

# C7188 Úvod do molekulární medicíny 4/12



## Moderní metodické přístupy v molekulární medicíně II



## GENOMIKA II



**Ondřej Slabý, Ph.D.**

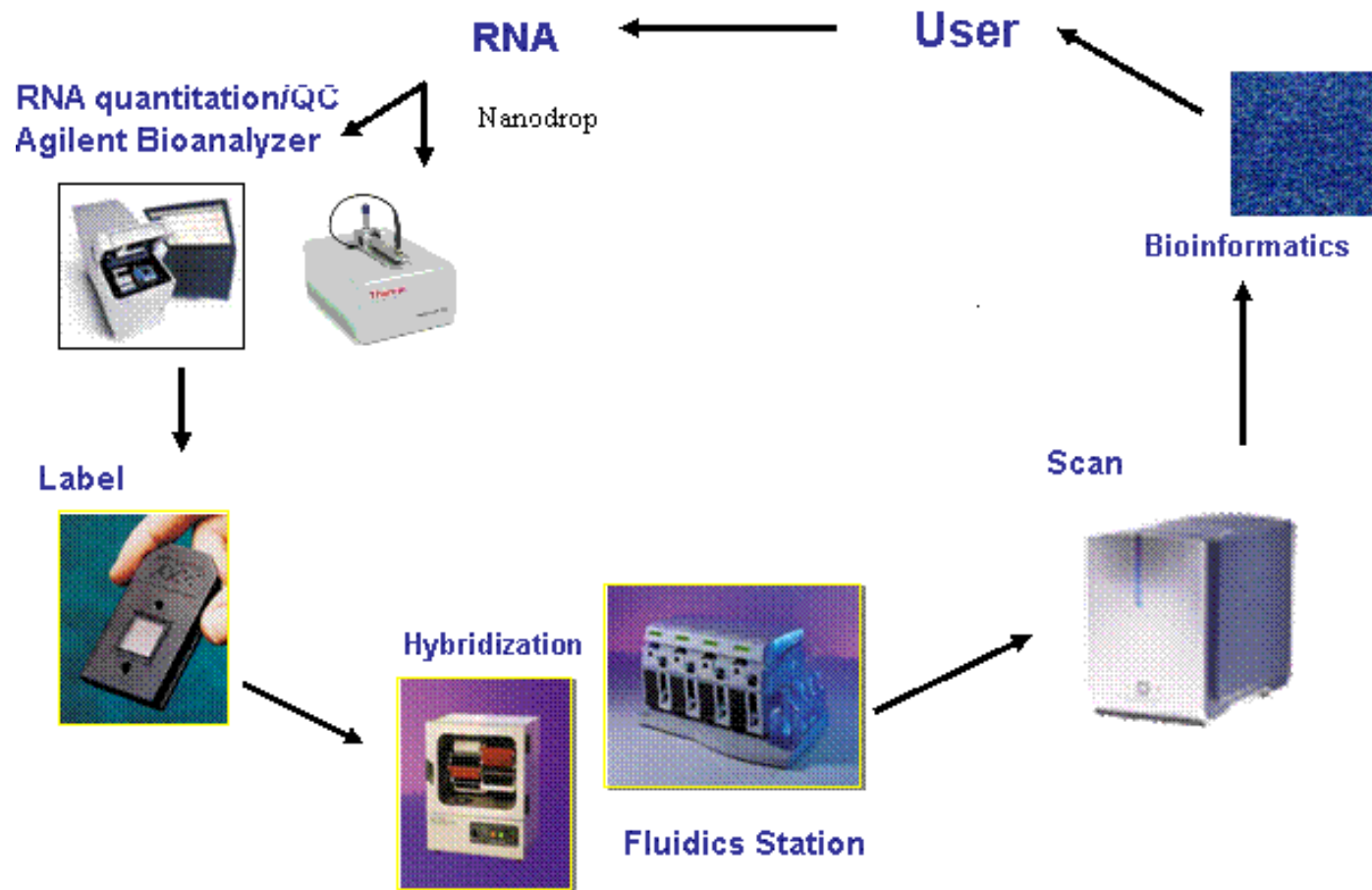
*Masarykův onkologický ústav*

*Univerzitní centrum buněčné imunoterapie*

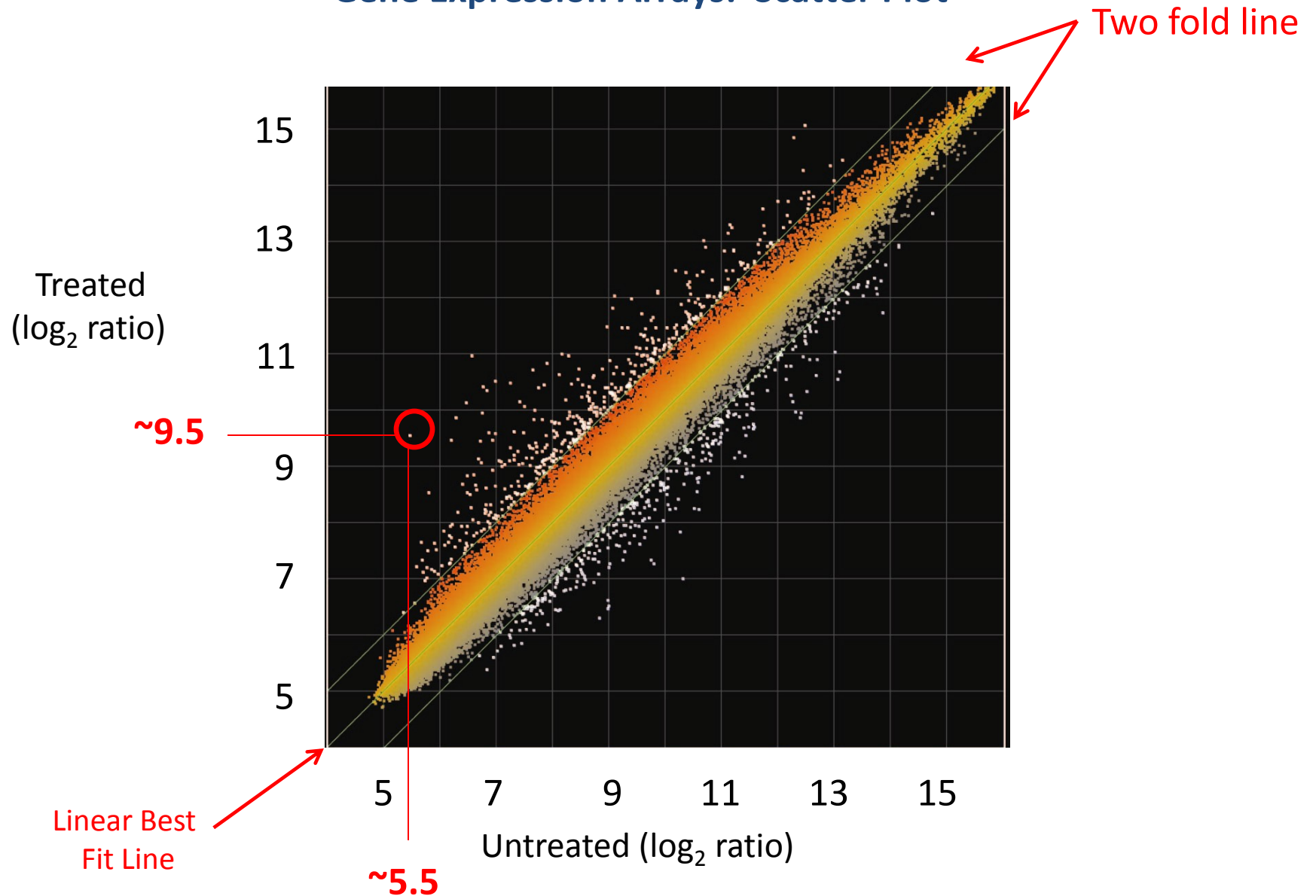
*Lékařská fakulta Masarykovy univerzity*



## Microarray sample processing workflow



## Gene Expression Arrays: Scatter Plot



## Normalizace dat

### *ukázky normalizačních metod*

-kompenzace nelinearity dat mezi jednotlivými čipy a uvnitř daného čipu

#### Pozitivní kontroly:

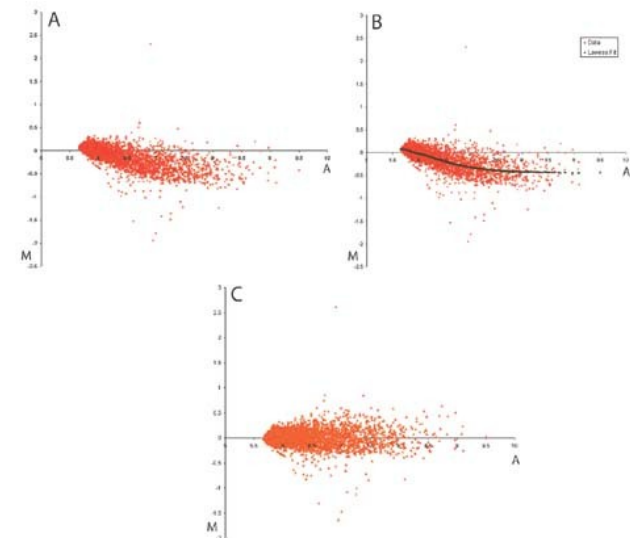
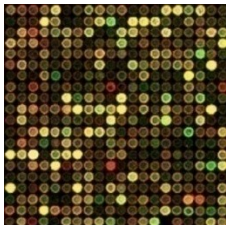
“Housekeeping” geny s „konstantní“ expresí ve tkáních  
 kontrolní genetický materiál (referenční vzorek)  
 kontroly účinnosti hybridizace – arteficiální sekvence

#### Negativní kontrola:

-pozadí hybridizace  
 -Affymetrix - mutace v jednom nukleotidu sondy

### *Odečtení pozadí*

– *background subtraction (gridding, local background, median, empty spot,...)*

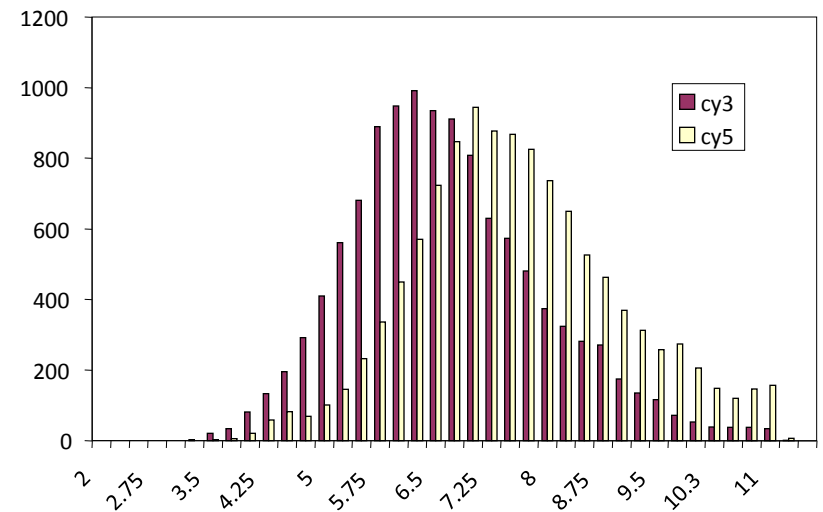


## Normalizace dat Cy3 a Cy5

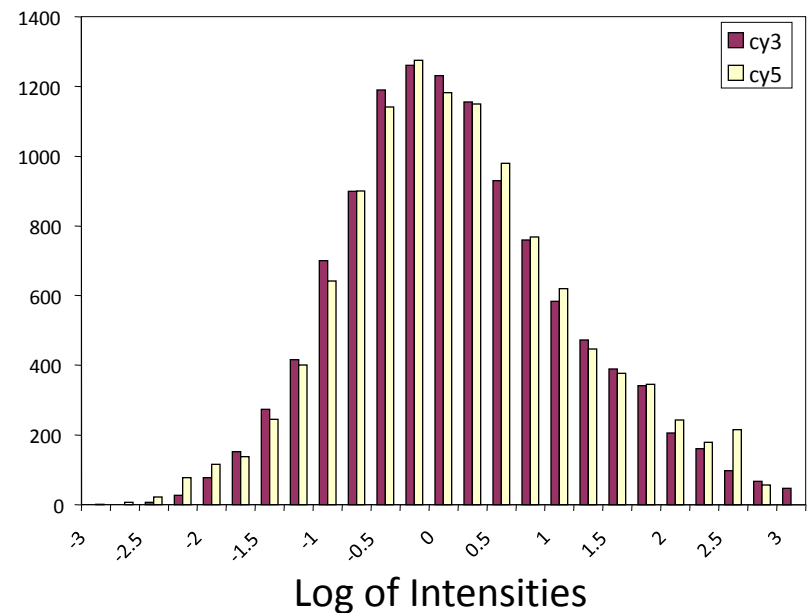
vybalancování rozdílného signálu ze značení Cy3 a Cy5

Jeho nerovnoměrnost může být způsobena:

- rozdílnou inkorporací barviva do NK
- rozdílným množstvím mRNA
- odlišnými parametry při skenování



Number of clones



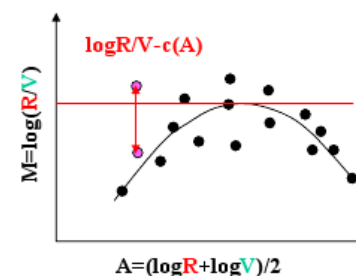
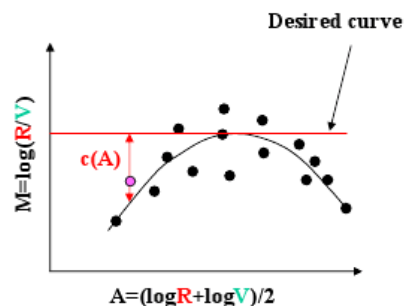
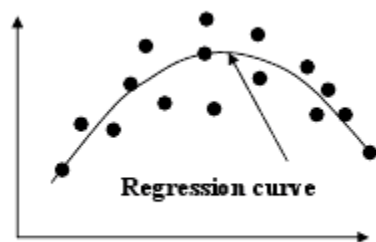
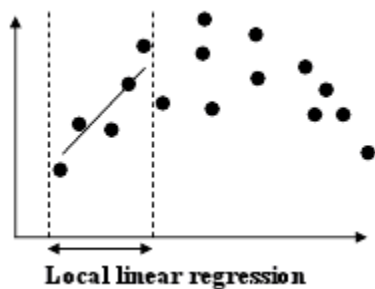
## Normalizace Lowess: princip

