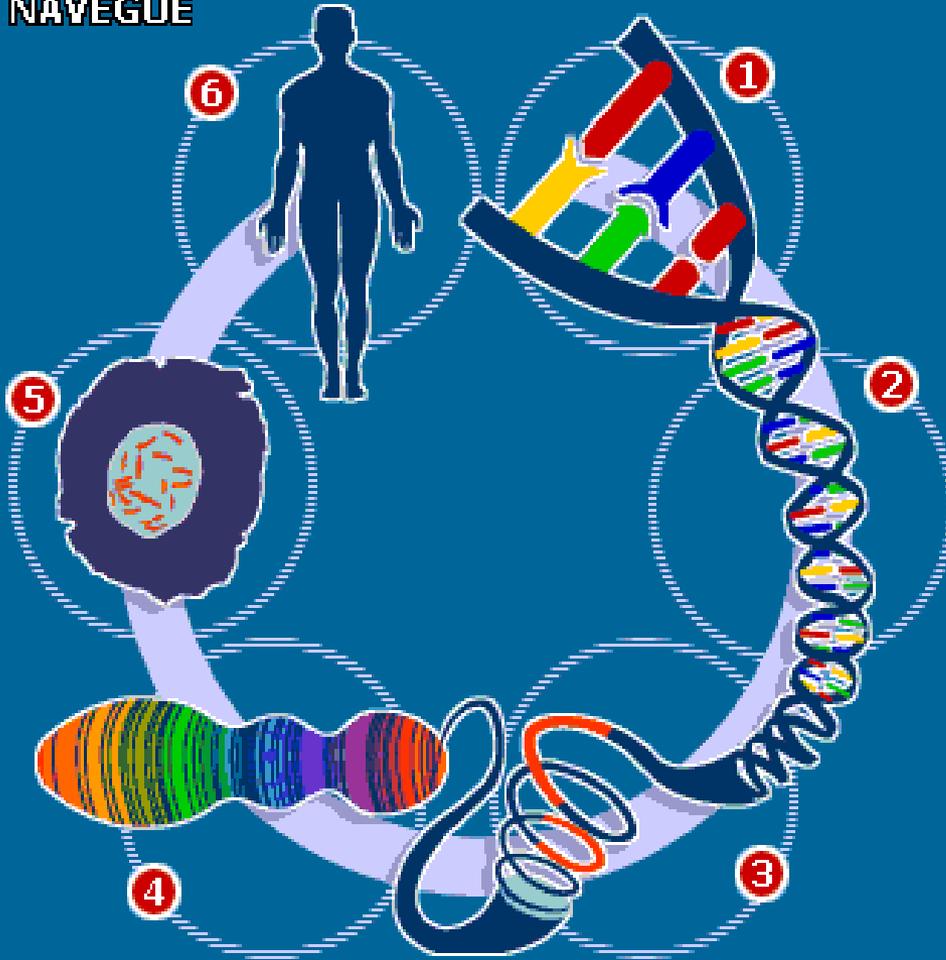


*Parte 1.- Genoma humano:
organización, expresión y
regulación génica.*

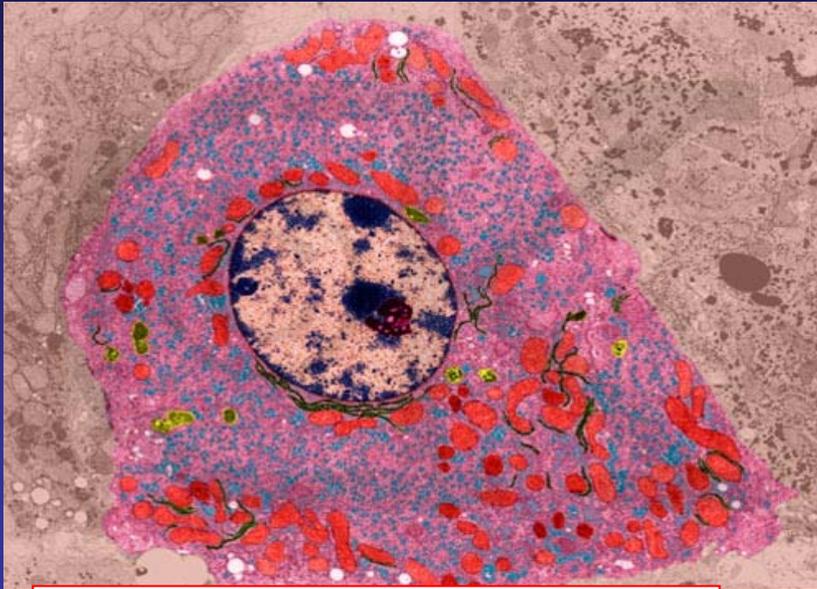
Biología = Información/ Genoma humano: ADN

NAVEGUE



- Material genético de un ser vivo. Es el juego completo de **instrucciones hereditarias** para la formación, desarrollo y mantenimiento de un ser humano, y pasar la vida a la siguiente generación.
- Conjunto de **genes** que especifican todos los caracteres que pueden ser expresados en un organismo.
- El material genético de eucariotas está formado por **ADN**.

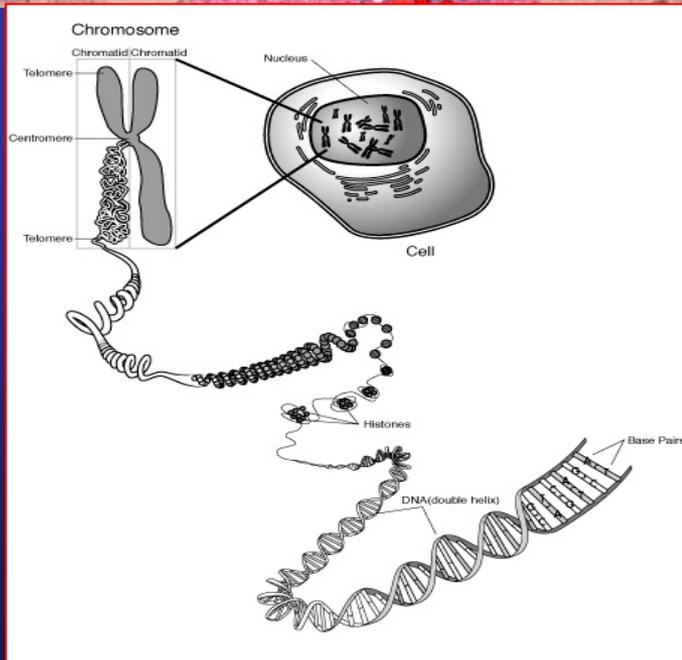
Localización del ADN en la célula eucariótica



➤ Unidad básica de los organismos vivos pluricelulares.

