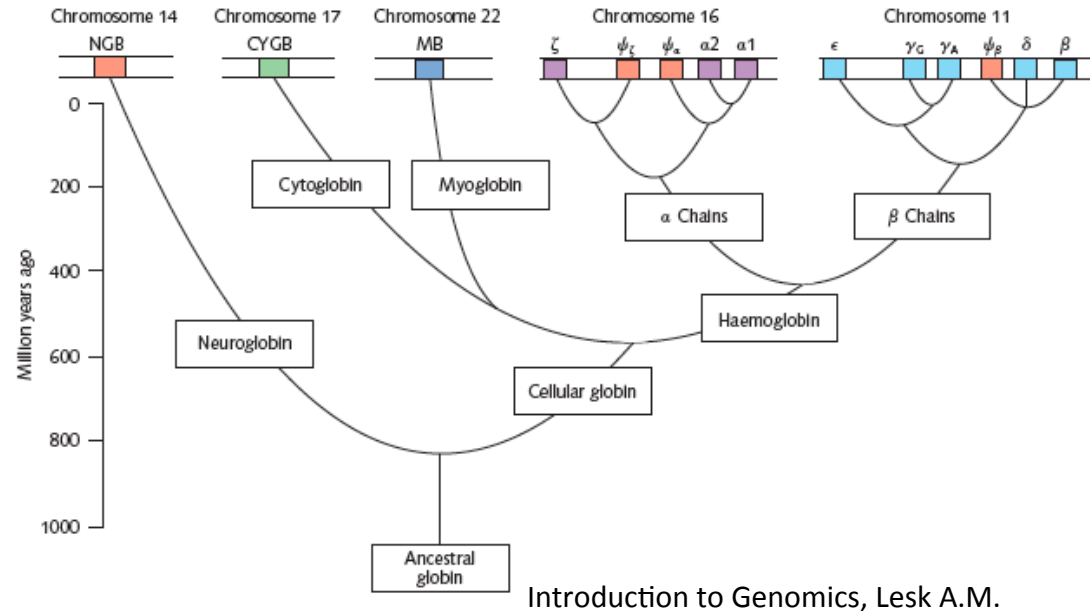
# Διαφορές/Αλλαγές στα γονιδιώματα

## 2. Στο επίπεδο γονιδίων

- Διπλασιασμός γονιδίων: Παραγωγική πηγή ποικιλότητας, υλικό για επιλογή και γενετική απόκλιση.
- Εμφανίζονται σε όλους τους οργανισμούς και το ποσοστό του ποικίλει. Το γονιδίωμα του *Arabidopsis thaliana*, κατά 60% αποτελείται από διπλασιασμούς.

- Μετά τον διπλασιασμό απομένουν και τα δύο γονίδια
  - Ψευδογονίδια
  - Απόκλιση → πηγή πρωτεϊνών με νέες ιδιότητες

- Διαχωρισμός επιλογής από γενετική απόκλιση.
  - $K_s$ : Συνώνυμες μεταλλάξεις/  $K_a$ : Μη συνώνυμες μεταλλάξεις
  - $K_a/K_s=1$  → Ουδέτερη εξέλιξη,  $K_a/K_s>1$  → θετική επιλογή,  $K_a/K_s<1$  → αρνητική επιλογή