Loess (or lowess) : Locally WEighted Scatterplot Smoothing (vyhlazování)

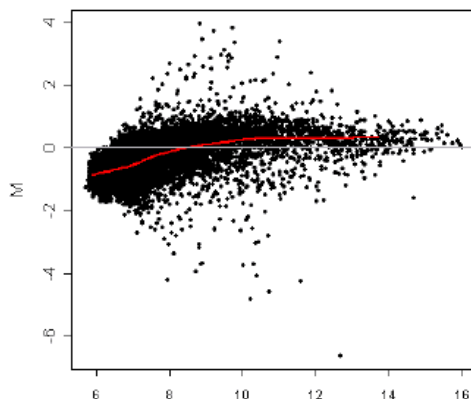
Normalizace závislá na intenzitě signálu

Místní lineární regrese

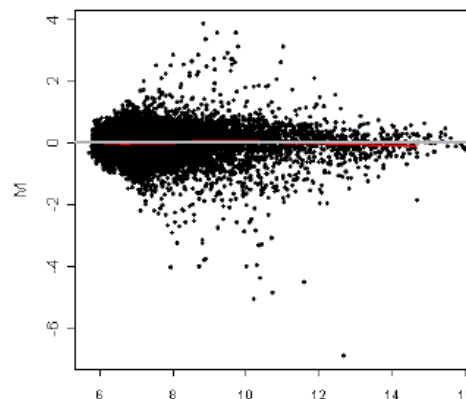
$$\log(R/V) \rightarrow \log(R/V) - c(A)$$



Before normalization

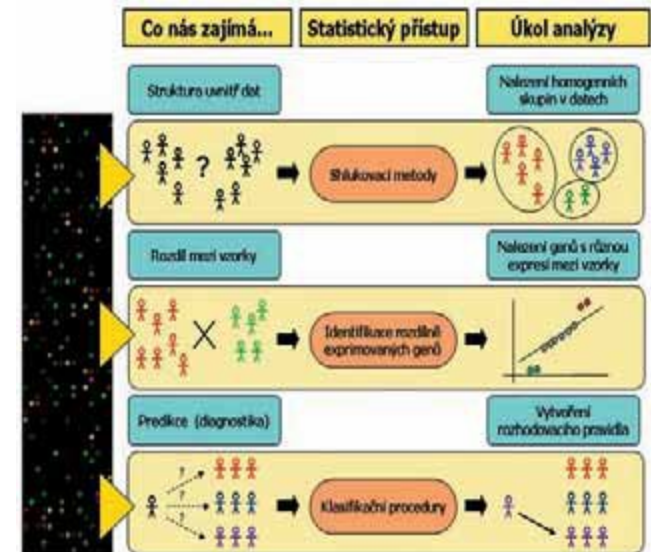
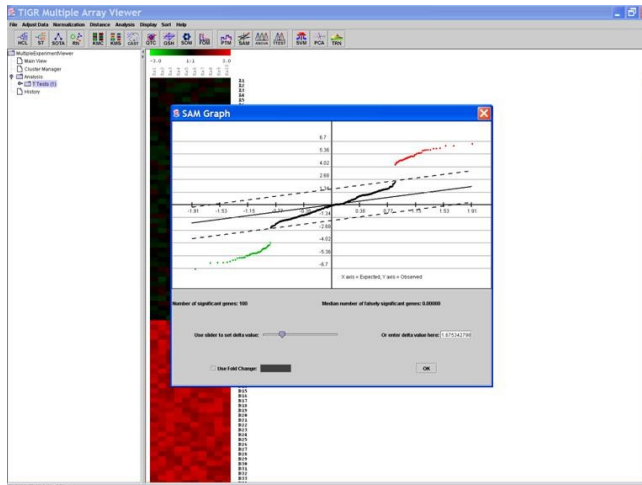


After normalization



# 1) Identifikace biologicky významných genů

- geny s reprodukovatelnou signifikantně rozdílnou expresí mezi jednotlivými podmínkami experimentu
- poměr exprese v jednotlivých experimentech
- t-test (test rozdílnosti průměrů exprese v jednotlivých skupinách)
- Significance Analysis of Microarrays (SAM)** založeno na t-testu
- Multifaktoriální ANOVA (nejsignifikantnější geny pro dané skupiny)



*TIGR MultipleExperiment Viewer (TMEV)*  
<http://www.tm4.org/>

## 2) Ukázky multidemenzionálních metod analýzy čipových dat

### *Shlukovací analýzy*

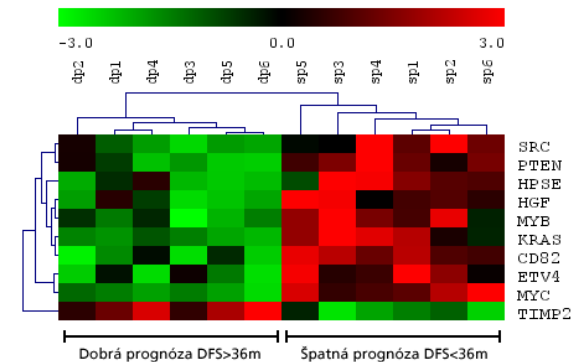
Shlukovací analýza je jednou z nejpoužívanějších vícerozměrných statistických metod

Jedná se o explorativní techniku, která se používá zejména v případech, kdy nemáme žádné *a priori znalosti* o struktuře uvnitř dat.

každý gen je reprezentován vektorem jehož souřadnice, jsou hodnoty exprese genu v jednotlivých experimentech, vzdálenost je měřena mezi vektory nebo centroidy

Ukolem shlukovacích metod je tedy najít v datech skupiny prvků (shluky) tak, že prvky jednotlivých skupin budou v jistém smyslu více podobné než prvky z jiných skupin, tzn. nalezené skupiny prvků budou co nejvíce homogenní

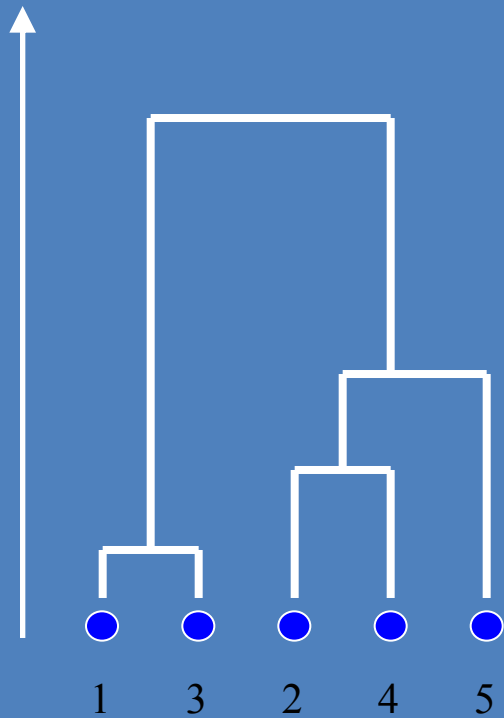
Snažíme se nalézt mezi zkoumanými geny (resp. biologickými vzorky) skupinky genů (resp. biologických vzorků), které vykazují v průběhu experimentu, tedy za působení specifických podmínek, podobné chování.





# Hierarchické klastrování

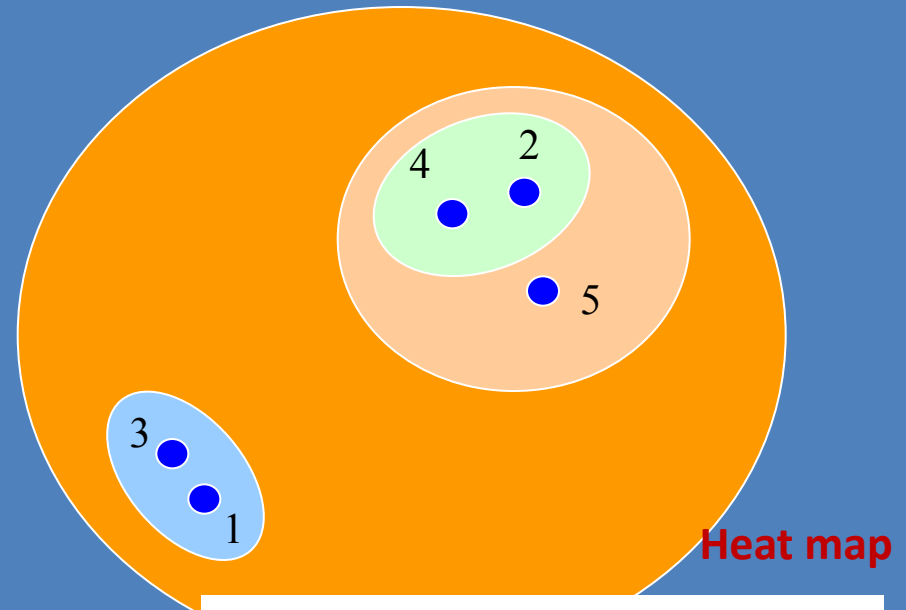
Vzdálenost mezi jednotlivými klastry



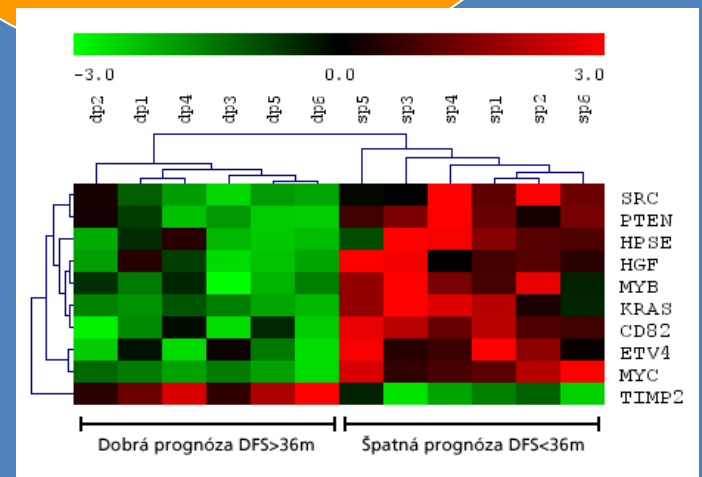
Dendrogram

Podobnost je vyjádřena hierarchickým stromem – dendrogramem.

- kalkulace vzdálenosti mezi všemi geny a nalezení nejmenší. K ní se seskupí všechny jí podobné a vytvoří se klastr.
- po vytvoření X počtu clusterů se hledají vzdálenosti mezi klastry (hierarchical clustering)
- počet klastrů není omezen



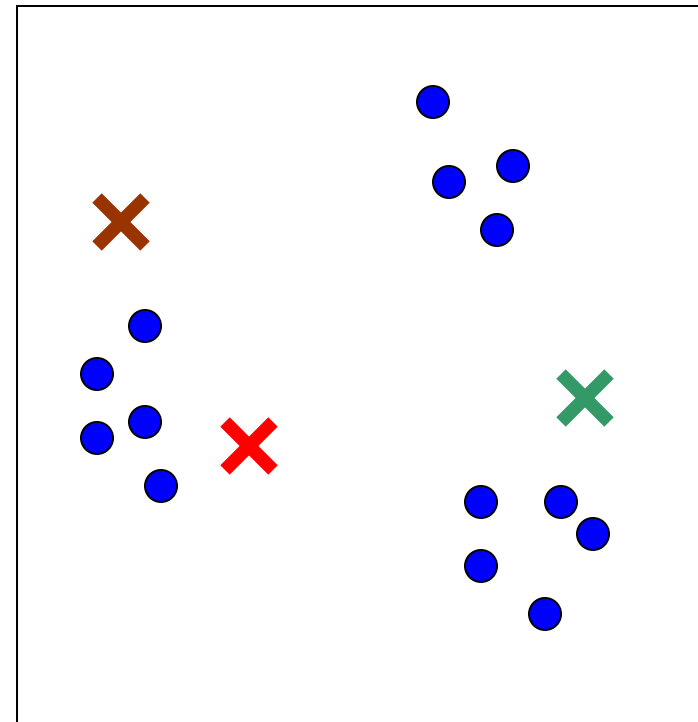
Heat map



# Centroidové metody - K-means

*minimalizovaná vnitroschluková variabilita a zároveň  
maximalizovaná mezishluková variabilita*

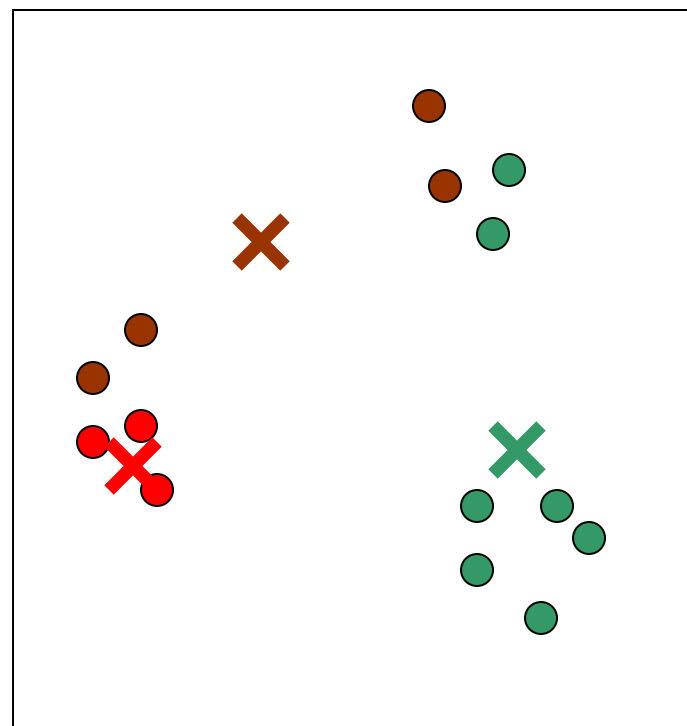
- start s náhodnou pozicí předem definovaného počtu K-centroidů
- opakovaný pohyb centroidů, dokud nedosáhnou stability a nezahrnou veškeré prvky systému



opakování = 0

# Centroidové metody - K-means

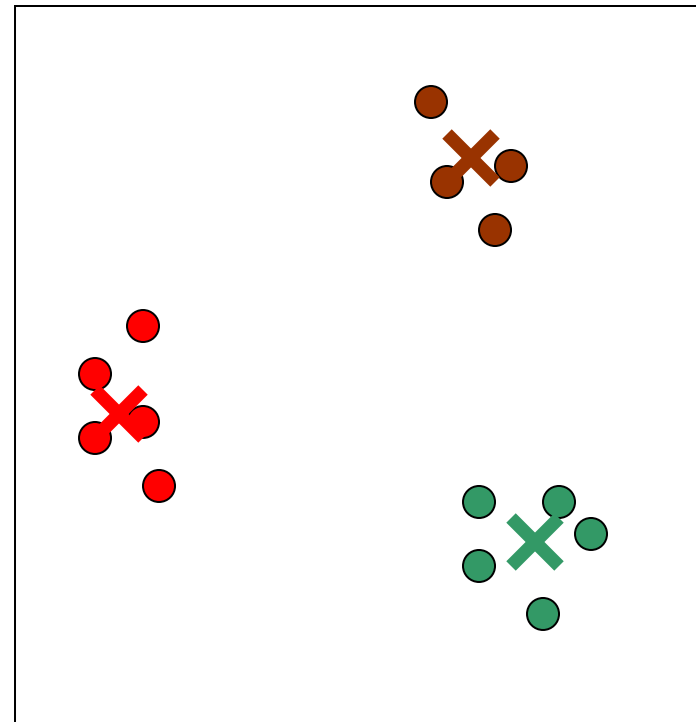
- start s náhodnou pozicí předem definovaného počtu K-centroidů
- opakovaný pohyb centroidů, dokud nedosáhnou stability a nezahrnou veškeré prvky systému



opakování = 1

# Centroidové metody - K-means

- start s náhodnou pozicí předem definovaného počtu K-centroidů
- opakovaný pohyb centroidů, dokud nedosáhnou stability a nezahrnou veškeré prvky systému



opakování = 3

### 3) Klasifikační metody

Principem klasifikačních metod v analýze dat z DNA čipů je vytvoření rozhodovacího pravidla, které by na základě naměřených hodnot genové exprese umožňovalo přiřazení pacienta do jedné z předem definovaných tříd (například zdravý, nemocný). Z toho je zřejmé, že by se „dobré“ rozhodovací pravidlo založené na expresních datech mohlo zařadit po bok stavajících diagnostických metod a výrazně tak přispět ke zpřesnění diagnostiky závažných onemocnění (klasifikační stromy, Support Vector Machines (SVM), metoda k-nejbližších sousedů,..)