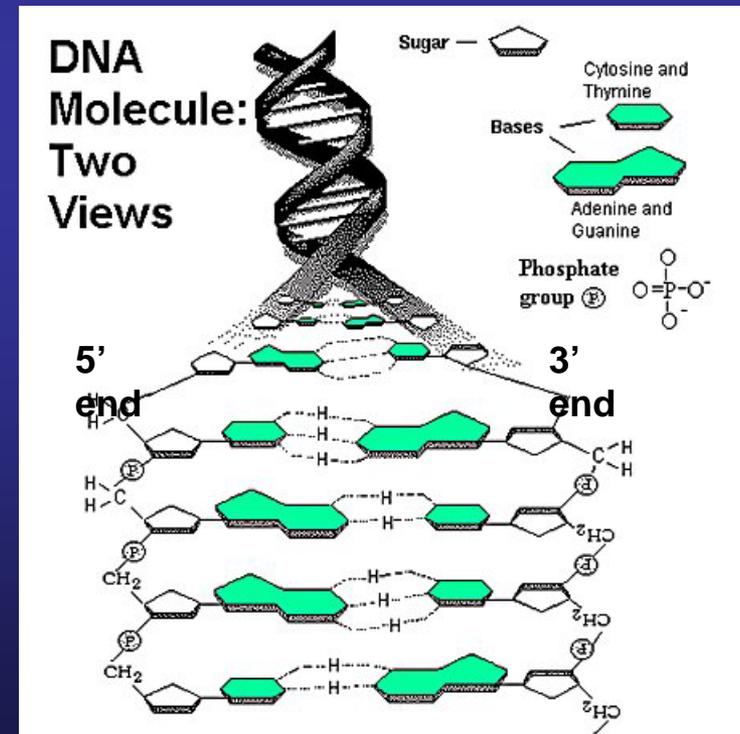
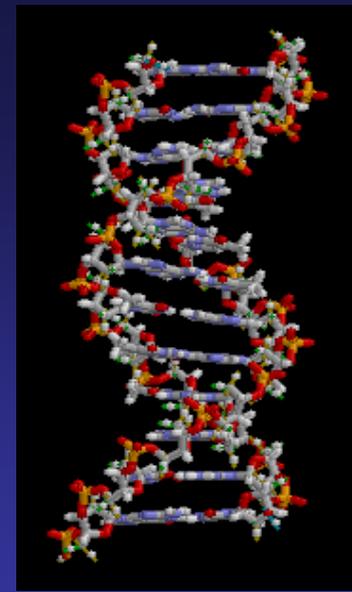
➤ Organismo humano formado por **100 de trillones** de células de diversos tipos (piel, sangre, epitelio intestinal...) y diversas funciones.

➤ Contiene una copia completa del genoma o material genético (ADN) en el **núcleo** en forma de **cromosomas compactos** (cromatina, **histonas**). La célula diploide contiene **46 cromosomas** agrupados en **22 pares** y los **cromosomas X e Y** (uno del padre y uno de la madre).

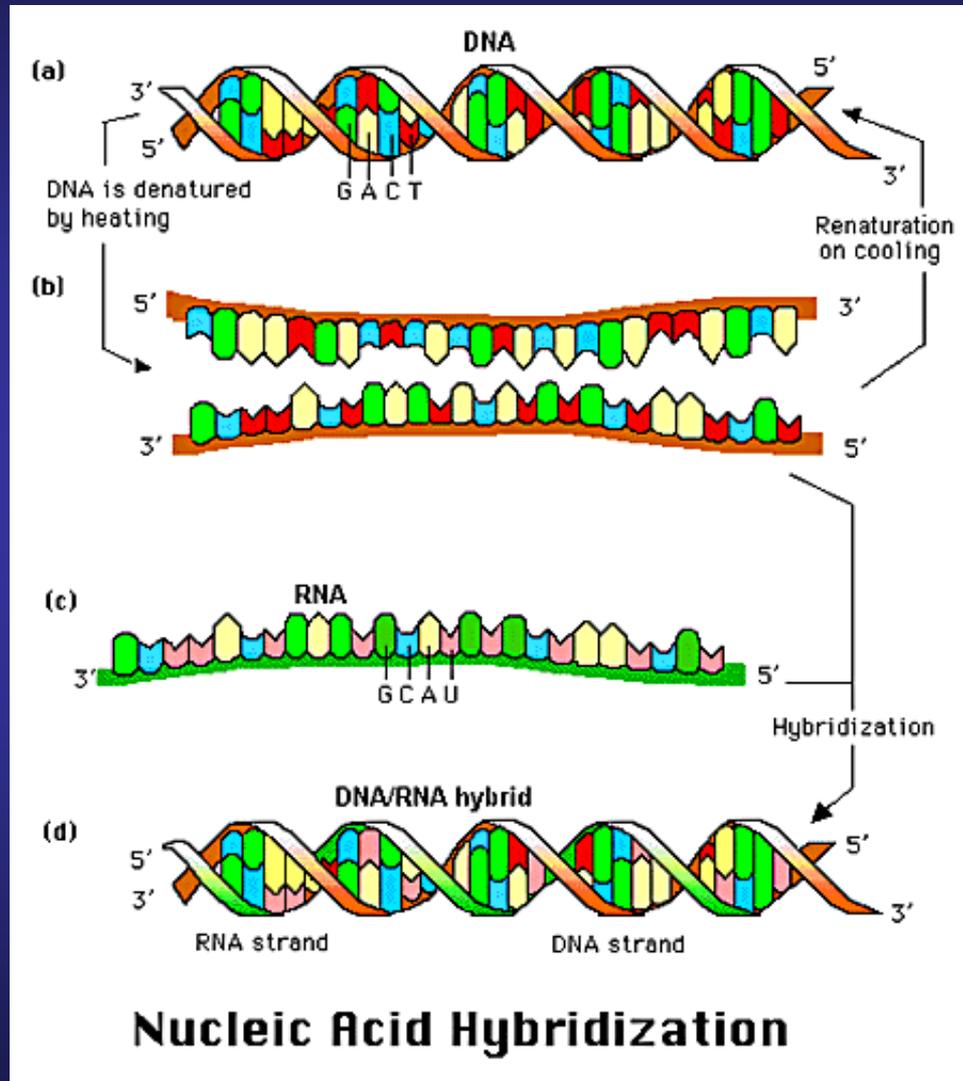


Estructura molecular del ADN

- Molécula helicoidal de dos cadenas antiparalelas compuesta de cuatro unidades básicas: **nucleótidos**.
- Cada nucleótido: grupo fosfato, azúcar y una base nitrogenada: **adenina (A)**, **guanina (G)**, **citocina (C)**, y **timina (T)**.
- Dos cadenas unidas por **puentes de hidrógeno** entre las bases **G** con **C** y **A** con **T**. El exterior de la molécula está cargado negativamente y el interior tiene naturaleza hidrofóbica.