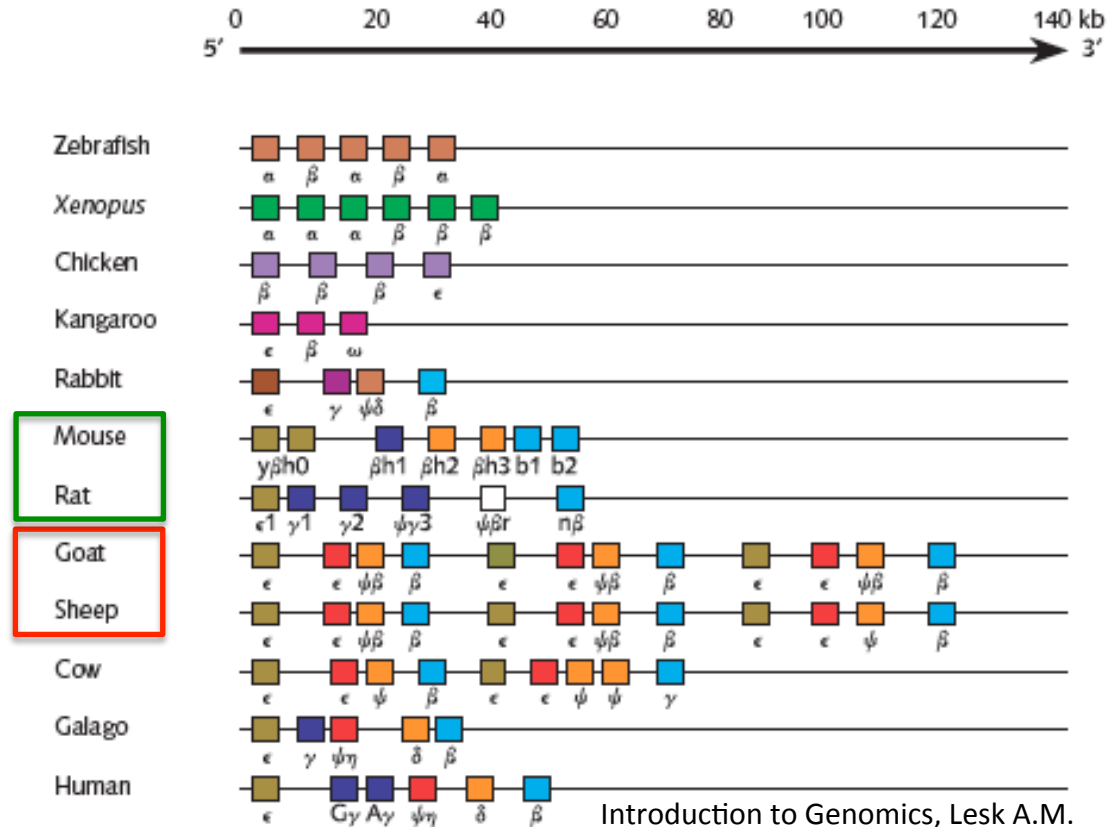


Εικόνα 2: Διπλασιασμός και διασπορά των γονιδίων των σφαιρίνων κατά την εξέλιξη των ζώων.

# Διαφορές/Αλλαγές στα γονιδιώματα

## 2. Στο επίπεδο γονιδίων

- **Ομόλογα γονίδια/περιοχές** → κοινός πρόγονος → συνήθως αυτό φαίνεται από μορφολογικές ή γονιδιωματικές ομοιότητες
- **Παράλογα γονίδια/περιοχές** → συγγενή γονίδια που πλέον έχουν διαφορετικές λειτουργίες λόγω απόκλισης, προέρχονται από γονιδιακό διπλασιασμό (π.χ. α- και β-αλυσίδες της αιμοσφαιρίνης στον άνθρωπο)
- **Ορθόλογα γονίδια/περιοχές** → ομόλογα γονίδια με την ίδια λειτουργία σε διαφορετικά είδη.



Εικόνα 3: Η περιοχή των γονιδίων της β-αλυσίδας της αιμοσφαιρίνης σε διαφορετικά ζώα

# Διαφορές/Αλλαγές στα γονιδιώματα

## 3. Στο επίπεδο μεγαλύτερων κομματιών

- Διπλασιασμός περιοχών με πολλά γονίδια
- Σημαντικές για τις διαφορές συγγενών ειδών
- Σε μερικές περιπτώσεις περιλαμβάνουν περιοχές υπεύθυνες για γενετικές ανωμαλίες

## 4. Στο επίπεδο χρωμοσωμάτων

- Προκύπτουν από λάθη στο στάδιο της μείωσης
- Απλή επανάληψη πολλών γονιδίων δεν αποδεικνύει διπλασιασμό χρωμοσωμάτων
- Πρέπει και η σειρά των γονιδίων να είναι παρόμοια
- Ύπαρξη ενδείξεων από 'μοριακά ρολόγια' για παρόμοια παρέκκλιση σε όλα τα ομόλογα γονίδια
- Το γονιδίωμα των ζυμομυκήτων υπέστη διπλασιασμό  $10^8$  χρόνια πριν
- Σήμερα το γονιδίωμα των μυκήτων αποτελείται ~50% από διπλασιασμένες περιοχές
- Το 1970 ο S. Ohno πρότεινε ότι το γονιδίωμα των σπονδυλόζων προέκυψε ένα ή περισσότερους πολλαπλασιασμούς γονιδιώματος
- Τα γονιδιώματα των φυτών είναι επιρρεπή στον διπλασιασμό → πολυπλοειδία
- Η πολυπλοειδία μπορεί να έχει πολλά πλεονεκτήματα για τους οργανισμούς → διατήρηση της γενετικής ποικιλότητας.