#### MOLEKULÁRNÍ KLASIFIKACE NÁDORŮ:

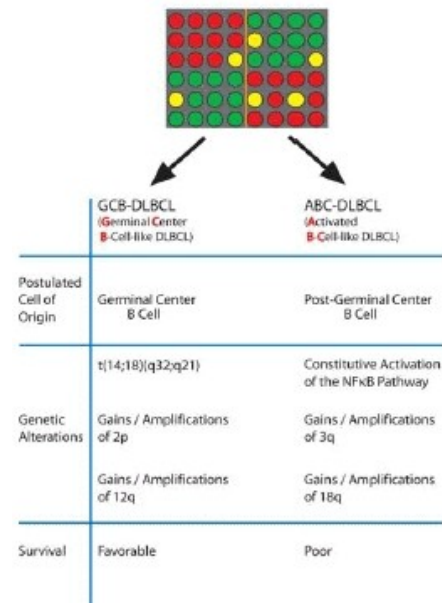
precizní klasifikace je základem léčebného úspěchu, současné metody jsou založeny na morfologii, imunohistochemii, genetice a klinické odpovědi

řada diagnostických nejasností (heterogenita)

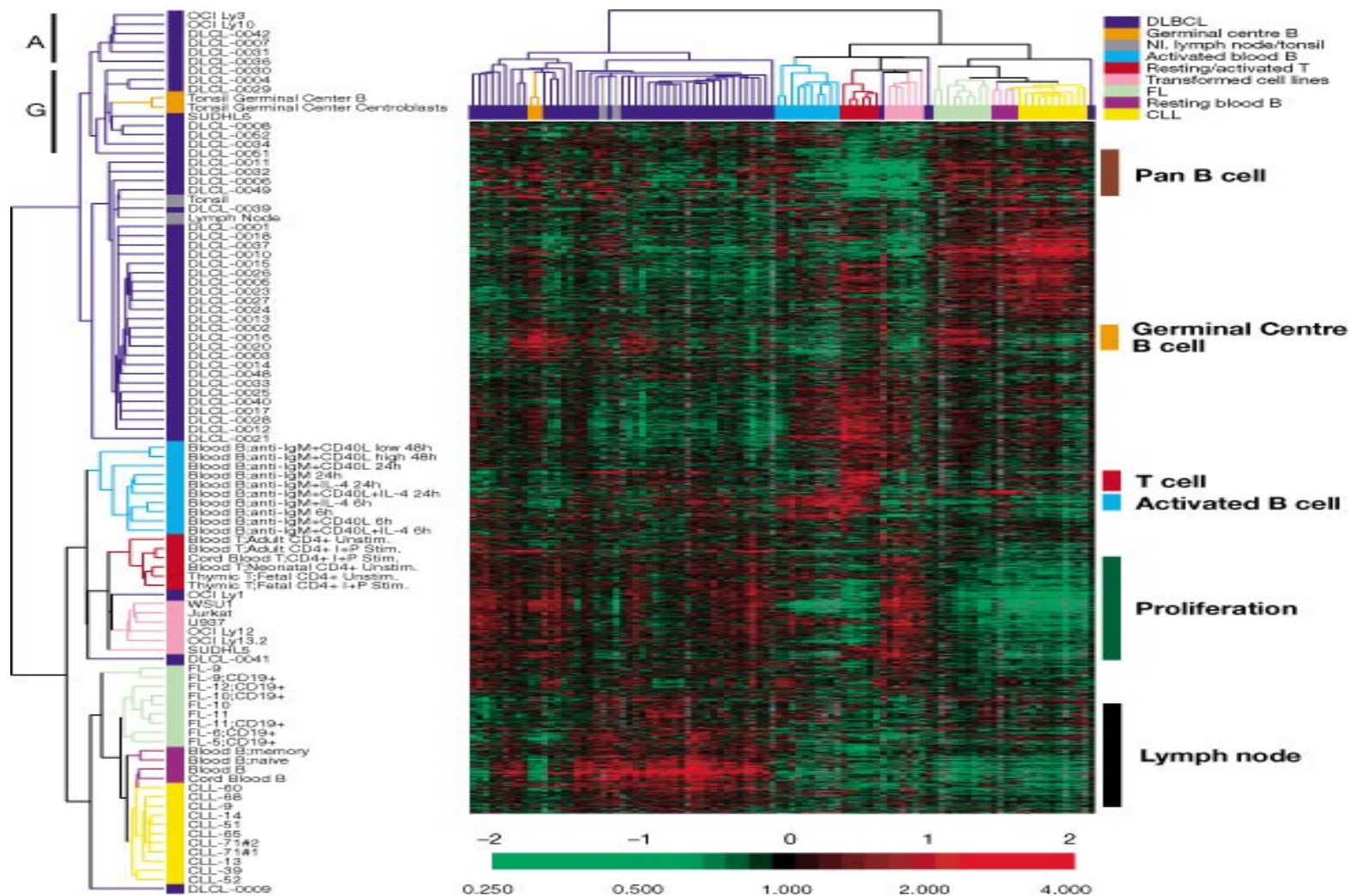
#### ČIPY:

- identifikace nových jednotek na podkladě profilu genové exprese
- reklasifikace stávajících jednotek
- identifikace skupin či jednotlivých genů „markerů“ specifických pro dané jednotky

Identification of Molecular Subgroups of Diffuse Large B-Cell Lymphoma (DLBCL)



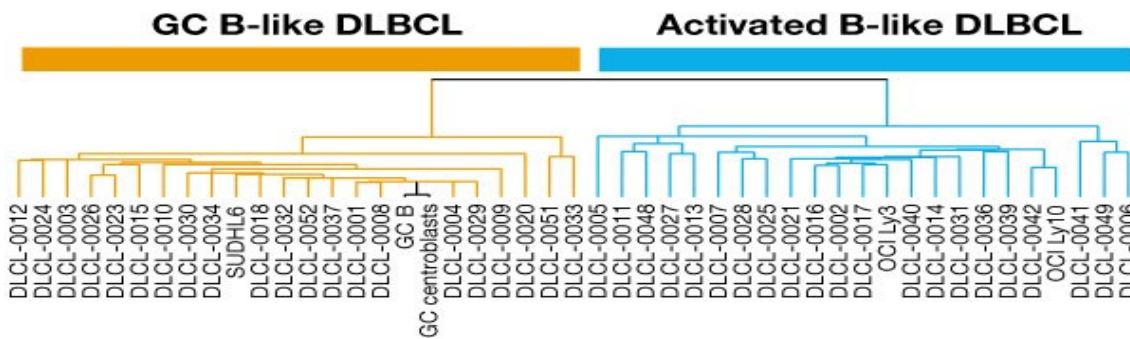
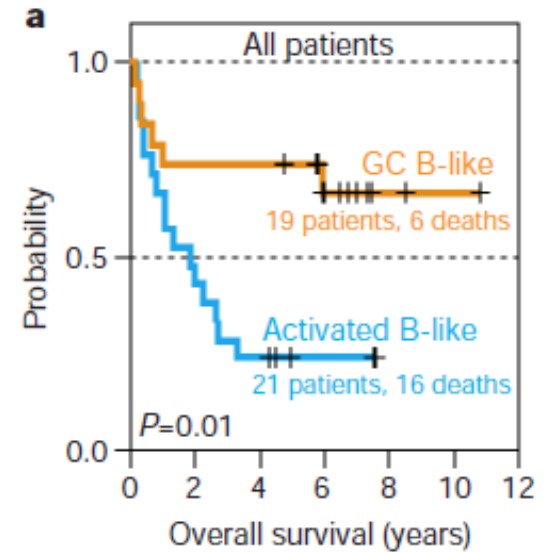
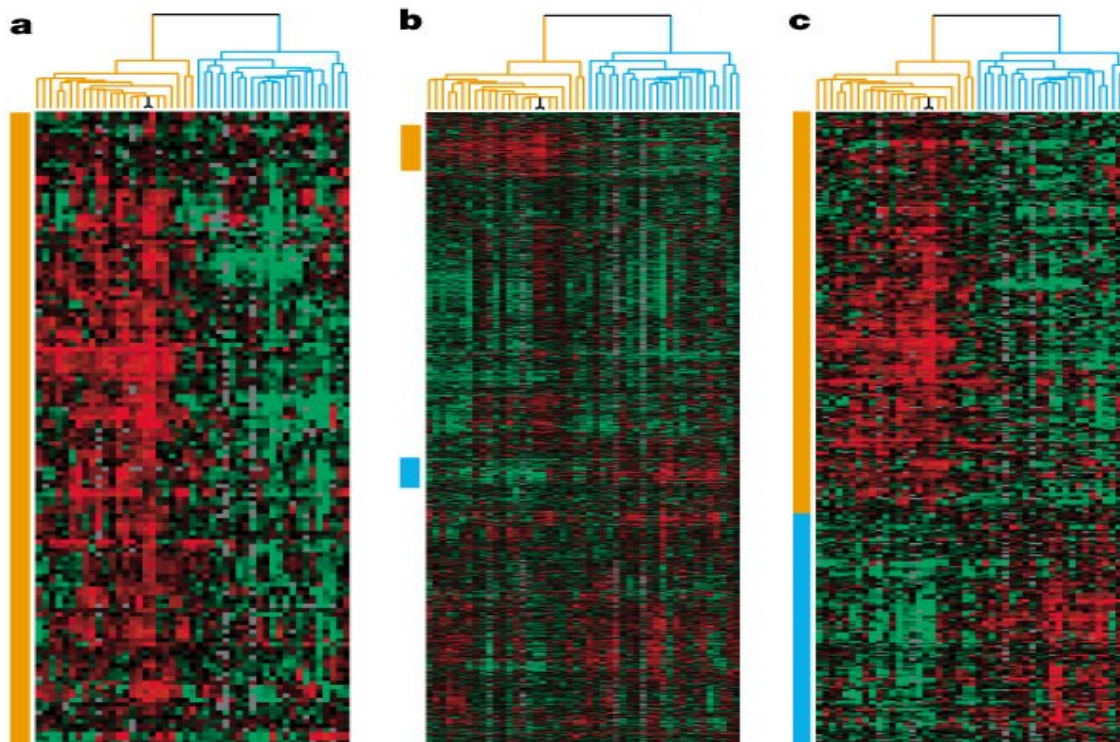
# Molekulární klasifikace velkobuněčného B-lymfomu

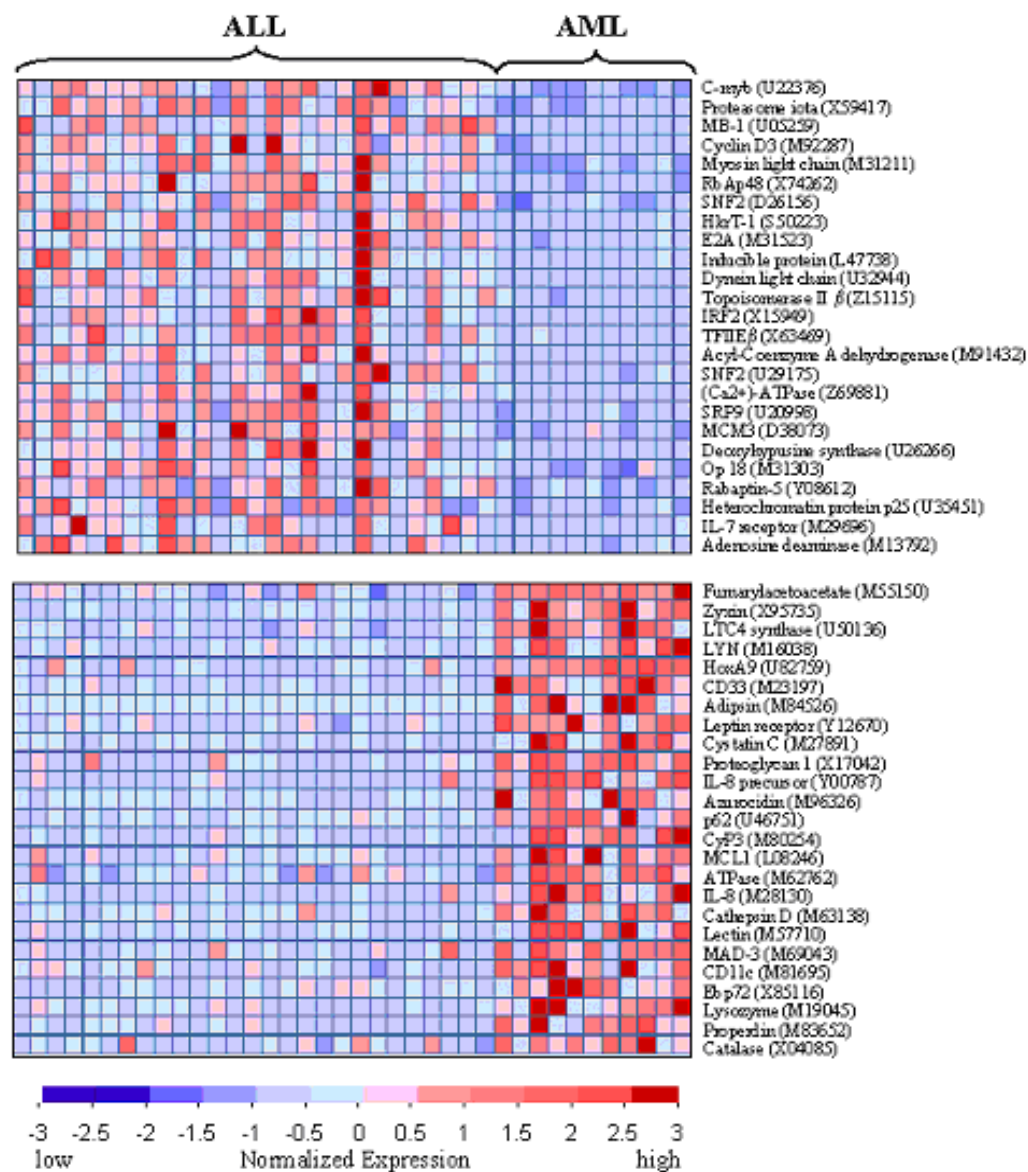


Vzato z: Nature February, 2000

Paper by Allzadeh. A et al *Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by Gene expression profiling,*