Propiedades del ADN



➤ Una cadena doble de ADN puede separarse (**desnaturalización**): se rompen los puentes de hidrógeno entre los pares de bases y las cadenas se separan.

➤ La **hibridación** consiste en **pegar dos cadenas** de ácidos nucleicos: ADN-ADN, ARN-ARN o ADN-ARN determinada por la complementaridad de sus bases.

➤ *in vivo*, enzimas; *in vitro*, T

La replicación del ADN

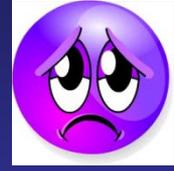
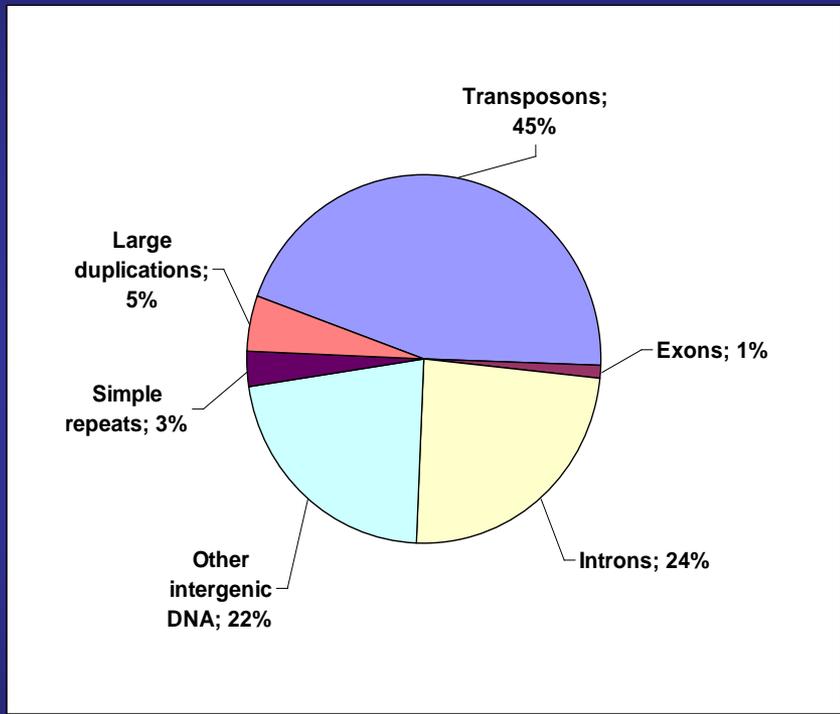


Elementos constituyentes del ADN

Genoma Humano: $\sim 3.3 \times 10^9$ pb \longrightarrow 15000 genes? 90000 proteínas = 90000 genes?

Caenorhabditis elegans: ~ 1000 células, 19500 genes

Maiz: 40000 genes



20000-25000 genes
25% genoma (intron + exon):



1% genes (exon): codificante de proteínas

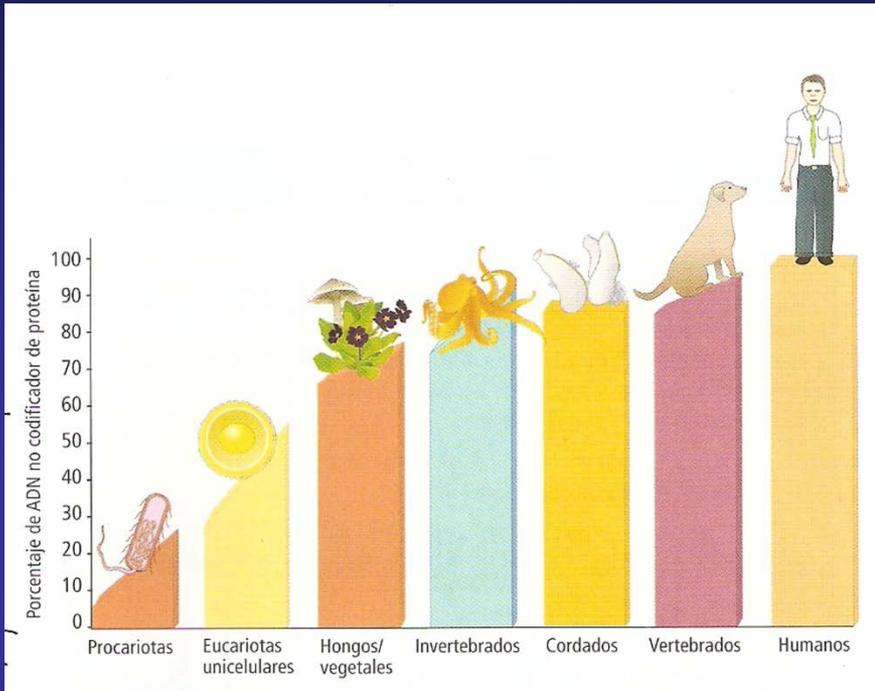


Proteoma: ~ 90000 proteínas ?