# Διαφορές/Αλλαγές στα γονιδιώματα

## Ποια στοιχεία διαφοροποιούν τον *Homo sapiens*?

- Συγκριτική γονιδιωματική: στοιχεία διαφοροποίησης γονιδιώματος ανθρώπου και χιμπαντζή.
- Μελέτη ανθρώπινων ασθενειών, που εντοπίζονται μόνο στον άνθρωπο.

## Συγκριτική γονιδιωματική

- Γονιδίωμα ανθρώπου vs χιμπαντζή → 96% ομοιότητα.
- Εντοπισμός διαφορών. Τι δεν μας κάνει χιμπαντζήδες? → 45 Mbp
- ~30% των ομόλογων πρωτεϊνών → καθόλου διαφορές.
- Απαιτείται κατανόηση της δυναμικής και των προτύπων της γονιδιακής ρύθμισης.
- ENCODE project (<https://www.encodeproject.org/>) → Αναγνώριση περιοχών ρύθμισης στο ανθρώπινο γονιδίωμα και σύγκριση με άλλα είδη.
- Μελέτη γενετικών ασθενειών στο άνθρωπο που επηρεάζουν μοναδικά στοιχεία

## Το παράδειγμα του FOXP2

- Η ομιλία είναι μοναδικό χαρακτηριστικό του ανθρώπου
- Μελέτη γενετικών ασθενειών που την επηρεάζουν.
- Μετάλλαξη ενός SNP (single nucleotide polymorphism) στο FOXP2 (μεταγραφικός παράγοντας) → δυσκολία κίνησης των μυων που βοηθούν στην ομιλία.
- FOXP2 → σχετικά σταθερή πρωτεΐνη με μόνο μία διαφορά ανάμεσα στο ποντίκι και τα πρωτεύοντα (εκτός *H. Sapiens* → δύο διαφορές).

## Στατιστική ανάλυση/απεικόνιση αποτελεσμάτων

- Εύρεση κοινών στοιχείων (OTUs, γονίδια) ανάμεσα σε διαφορετικά δείγματα

→ Venn diagrams

```
mothur > venn(shared=stability.opti_mcc.0.03.subsample.shared, groups=F3D0-F3D1-F3D2)
```

<http://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/>

<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/Venn/>

- Απεικόνιση αφθονίας/σχετικής αφθονίας με heatmap

```
mothur > heatmap.bin(shared=stability.opti_mcc.0.03.subsample.shared, scale=log2,  
numotu=50)
```

### Ή στο R

```
setwd("/Users/alexandrameziti/Desktop/")
```

```
library(pheatmap)
```

```
lanierbins=read.table('LLD_130317_bins',h=T,row.names=1)
```

```
p=lanierbins
```

```
p=t(p)
```

```
pheatmap(log10(p+0.0001), scale='none', cellwidth =15, cellheight=15,fontsize = 08,  
treeheight_col=10,color=colorRampPalette(c("navy", "white", "firebrick3"))(50), fontsize_col =  
08, fontsize_row = 08,cluster_row = FALSE,cluster_col=FALSE,main='bins coverage (RPKM)',  
legend_breaks=c(0,1,2), legend_labels=paste(10^c(0,1,2),sep="),filename =  
"coverage_LLD_160517.pdf")
```



# Στατιστική ανάλυση/απεικόνιση αποτελεσμάτων

- Υπολογισμός αποστάσεων ανάμεσα στα δείγματα ανά δύο (pairwise) χρησιμοποιώντας διαφορετικούς δείκτες ([Jaccard coefficient using richness estimators](#), the [Yue & Clayton theta](#), and the [Bray-Curtis index](#))  
mothur > dist.shared(shared=stability.opti\_mcc.shared, calc=thetayc-jclass, subsample=2392)

## Ή στο R

```
library(vegan)
gom_otu=read.table('gom_otu.txt',h=TRUE,row.names=1)
gom_otu=t(gom_otu)
gom_otu_mds=metaMDS(gom_otu)
gom_otu_mdsplot=plot(gom_otu_mds,display='sites')
text(gom_otu_mdsplot,'points')
text(gom_otu_mdsplot,'sites')
```

## Ή στο PAST

<https://folk.uio.no/ohammer/past/>

- Στις πολυπαραγοντικές αναλύσεις μπορεί να απεικονιστεί και να αναλυθεί και η στατιστική σημαντικότητα περιβαλλοντικών ή άλλων παραγόντων.