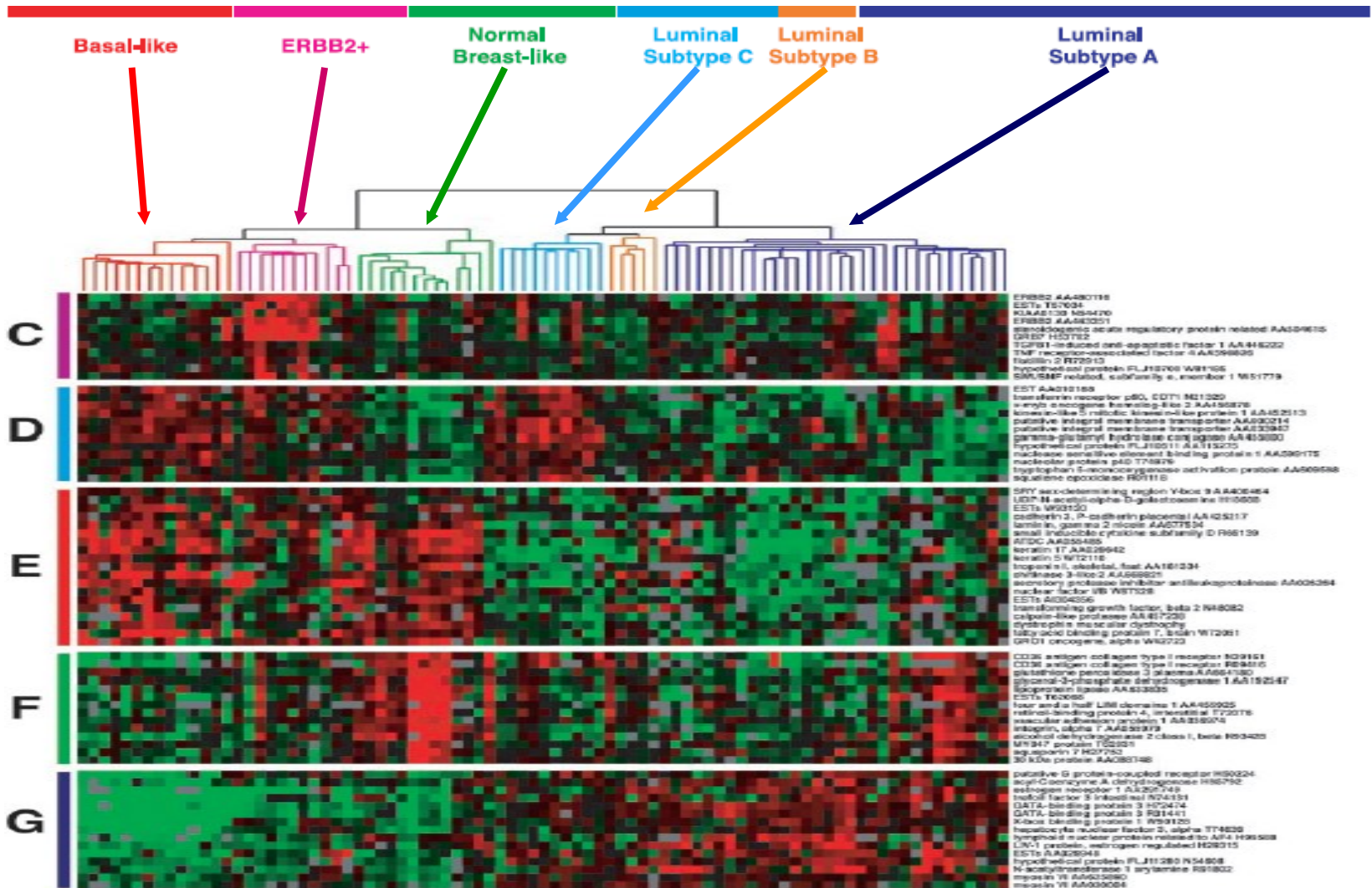




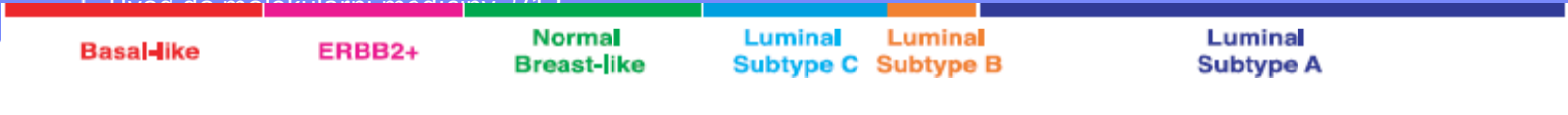




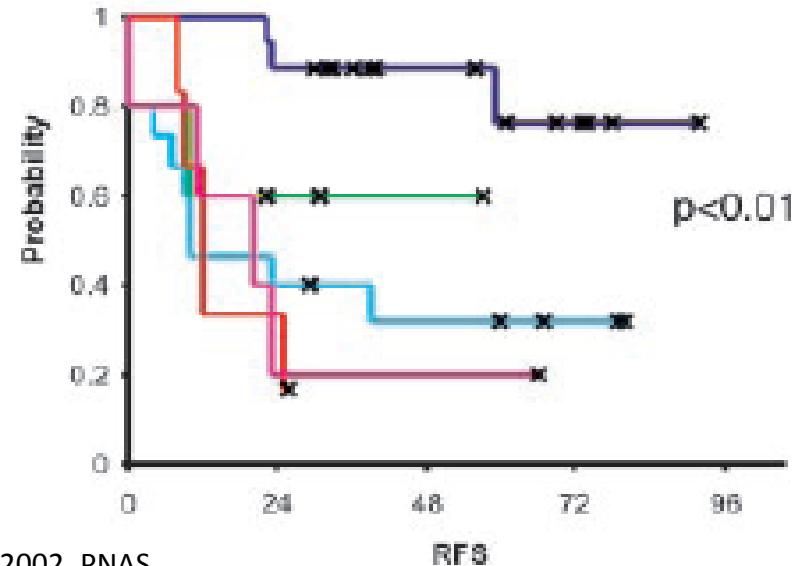
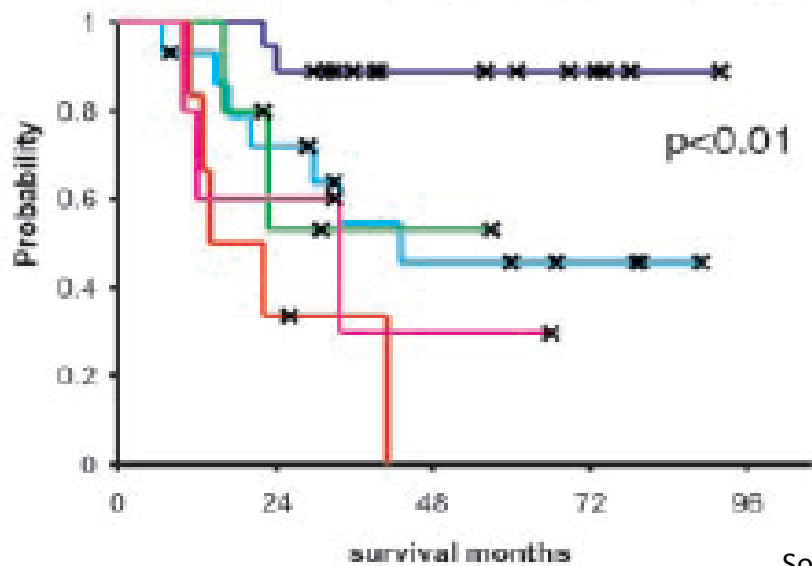
# Molekulární klasifikace karcinoma prsu



Sortie et al, 2002, PNAS



	Basal-like	ERBB2+	Normal Breast-like	Luminal Subtype C	Luminal Subtype B	Luminal Subtype A
<b>ER</b>	-/+	-/+	-/+	+ / +++	++	+++
<b>HER2</b>	-	+++	- / +	- / +	-	- / +
<b>p53mut</b>	82%	71%	33%	80%	40%	13%
<b>CK 5/6, 17</b>	+++	+/-	+++	-	-	-
<b>CK 8/18</b>	-	-	+	+ / +++	+ / +++	+++
<b>c-myb / ost.</b>	+++	+++	- / +	+++	-	-



Sorlie et al, 2002, PNAS

— Lum A, — Lum B+C, — NorB-like, — Basal, — ERBB2+

## Predikce metastatického potenciálu u pacientek s časnými stádii mamárního karcinomu

Van't Veer et al. (Nature, 2002)

96 sporadických mamárních karcinomů

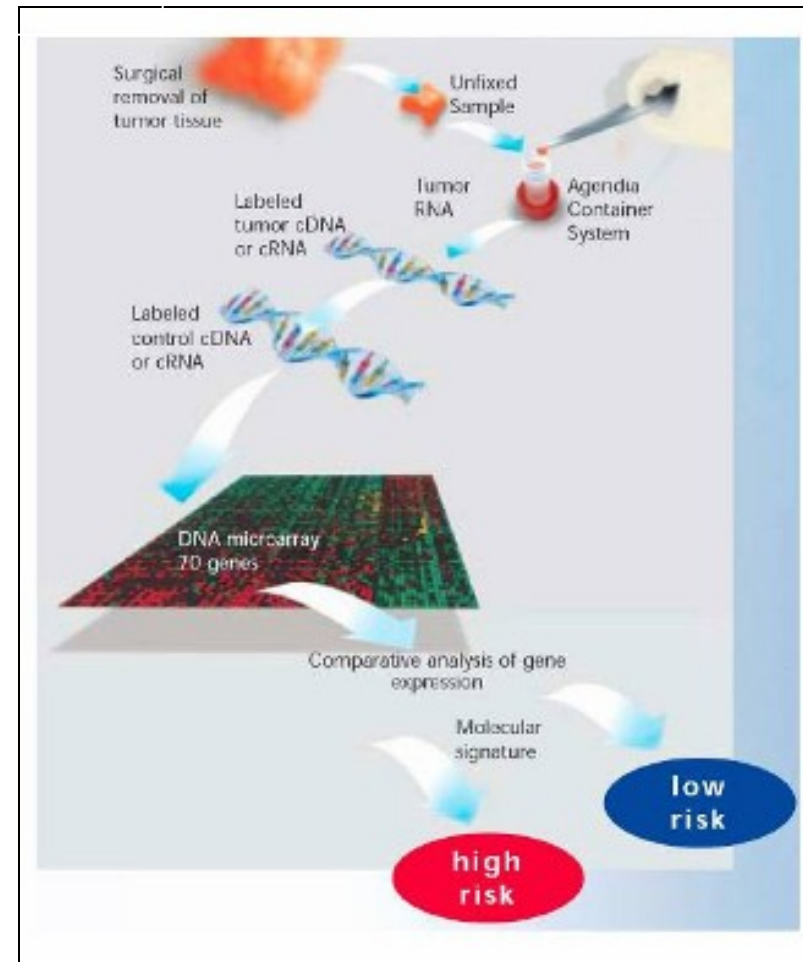
46 pacientek se špatnou prognózou (do 5 let se nevyvinuly vzdálené metastáze)

50 pacientek s dobrou prognózou (do 5 let se nevyvinuly vzdálené metastáze)