Muchas cuestiones aún sin resolver:

- Funciones de una buena parte de los 25000 supuestos genes
- Papel de las alteraciones de la secuencia de ADN
- Papel de las secuencias no-codificantes

Secuencias no codificadoras de proteínas



La mayor parte del genoma humano se transcribe en **ARN** pero solo **~1%** codifica proteínas



➤ **Chatarra genética o otras funciones?**

➤ **Como se consiguen tantas proteínas a partir de tan pocos genes?**

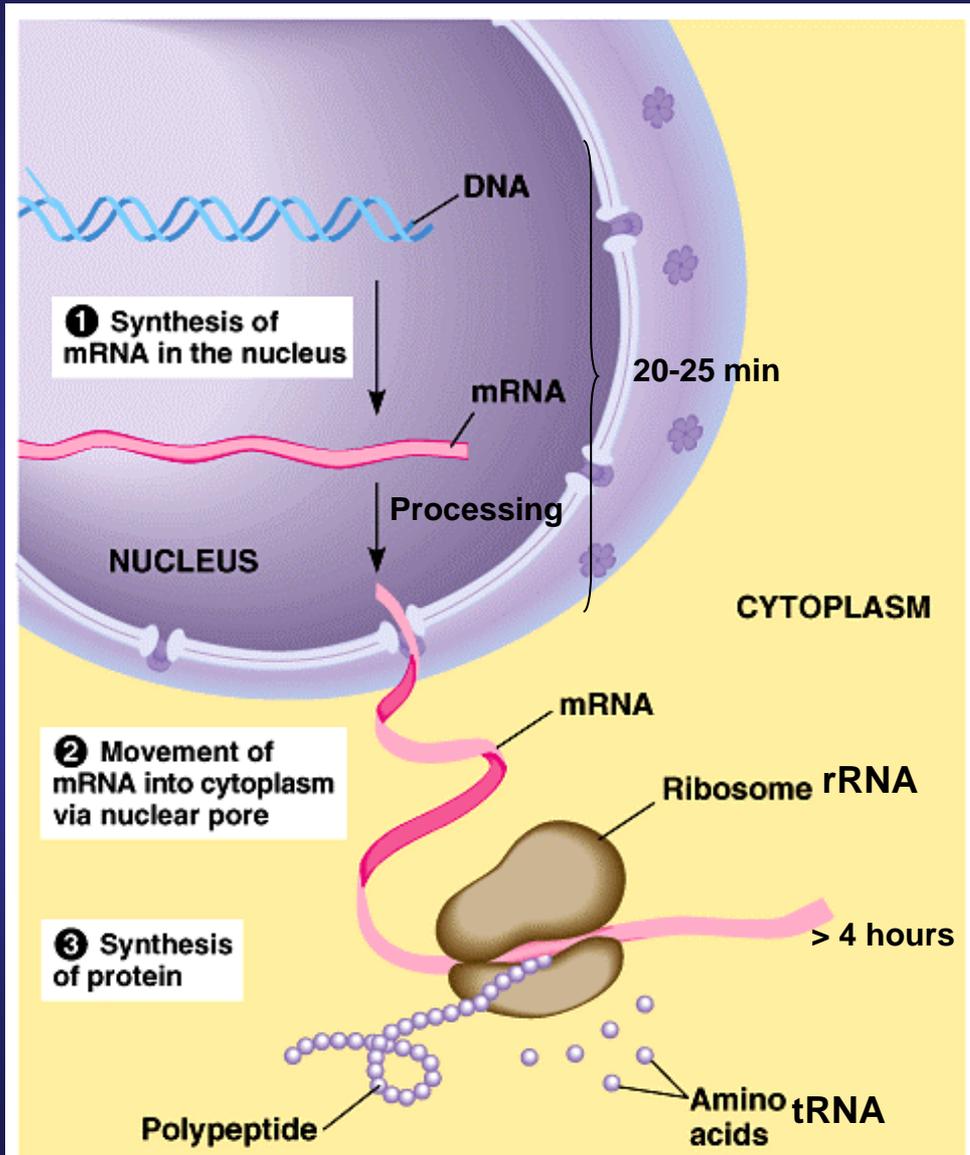


Incremento de la complejidad reguladora

‘Alternative splicing’: edición alternativa

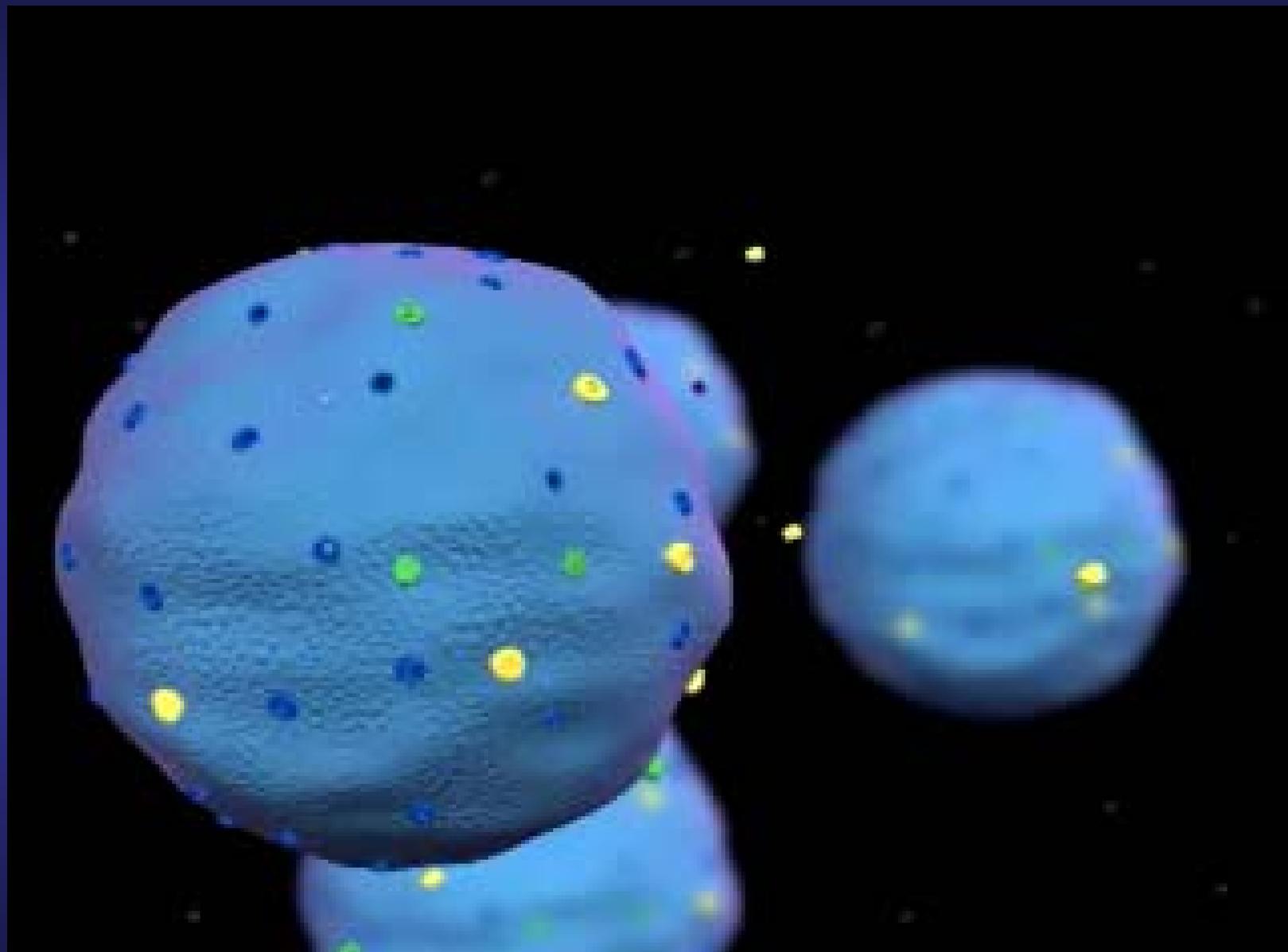
Proteínas y también
ARN como elementos reguladores