5852 genů se signifikantním rozdílem v expresi mezi skupinami

70 genů nejvíce korelujících s klinickým stavem použila pro klasifikaci

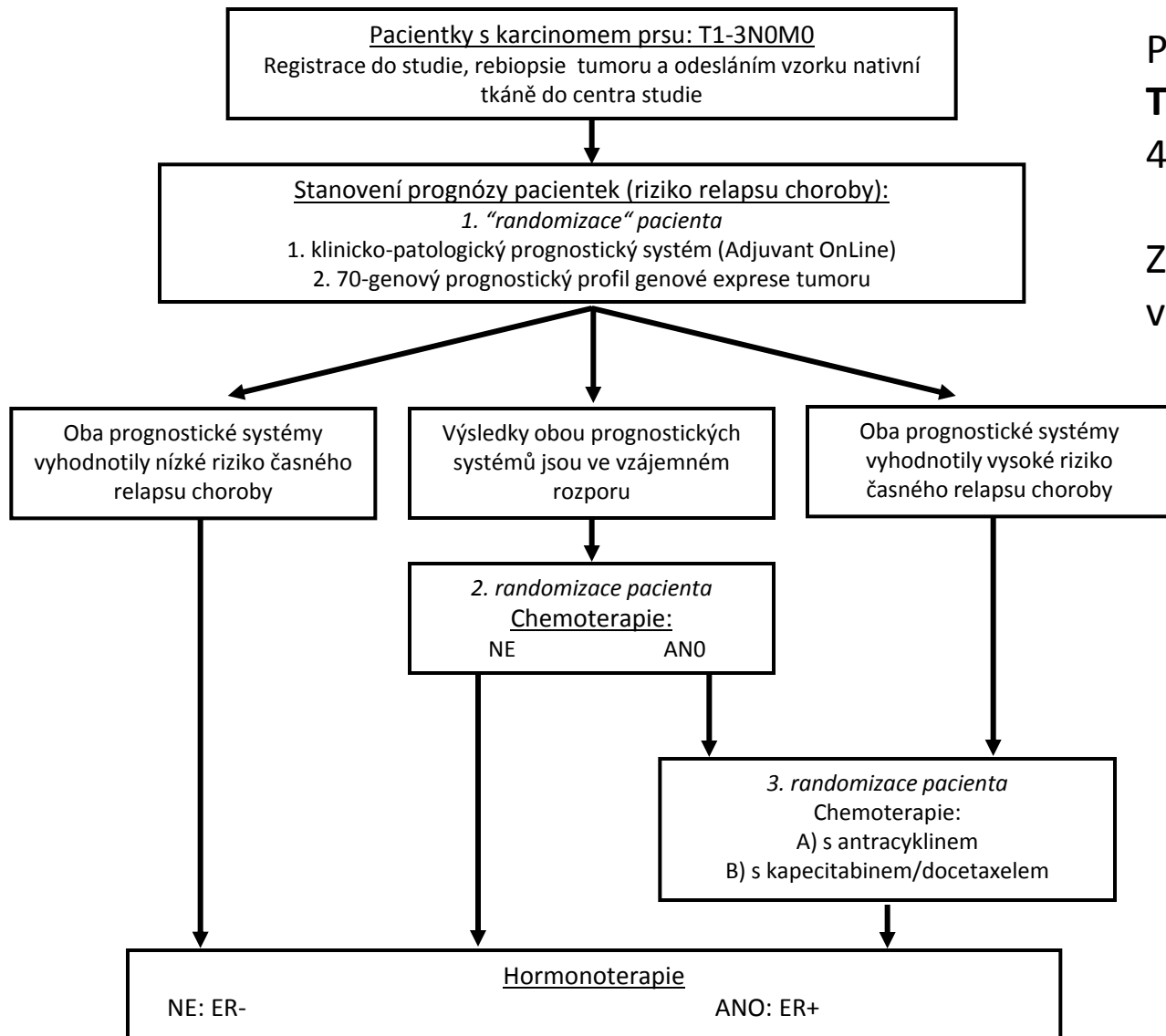
### AGENDIA



Sada 70 genů - patent

## PROTOKOL KLINICKÉ STUDIE „MINDACT“

(Microarray In Node negative Disease may Avoid ChemoTherapy)



Rozpočet ~ 20 mil. EUR

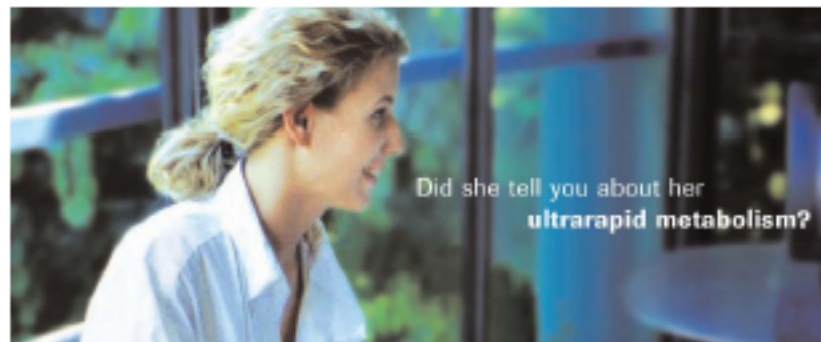
Pořádá síť  
**TRANSBIG**

40 institucí 21 zemí

Zařazení 5000 pacientek  
v prvních 3 letech

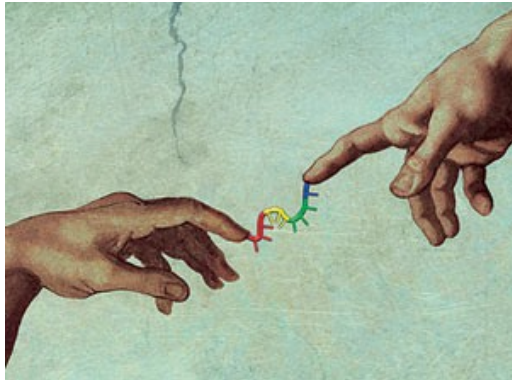
# Roche AmpliChip CYP450

- Approved for clinical use in US and EU
- Gene variations of CYP2D6 and CYP2C19
  - Metabolism of ~25% of all prescription drugs
  - Determine phenotype:  
poor, intermediate, extensive, or ultrarapid metabolizer
- Intended to be an aid for physicians
  - Individualized treatment and dosage



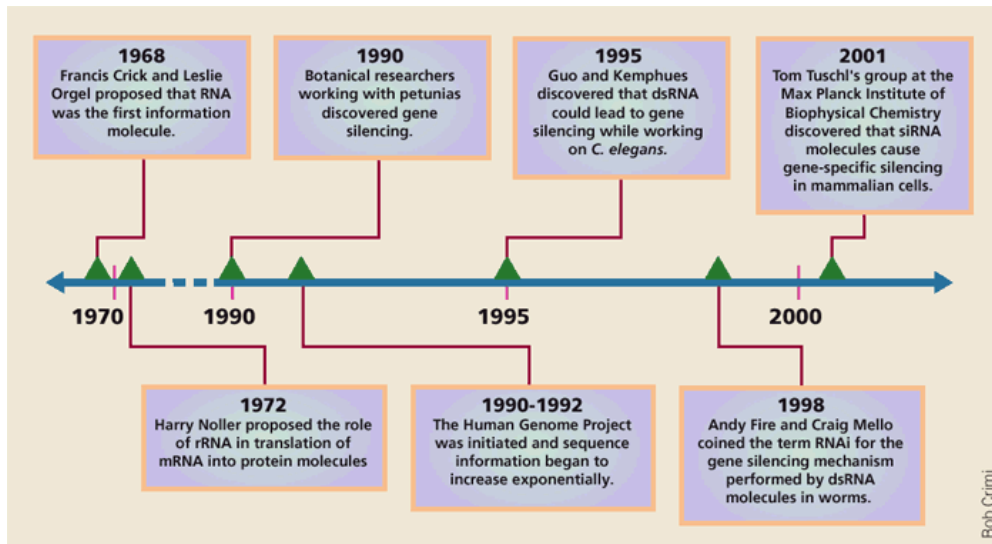
[www.roche.com](http://www.roche.com)  
[www.amplichip.us](http://www.amplichip.us)



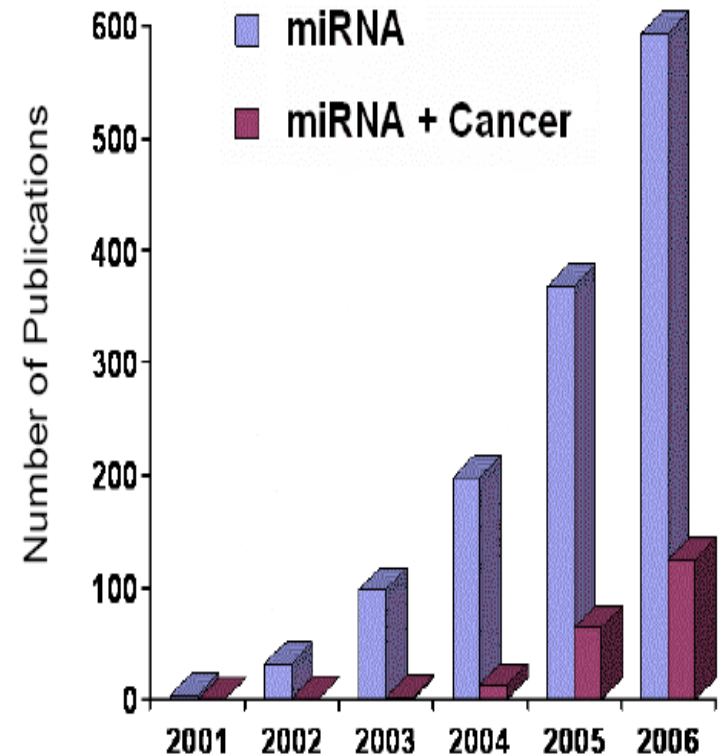


## mikroRNA: nová úroveň regulace genové exprese mikroRNA čipy

Proč se zabývat výzkumem mikroRNA?



Nature Biotechnology 21, 1441 - 1446 (2003)



5.10.2009 PubMed - „MicroRNA AND Cancer“ – 1562 odkazů  
„MicroRNA“ – 4989 odkazů

# Proč se zabývat výzkumem mikroRNA?

## The colorectal microRNAome

Jordan M. Cummins<sup>§</sup>, Yiping He<sup>§</sup>, Rebecca J. Leary<sup>†</sup>, Ray Pagliarini<sup>†</sup>, Luis A. Diaz, Jr.<sup>†</sup>, Tobias Sjoblom<sup>†</sup>, Omer Barad<sup>§</sup>, Zvi Bentwich<sup>‡</sup>, Anna E. Szafranska<sup>§</sup>, Emmanuel Labourier<sup>§</sup>, Christopher K. Raymond<sup>¶</sup>, Brian S. Roberts<sup>¶</sup>, Hartmut Juhl<sup>¶</sup>, Kenneth W. Kinzler<sup>†</sup>, Bert Vogelstein<sup>†,††</sup>, and Victor E. Velculescu<sup>†,††</sup>

PNAS | March 7, 2006 | vol. 103 | no. 10 | 3687–3692

## A microRNA expression signature of human solid tumors defines cancer gene targets

Stefano Volinia<sup>\*\*††</sup>, George A. Calin<sup>\*\*§</sup>, Chang-Gong Liu<sup>\*</sup>, Stefan Ambros<sup>§</sup>, Amelia Cimmino<sup>\*</sup>, Fabio Petrocca<sup>\*</sup>, Rosa Visone<sup>\*</sup>, Marilena Iorio<sup>\*</sup>, Claudia Roldo<sup>\*</sup>, Manuela Ferracin<sup>‡</sup>, Robyn L. Pruett<sup>‡</sup>, Nozomu Yanaihara<sup>§</sup>, Giovanni Lanza<sup>‡</sup>, Aldo Scarpa<sup>‡</sup>, Andrea Vecchione<sup>\*\*</sup>, Massimo Negrini<sup>‡</sup>, Curtis C. Harris<sup>§</sup>, and Carlo M. Croce<sup>\*\*††</sup>

PNAS | February 14, 2006 | vol. 103 | no. 7 | 2257–2261

## A MicroRNA Signature Associated with Prognosis and Progression in Chronic Lymphocytic Leukemia

George Adrian Calin, M.D., Ph.D., Manuela Ferracin, Ph.D., Amelia Cimmino, M.D., Ph.D., Gianpiero Di Leva, Ph.D., Masayoshi Shimizu, B.S., Sylwia E. Wojcik, M.Sc., Marilena V. Iorio, Ph.D., Rosa Visone, Ph.D., Nurettin Ilfer Sever, Ph.D., Muller Fabbri, M.D., Rodolfo Iuliano, Ph.D., Tiziana Palumbo, Ph.D., Flavia Pichiorri, Ph.D., Claudia Roldo, M.D., Ramiro Garzon, M.D., Cinzia Sevignani, Ph.D., Laura Rassenti, Ph.D., Hansjuerg Alder, Ph.D., Stefano Volinia, Ph.D., Chang-gong Liu, Ph.D., Thomas J. Kipps, M.D., Ph.D., Massimo Negrini, Ph.D., and Carlo M. Croce, M.D.

N ENGL J MED 353:17 WWW.NEJM.ORG OCTOBER 27, 2005

## MicroRNA Gene Expression Deregulation in Human Breast Cancer

Marilena V. Iorio,<sup>1</sup> Manuela Ferracin,<sup>2</sup> Chang-Gong Liu,<sup>1</sup> Angelo Veronese,<sup>2</sup> Riccardo Spizzo,<sup>2</sup> Silvia Sabbioni,<sup>2</sup> Eros Magri,<sup>2</sup> Massimo Pedriali,<sup>2</sup> Muller Fabbri,<sup>1</sup> Manuela Campiglio,<sup>3</sup> Sylvie Ménard,<sup>4</sup> Juan P. Palazzo,<sup>4</sup> Anne Rosenberg,<sup>2</sup> Piero Masiiani,<sup>6</sup> Stefano Volinia,<sup>1</sup> Italo Nenci,<sup>2</sup> George A. Calin,<sup>1</sup> Patrizia Querzoli,<sup>2</sup> Massimo Negrini,<sup>2</sup> and Carlo M. Croce<sup>1</sup>

Cancer Res 2005; 65: (19). August 15, 2005

## MicroRNA expression profiles classify human cancers

Jun Lu<sup>1,4,†</sup>, Gad Getz<sup>1,†</sup>, Eric A. Miska<sup>2,††</sup>, Ezequiel Alvarez-Saavedra<sup>2</sup>, Justin Lamb<sup>1</sup>, David Peck<sup>1</sup>, Alejandro Sweet-Cordero<sup>3,4</sup>, Benjamin L. Ebert<sup>1,4</sup>, Raymond H. Mak<sup>1,4</sup>, Adolfo A. Ferrando<sup>5</sup>, James R. Downing<sup>5</sup>, Tyler Jacks<sup>2,5</sup>, H. Robert Horvitz<sup>2</sup> & Todd R. Golub<sup>1,4,6</sup>

nature

Vol 435|9 June 2005|doi:10.1038/nature03702

## MicroRNA expression alterations are linked to tumorigenesis and non-neoplastic processes in pancreatic ductal adenocarcinoma

A.E. Szafranski<sup>1</sup>, T.S. Davison<sup>1</sup>, J. John<sup>1</sup>, T. Cannon<sup>1</sup>, B Sipsos<sup>2</sup>, A Maghnouj<sup>3</sup>, E. Labourier<sup>1,4</sup> and SA Hahn<sup>1,4</sup>