Flujo de información: dogma central

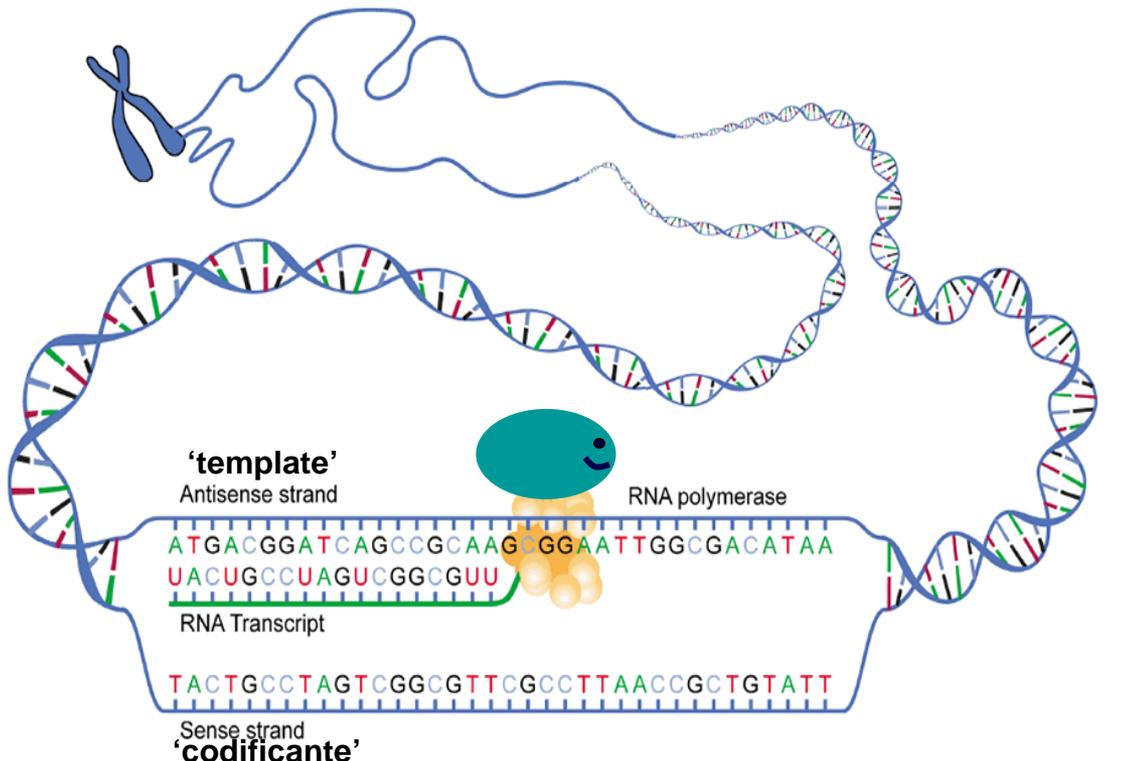


La expresión de la información genética del ADN ocurre en dos etapas:

- **Transcripción:** el ADN se transcribe a ARNm.
- **Traducción:** el ARNm se traduce en la formación de proteínas (tres nucleótidos: 1 aa).
- La mayoría de los genes son codificadores de proteínas aunque entre un 2-5% son ARN funcional (ARN ribosómico, ARN transferencia, miRNAs regulación de la expresión).



Transcripción del ADN a ARNm

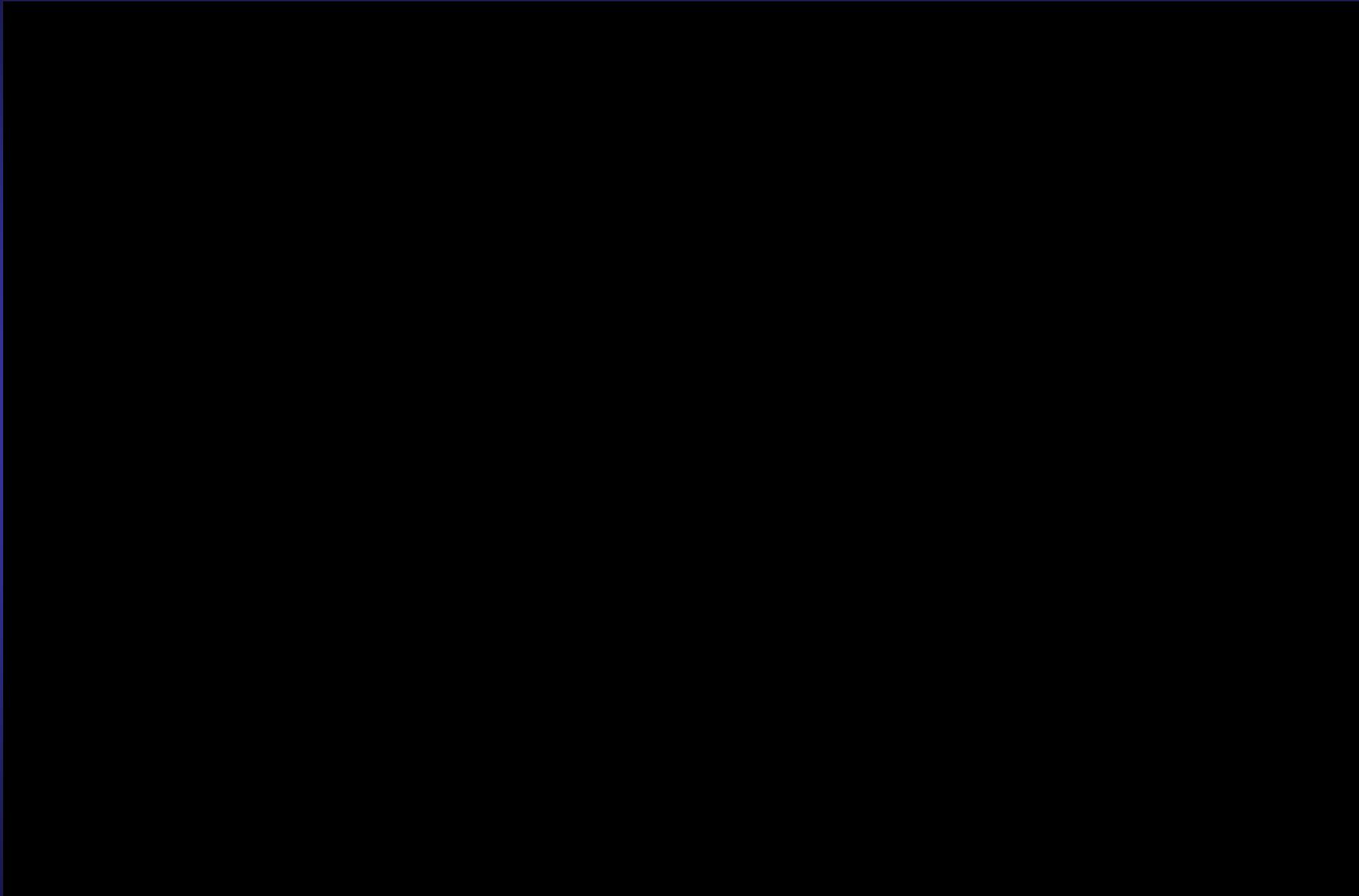


(40 nucleótidos seg^{-1})

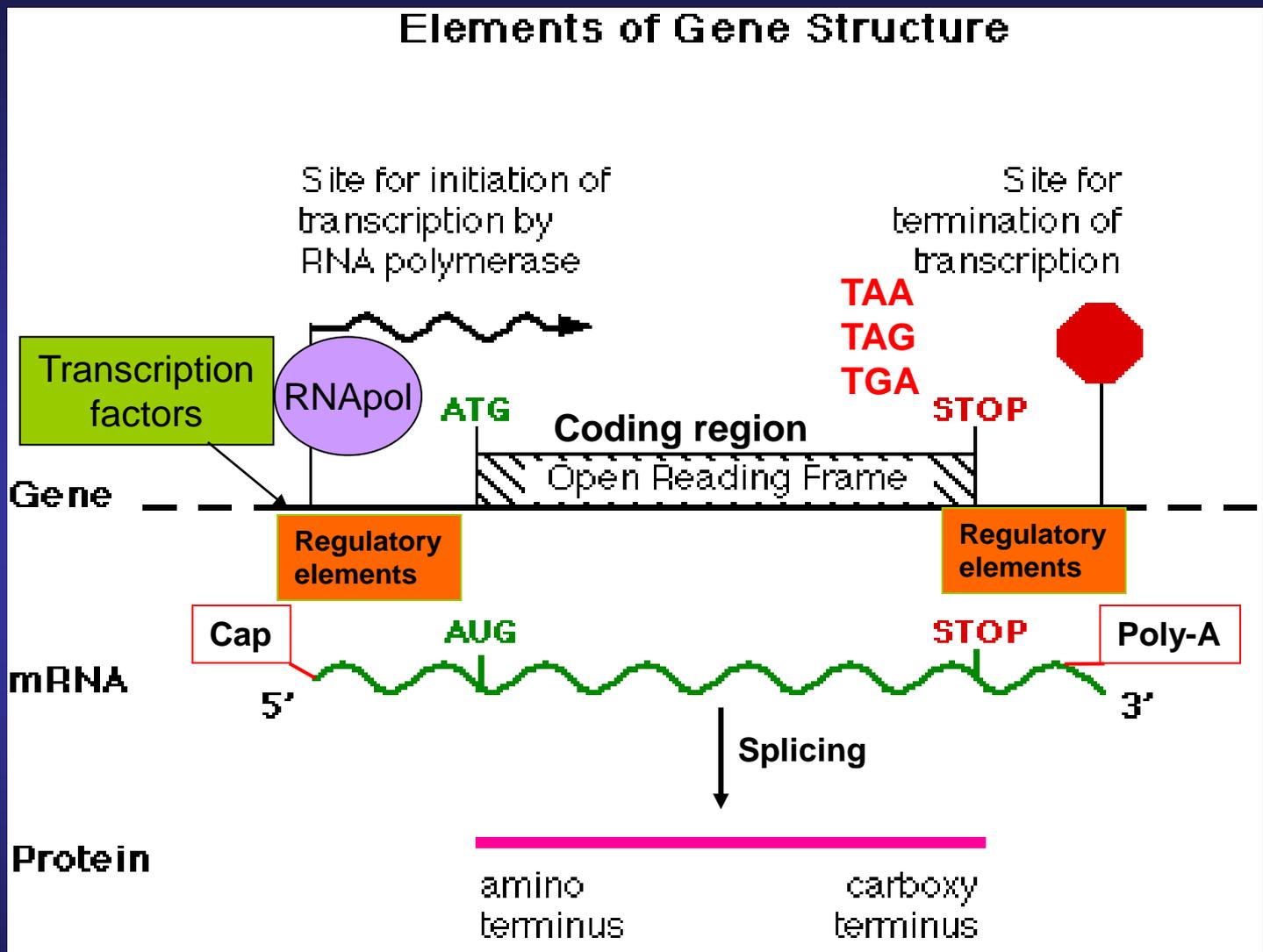
1 gen de 10000 pb tarda unos 5 min en transcribirse

- Molécula de igual secuencia que la cadena codificante de ADN: la base **T** se sustituye por la base **U** (uracilo).