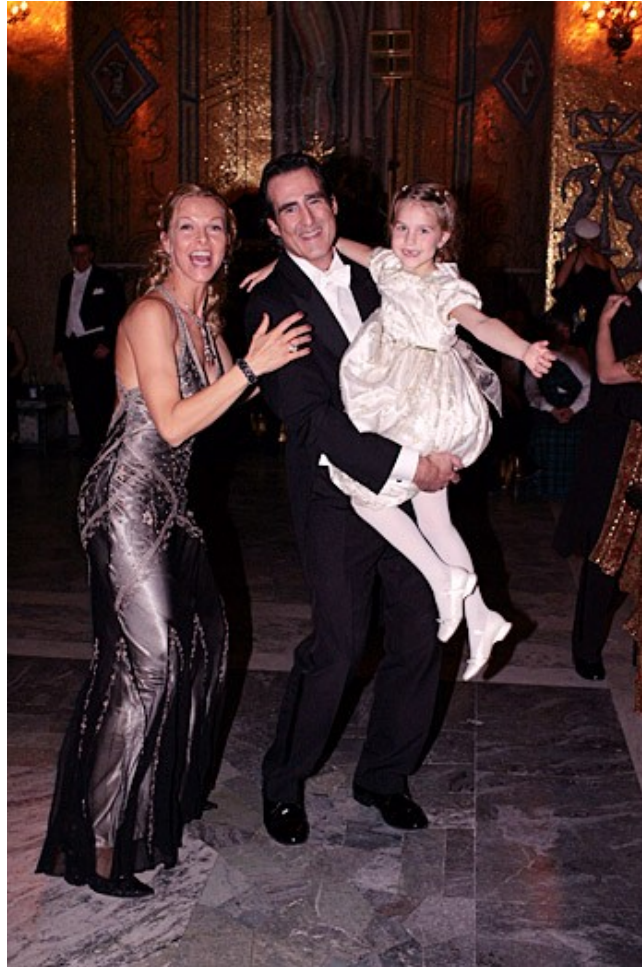
Oncogene (2007), 1–11

## Unique microRNA molecular profiles in lung cancer diagnosis and prognosis

Nozomu Yanaihara,<sup>1</sup> Natasha Caplen,<sup>2</sup> Elise Bowman,<sup>1</sup> Masahiro Seike,<sup>1</sup> Kensuke Kumamoto,<sup>1</sup> Ming Yi,<sup>3</sup> Robert M. Stephens,<sup>3</sup> Aikou Okamoto,<sup>4</sup> Jun Yokota,<sup>5</sup> Tadao Tanaka,<sup>4</sup> George Adrian Calin,<sup>6</sup> Chang-Gong Liu,<sup>6</sup> Carlo M. Croce,<sup>6</sup> and Curtis C. Harris<sup>1,\*</sup>

CANCER CELL 9, 189–198, MARCH 2006 ©2006 ELSEVIER INC. DOI 10.1016/j.ccr.2006.01.025

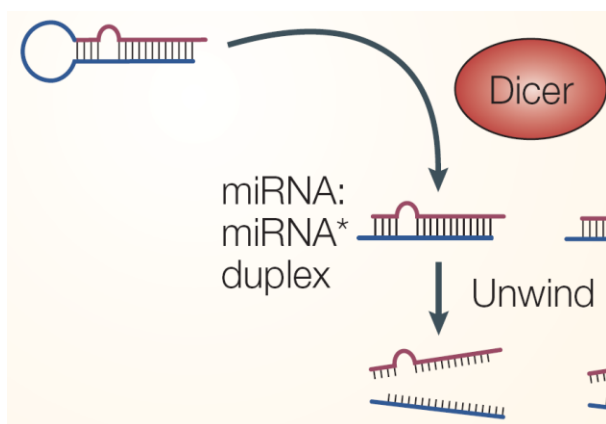
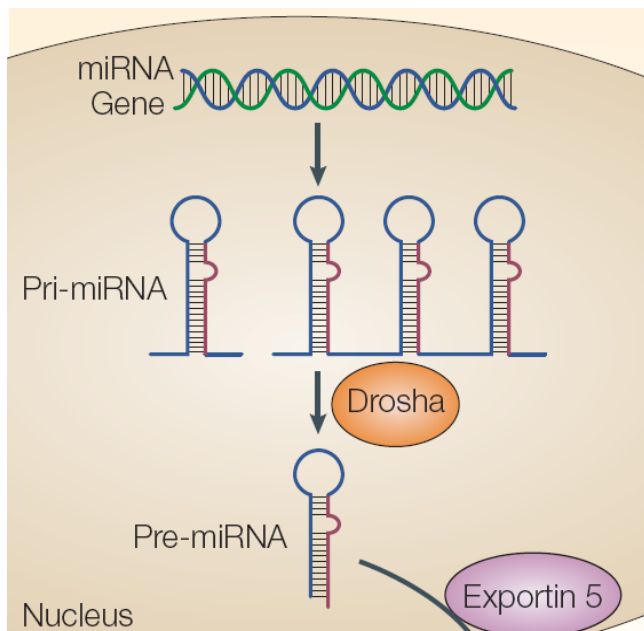
## Proč se zabývat výzkumem mikroRNA?



Craig Mello na slavnostním banketu po udílení Nobelových cen za rok 2006.



## Biogeneze a funkce mikroRNA

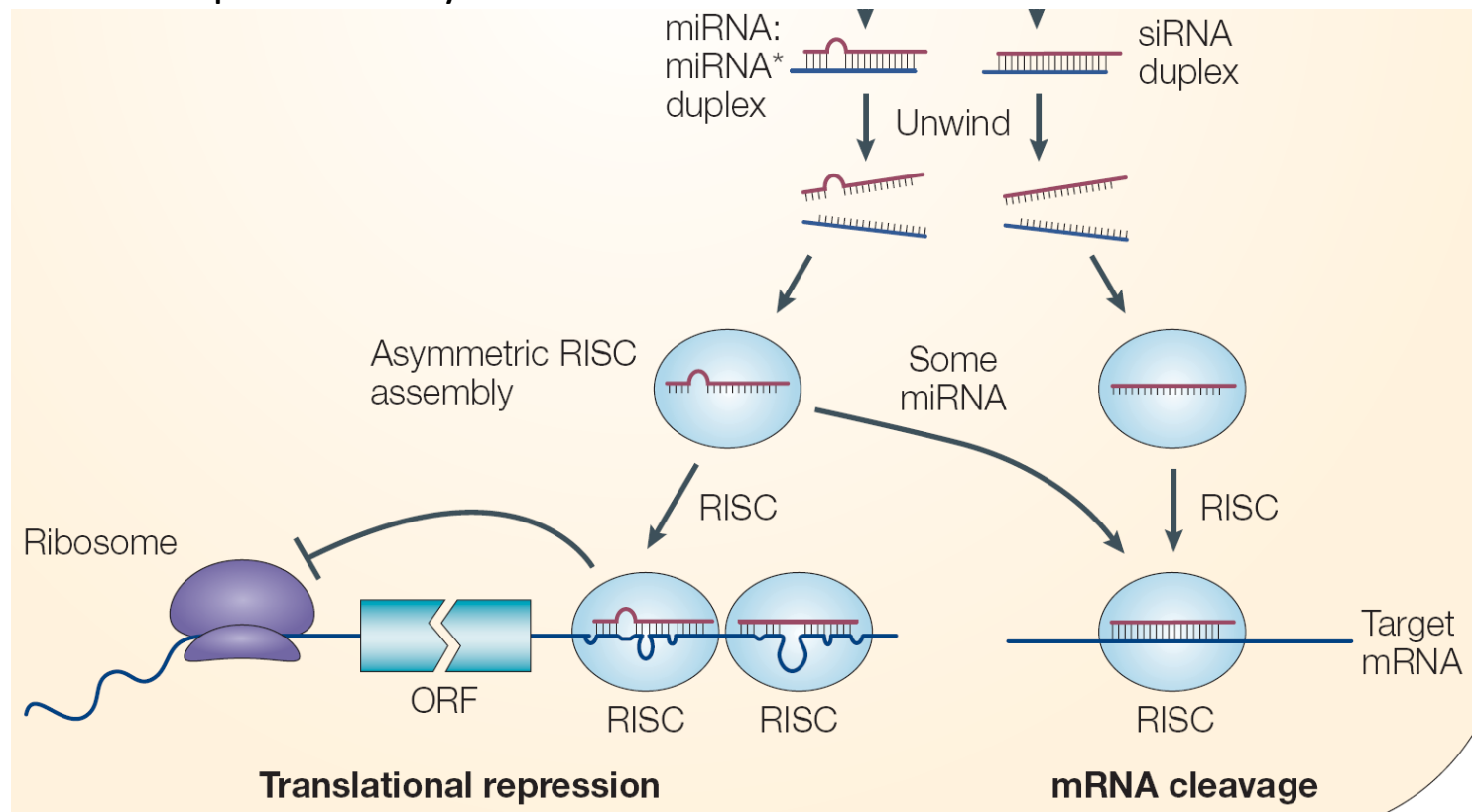


1. Transkripce miRNA genu
2. pri-miRNA jsou zpracovány pomocí RNáz Drosha a Pasha
3. pre-miRNA exportovány pomocí Exportinu 5 do cytoplazmy
4. Zpracování pomocí RNázy Dicer

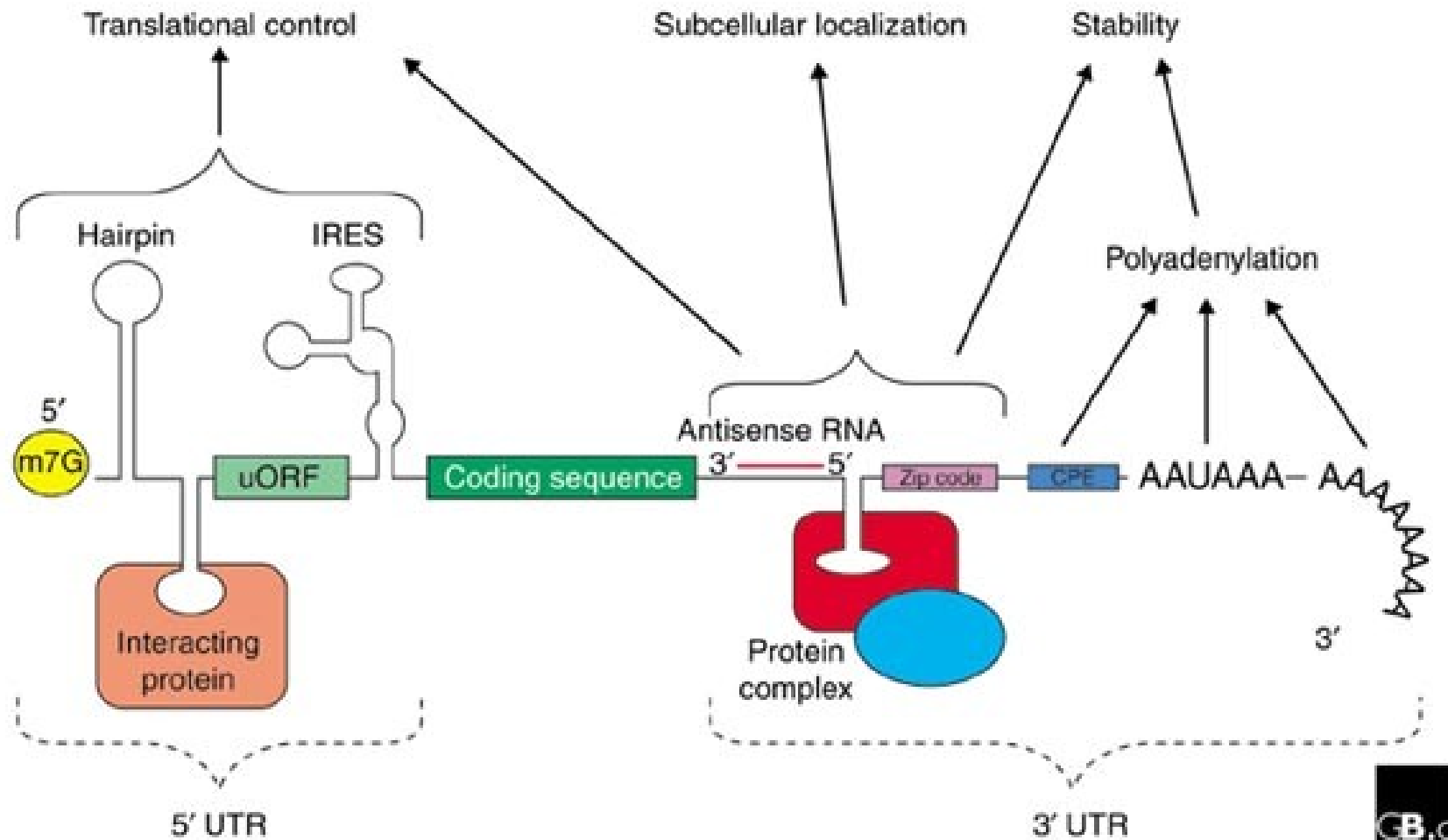
microRNA: licensed to kill messenger

5. Aktivní vlákno je inkorporováno do komplexu RISC
6. Represe translace nebo degradace mRNA v závislosti na míře komplementarity

## Biogeneze a funkce mikroRNA

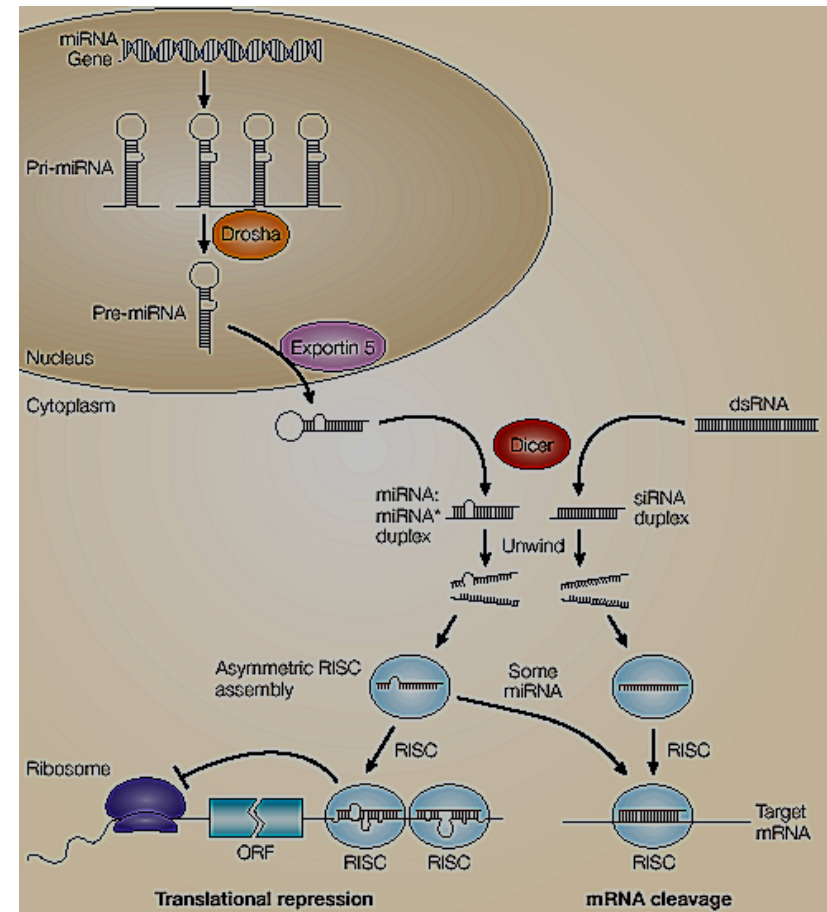


## Struktura mRNA - interakce regulačních oblastí



## Jaký je rozdíl mezi miRNA a siRNA?

- Funkce obou je regulace exprese
- siRNA je původem dsRNA
- siRNA souvisí s cizorodou RNA (obvykle virovou) a je 100% komplementární
- miRNA je původně ssRNA, která formuje vlásenkové dsRNA struktury
- miRNA reguluje post-transkripční genovou expresi