Flujo de información: dogma central a tiempo real

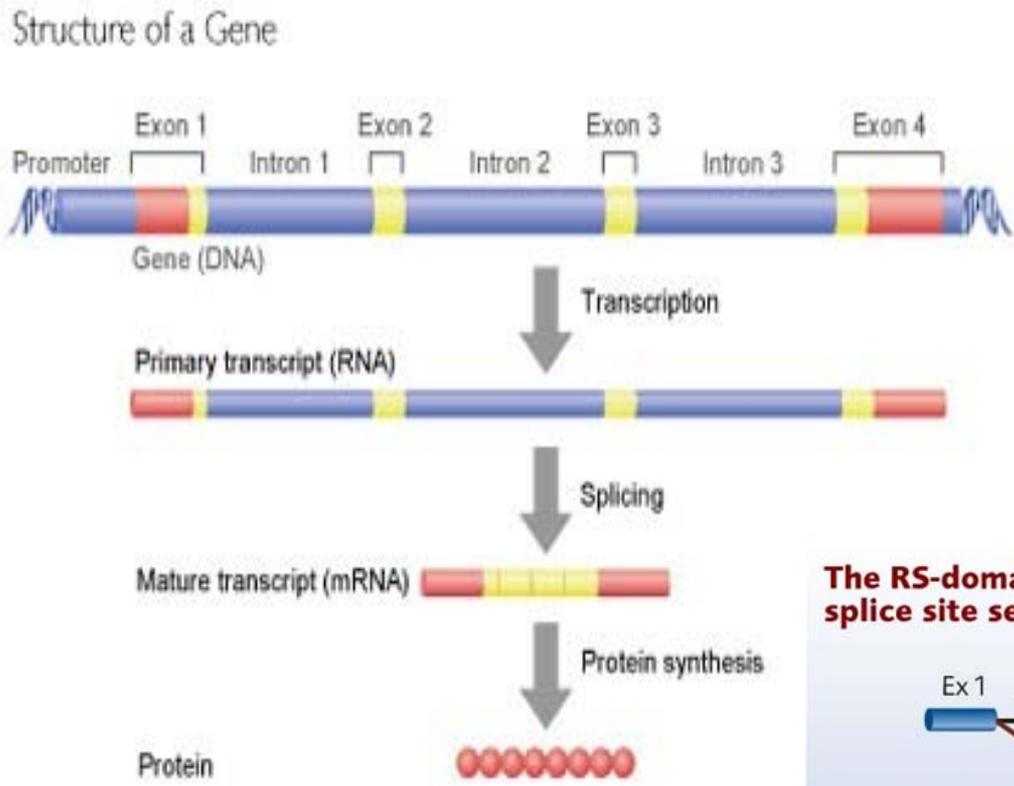


Procesado del ARNm: núcleo



➤ Las moléculas de ARNm son bastante estables (4-24 h de vida media).

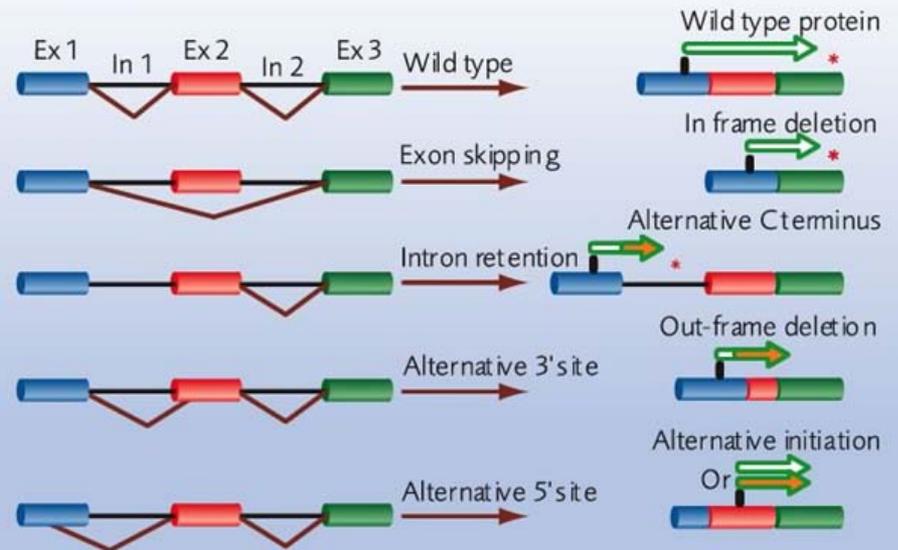
Procesado del ARNm: núcleo



➤ En eucariotas la mayoría de los genes están interrumpidos en **exones e intrones** eliminados por 'splicing'.

➤ 'Edición alternativa' da lugar a diferentes transcritos (diferentes proteínas).

The RS-domain dependent and RS-domain independent splice site selection.