He and Hannon, *Nature Reviews Genetics*, 2004

## Základní fakta o mikroRNA

miRNA poprvé popsal Ambros a kol. (1993) u *C. elegans* (lin-4)

Přibližně 3% predikovaných lidských genů jsou geny pro miRNA (přibližně 1000 miRNA)

miRNA mají potenciál regulovat asi 1/3 kódujících genů

Některé miRNA jsou kódovány více než jedním genem

Geny kódující miRNA jsou často klastrovány (klastr miR-17)

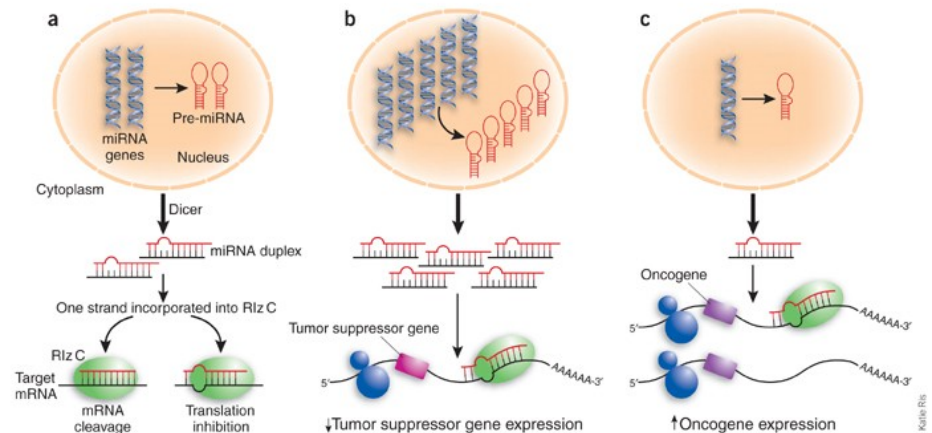
Geny miRNA jsou lokalizovány v mezigenových oblastech

v intronových oblastech nebo antisense řetězcích známých genů

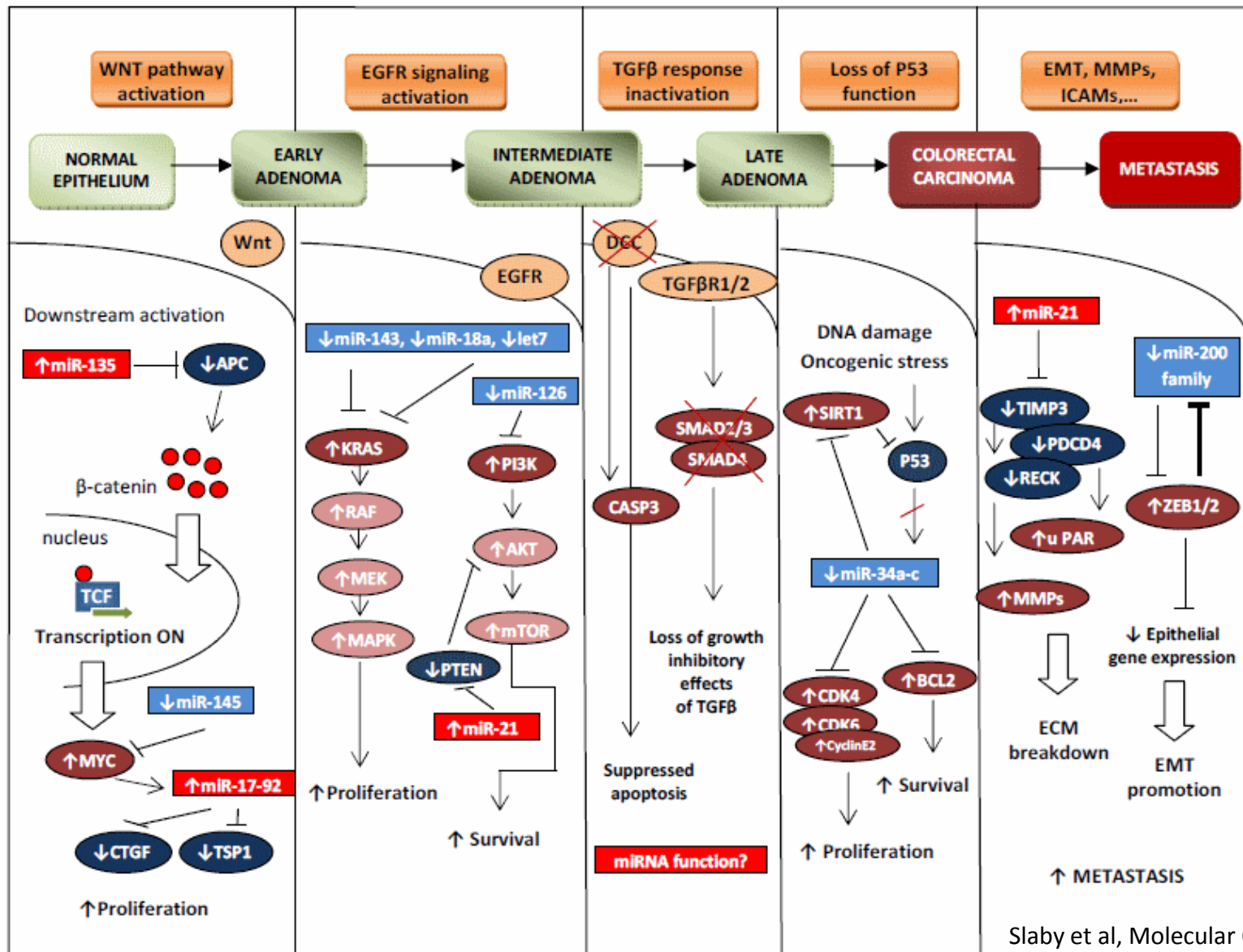
miRNA family members can be very similar eg let-7 family:

```

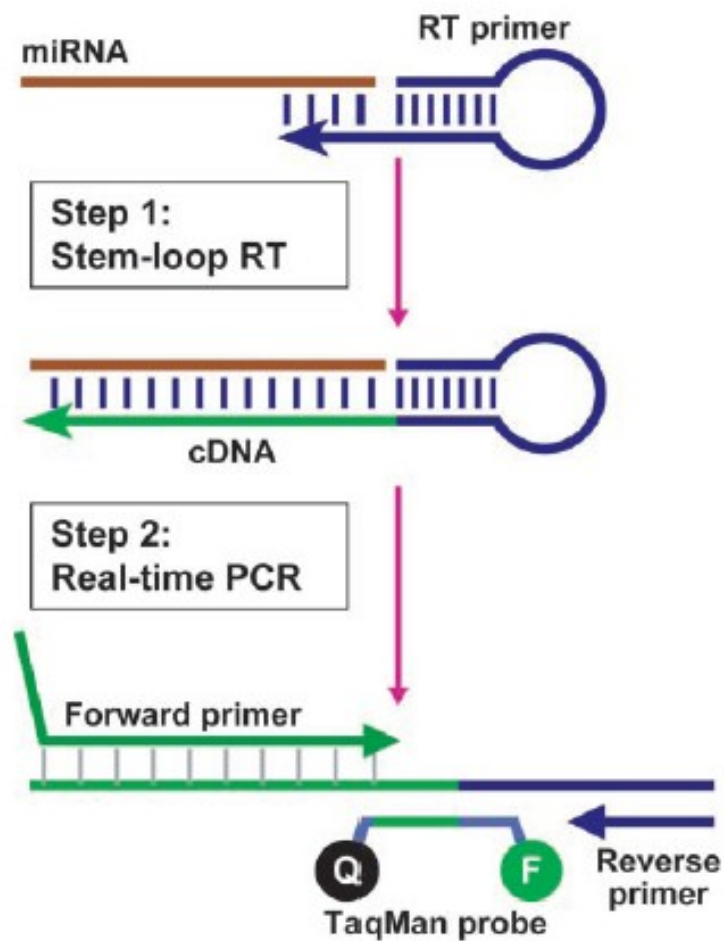
mmu-let-7a:  UGAGGUAGUAGGUUGUAUAGUU
mmu-let-7b:  UGAGGUAGUAGGUUGUGUGGUU
mmu-let-7c:  UGAGGUAGUAGGUUGUAUGGUU
mmu-let-7d:  AGAGGUAGUAGGUUGCCAUAGUU
mmu-let-7e:  UGAGGUAGGAGGUUGUAUAGUU
mmu-let-7f:  UGAGGUAGUAGAUUGUAUAGUU
mmu-let-7g:  UGAGGUAGUAGUUUGUACAGUU
mmu-let-7i:  UGAGGUAGUAGUUUGGCUGUU
  
```



## Zapojení mikroRNA do Vogelsteinova modelu kolorektálního karcinomu



## Real-Time PCR – modifikovaná TaqMan technologie ke kvantifikaci miRNA



## mikroRNA čipy

Hybridizační čipy – analogická technologie jako u DNA čipů

*Ambion, Exiqon, Agilent, Affymetrix, Invitrogen NCode*

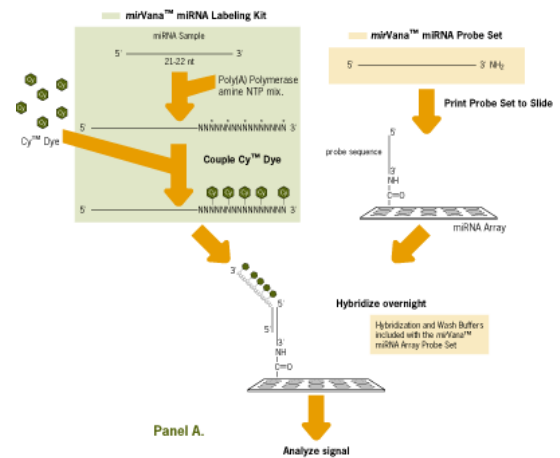
## Real-Time PCR čipy

*Applied Biosystems*

*Low density arrays (LDA)*

*microRNA array verze 2.0 (panel A+B)*

*QuantiMir, SABiosciences, miRANDA*

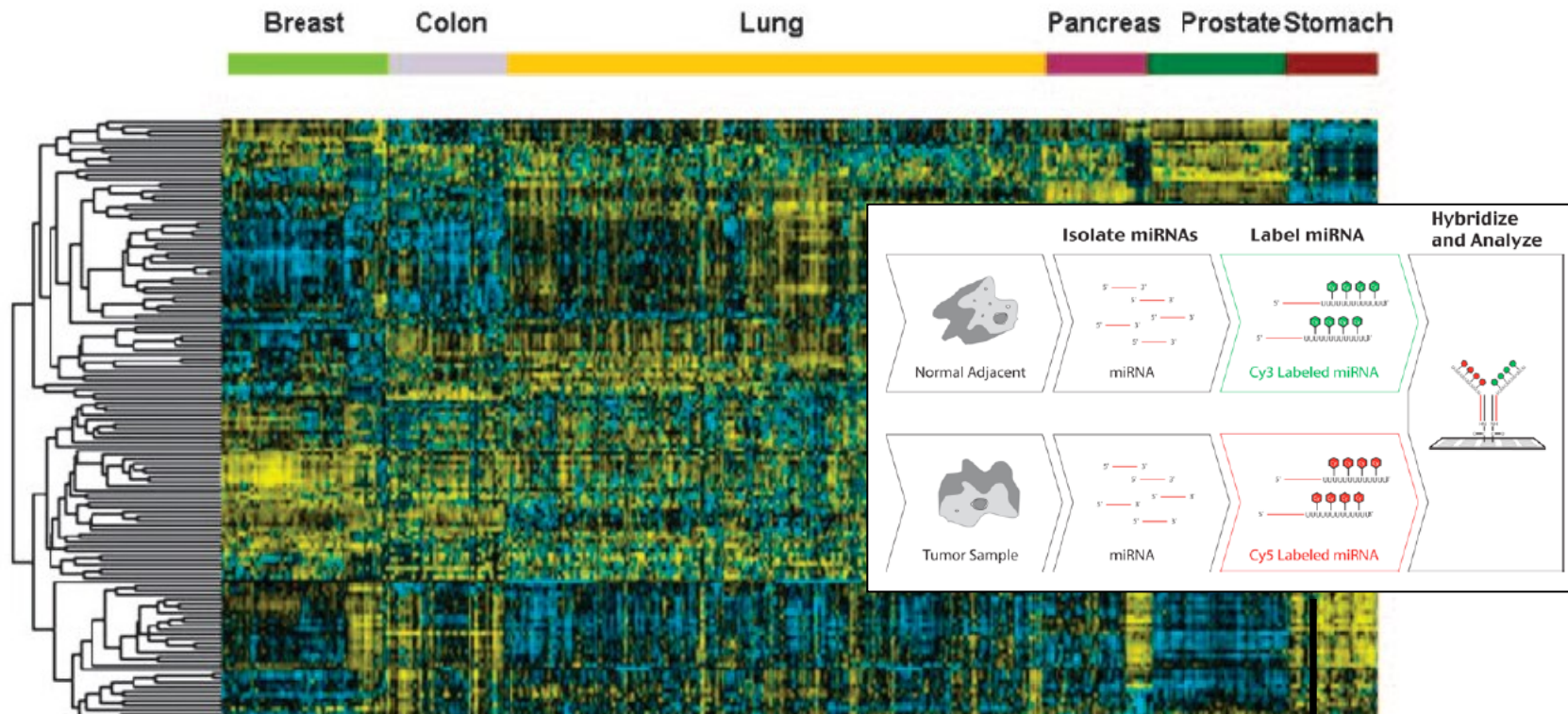


LDA mikrofluidní destička (384 miRNA)



# Význam mikroRNA v nádorové biologii

Rozdílné expresní profily mezi nádorovou a nenádorovou tkání



Volinia et al., PNAS, 2006

Shluková analýza 540 vzorků šesti druhů solidních nádorů a příslušných nenádorových tkání.

Žlutá znamená zvýšenou expresi oproti kontrolnímu (nenádorovému) vzorku

## Example Cancer MicroRNA Expression Profile Setup

### QuantiMir cDNA synthesis

Use QuantiMir to synthesize cDNA from your RNA Samples



2 hours

### SYBR Green MasterMix

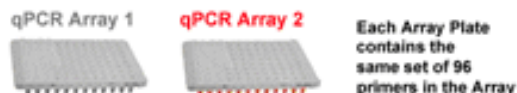
Combine QuantiMir cDNA + Reverse Primer + SYBR Green MasterMix



30 minutes

Load Oligos and MasterMix into qPCR optical plate

Aliquot 30 µl MasterMix into each well  
Each plate contains 95 miRNA genes and U6 control



30 minutes

Run Real-time PCR

Perform qPCR Thermal Cycling  
Collect real-time data according to your instrument's specifications



1.5 hours

Normalize 2 plates with U6 levels and Calculate fold changes present in 95 different miRNAs

Analyze Fold Changes in MicroRNA Expression

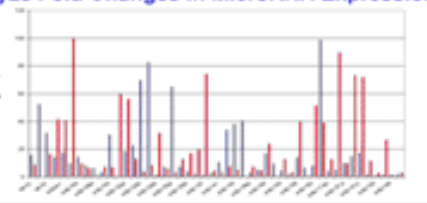


Plate Array Arrangement

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
let-7-Family	miR-7	miR-92	miR-93	miR-9-1	miR-101-1	miR-103	miR-106a	miR-106b	miR-107	miR-10b	miR-1-1		
B	miR-122a	miR-125a	miR-125b	miR-126	miR-128b	miR-132	miR-133a	miR-134	miR-135b	miR-136	miR-137	miR-140	
C	miR-141	miR-142	miR-143	miR-144	miR-145	miR-146a	miR-149	miR-150	miR-151	miR-153	miR-154	miR-155	miR-15a
D	miR-15b	miR-16	miR-17-3p	miR-17-5p	miR-181a	miR-181b	miR-181c	miR-181d	miR-183	miR-185	miR-186	miR-188	
E	miR-18a	miR-190	miR-191	miR-192	miR-194	miR-195	miR-196a	miR-197	miR-198	miR-199a+b	miR-30b	miR-199a+b	
F	miR-95	miR-20a	miR-200a	miR-200b	miR-200c	miR-202	miR-203	miR-204	miR-205	miR-206	miR-21	miR-210	
G	miR-214	miR-215	miR-372	miR-373	miR-218	miR-219	miR-22	miR-488	miR-221	miR-222	miR-223	miR-224	
H	miR-23a	miR-24	miR-25	miR-26a	miR-26b	miR-27a+b	miR-30c	miR-29a+b+c	miR-30a-3p	miR-30a-5p	miR-296	U6 snRNA	

## SNP čipy

Za geneticky polymorfní je považován znak s nejméně dvěma geneticky podmíněnými variantami v jedné populaci, které se nachází v takových frekvencích, že i zřídka má frekvenci alespoň 1%.

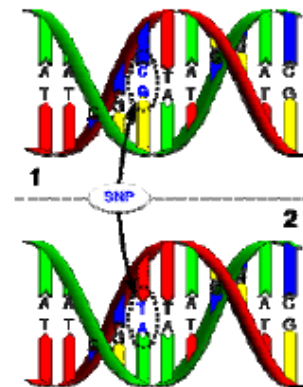
SNP = single nucleotide polymorphism, jsou jednonukleotidové polymorfní znaky  
Celogenomové mapy SNPs jsou dostupné ve webových databázích (~6 milionů)

Mezi lidmi je přibližně 99,9% shoda v sekvenci DNA

Zbývajících 0,1% nás činí jedinečnými (jak vypadáme, nemoci, kterými budeme trpět, ...)

Přibližně 1 SNP per 1.000 bp

90% genů obsahuje alespoň 1 SNP

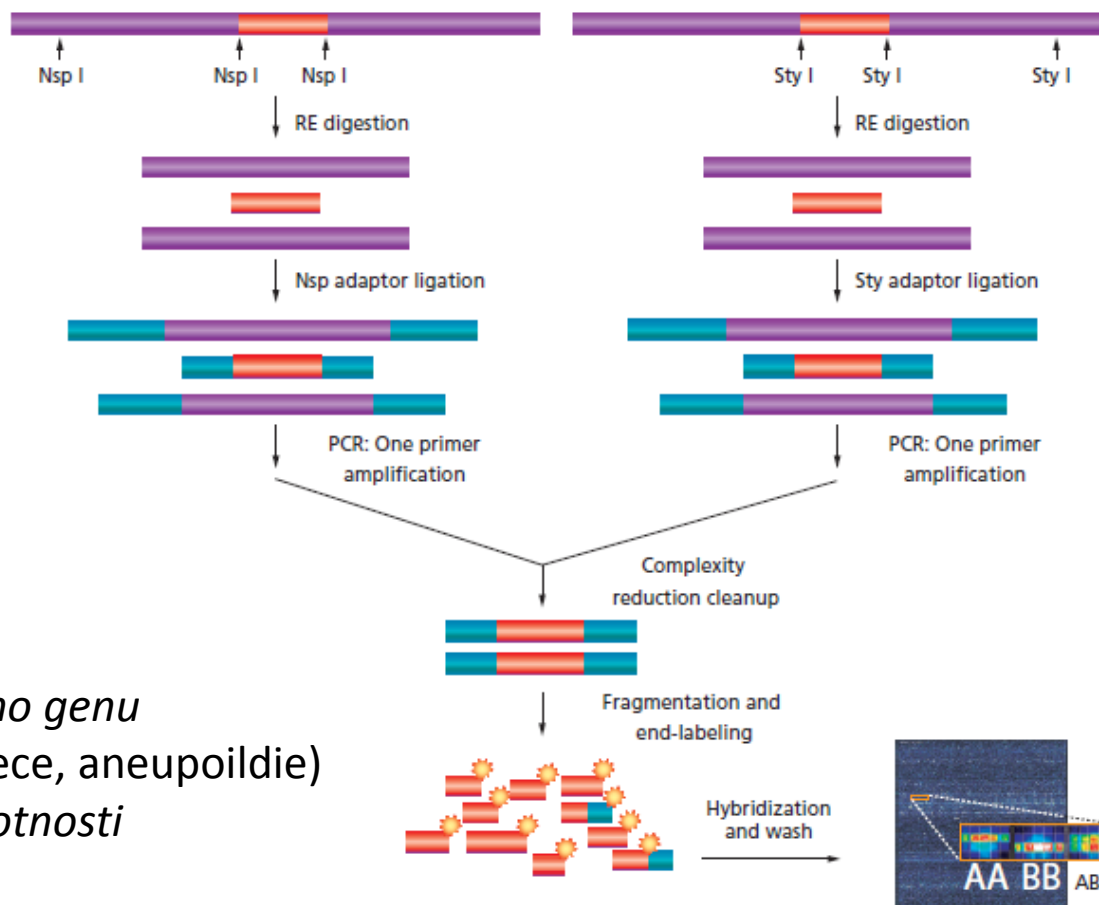


A	T	G	T	G	T	G	T	A	T	A	C	-	T	C	A	A	T	G	T	A	T	A	A	T	T	C	-	T	A	T			
A	T	A	T	G	T	G	T	G	T	A	T	A	C	-	T	C	A	A	A	T	G	T	A	T	A	A	T	T	C	-	T	A	T
A	T	A	T	G	T	G	T	G	T	A	T	A	C	-	T	C	A	A	A	T	G	T	A	T	A	A	T	T	C	-	T	A	T
A	T	A	T	G	T	G	T	G	T	A	T	A	C	-	T	C	A	A	A	T	G	T	A	T	A	A	T	T	C	-	T	A	T
A	T	A	T	G	T	G	T	G	T	A	T	A	C	-	T	C	A	A	A	T	G	T	A	T	A	A	T	T	C	-	T	A	T
A	T	A	T	G	T	G	T	G	T	A	T	A	C	-	T	C	A	A	A	T	G	T	A	T	A	A	T	T	C	-	T	A	T
A	T	A	T	G	T	G	T	G	T	A	T	A	C	-	T	C	A	A	A	T	G	T	A	T	A	A	T	T	C	-	T	A	T
A	T	A	T	G	T	G	T	G	T	A	T	A	C	-	T	C	A	A	A	T	G	T	A	T	A	A	T	T	C	-	T	A	T
A	T	A	T	G	T	G	T	G	T	A	T	A	C	-	T	C	A	A	A	T	G	T	A	T	A	A	T	T	C	-	T	A	T

## Affymterix SNP čipy

Mapping 10K array => Mapping 100K array => Genome-wide Human SNP array 5.0 (500K) => Genome-wide Human SNP array 6.0 (1.8 million)

Figure 1: Overview of the Genome-Wide Human SNP Assay 5.0/6.0.



Umožňuje:

*Detekci SNP*

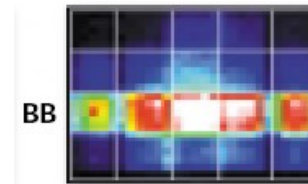
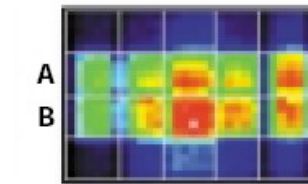
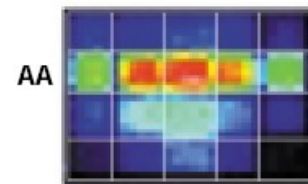
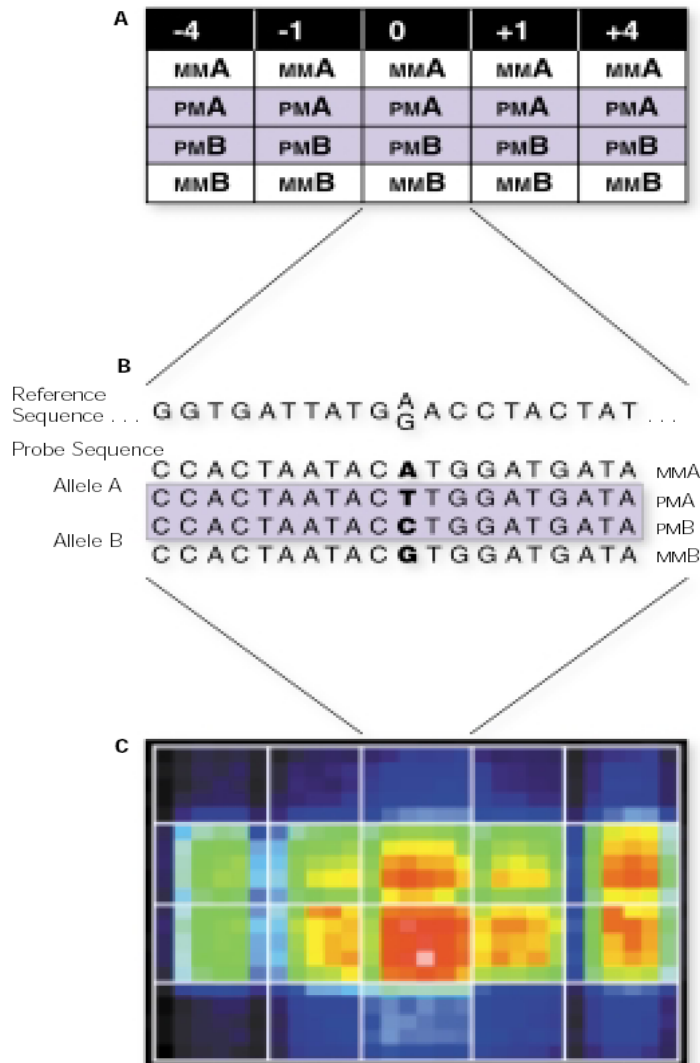
*Počet kopií daného genu*

*(amplifikace, delece, aneuploidie)*

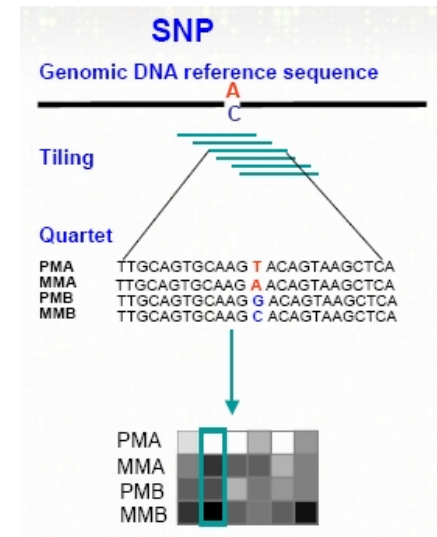
*Ztráta heterozygotnosti*

# Affymetrix SNP čipy

How the GeneChip® HuSNP™ Array Calls Genotypes



- HJ dané alely: AA, AB, BB
- Intenzita signálu: počet kopií



## Take home

Analýza čipových dat – pozadí, normalizace

Analýza čipových dat - identifikace biologicky významných genů

Analýza čipových dat -ukázky multidemenzionálních metod analýzy čipových dat - *Shlukovací analýzy*

Analýza čipových dat – klasifikační metody

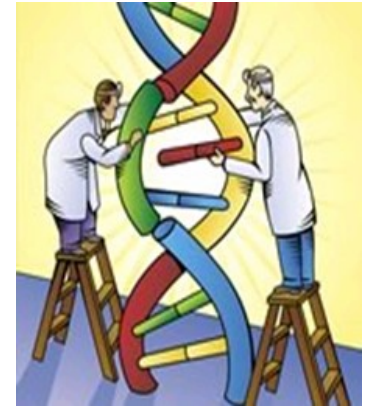
Molekulární klasifikace nádorových onemocnění – ukázky

Aplikace čipových technologií do klinické praxe – studie MINDACT, Agendia, Roche AmpliChip CYP450

mikroRNA: nová úroveň regulace genové exprese

mikroRNA čipy

SNP čipy



## Náplň příští přednášky

Moderní metodické přístupy v molekulární medicíně II – proteomika (dvojrozměrná elektroforéza, hmotnostní spektrometrie, proteinové čipy), využití proteomiky v diagnostice nádorových onemocnění

Molekulární epidemiologie – definice a vymezení oboru, identifikace molekulárních rizikových faktorů vzniku a rozvoje onemocnění, analýza vztahu molekulárních faktorů a vlivů prostředí na rozvoj nádorového onemocnění, význam molekulární epidemiologie u karcinomu plic a kolorektálního karcinomu



## Dotazy?