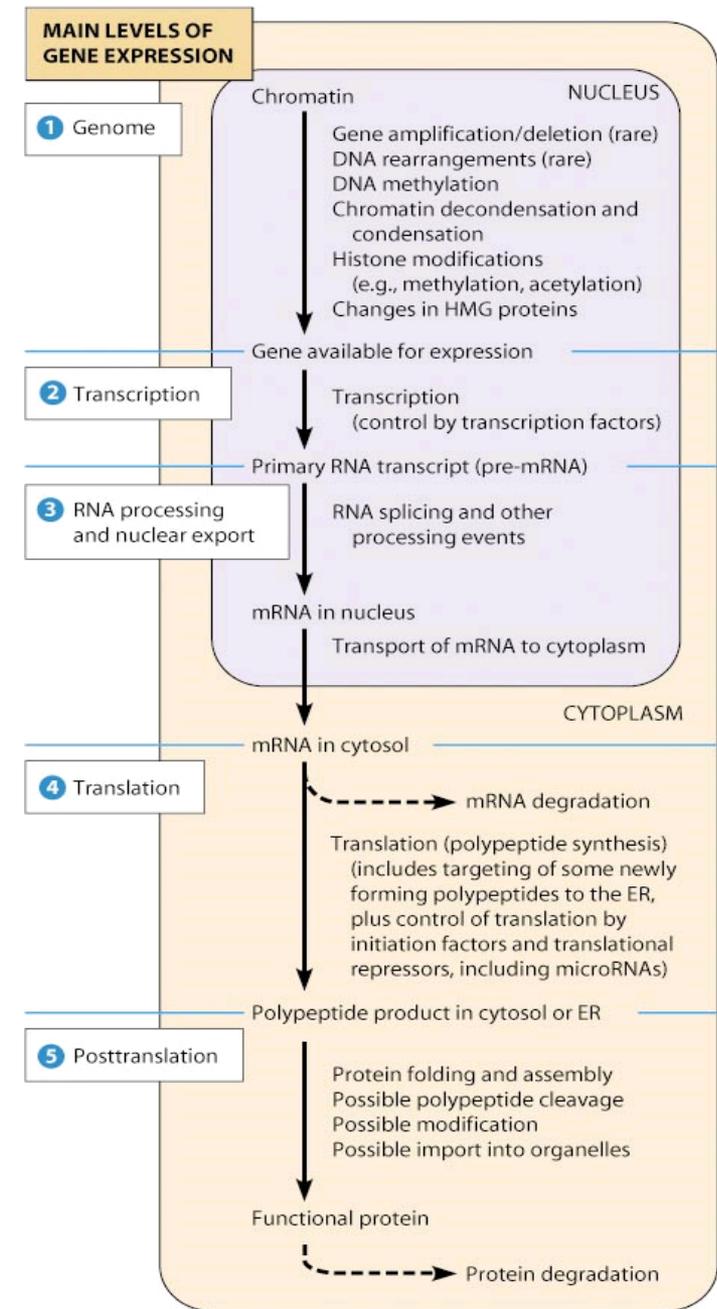


© 2003 ExonHit Therapeutics

Regulación de la expresión génica: múltiple y compleja

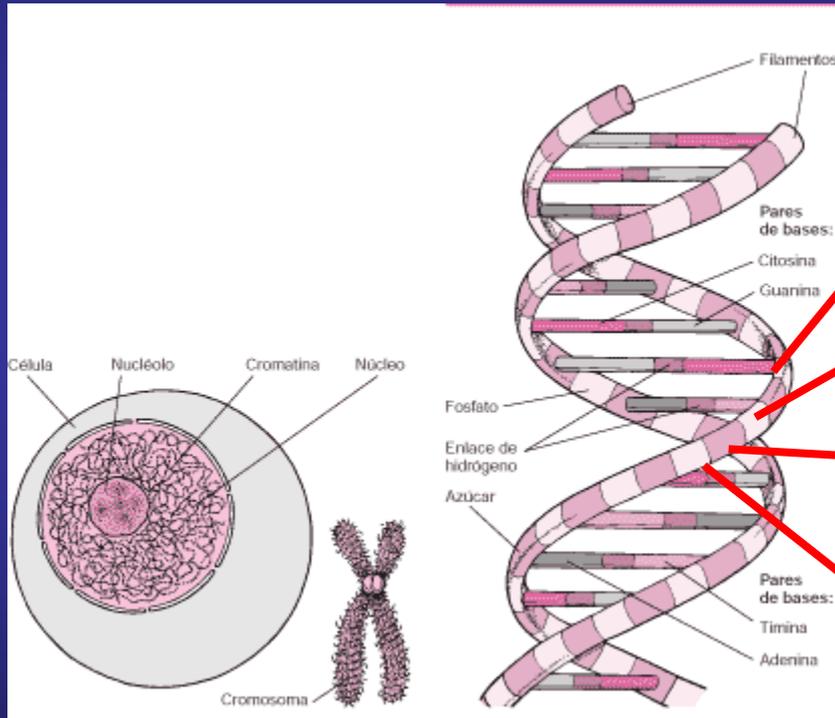
1. Genoma: cromatina, histonas, metilación del ADN (**epigenética**)
2. Transcripción: Factores de transcripción
3. Procesado y transporte del ARNm
4. Degradación o inhibición de la traducción de ARNm por ARN de interferencia o silenciamiento (microARNs)

Factores externos



Alteraciones en la secuencia del ADN

- Cambios en la secuencia de ADN: **inducidos** (agentes mutágenos, radicales) o **expon**táneos (mal funcionamiento del sistema de reparación de ADN).



- Alteraciones puntuales (cambio o delección de una base)

- Inserciones (transposones) o delecciones de fragmentos; secuencias repetidas

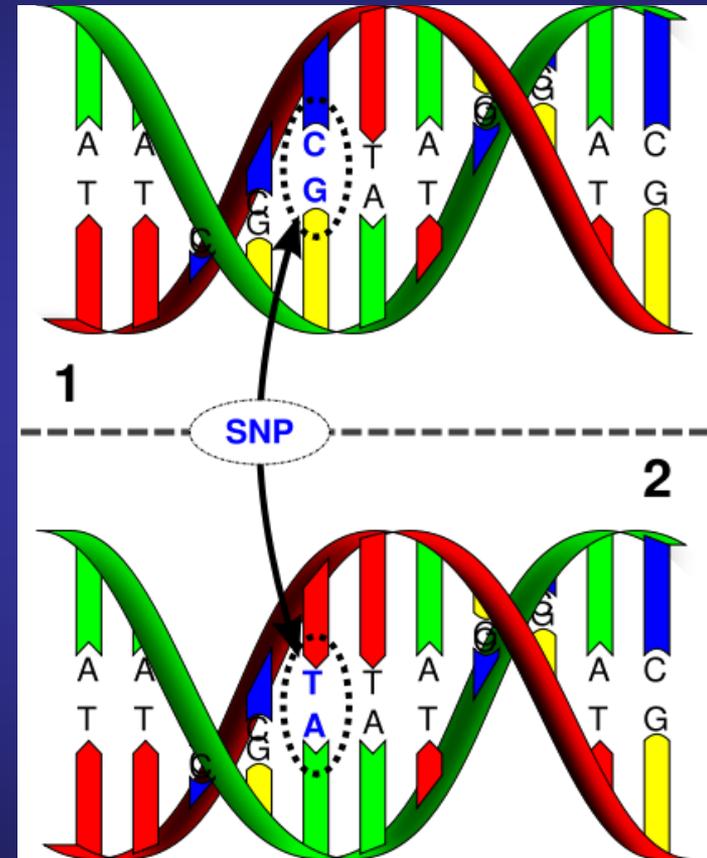
- Cromosomas: rotura y recombinación; pérdida y ganancia (aneuploidías, poliploidías); variaciones estructurales

- Metilación inapropiada de las bases (epigenética)

Single Nucleotide Polymorphisms: SNPs

- Es la forma más común de variación de la secuencia de ADN humana donde una **base única** (o unas pocas bases) difiere entre individuos (sustitución o deleción).
- Aparecen con una frecuencia de 1 cada ~100-300 pares de bases. Varios millones de '*snips*' posibles en el genoma humano (< 10 millones). Frecuencia estable en la población.
- Puede afectar a regiones codificadoras y no codificadoras (reguladoras) produciendo un efecto o ninguno. Puede afectar a la calidad (función) como a la cantidad de una proteína (expresión).

Polimorfismo C/T
Dos alelos: C y T



Polimorfismos de nucleótido simple (SNPs)

Individuos con diferentes SNPs ('**genetic make up**') tendrán **diferentes respuestas** a agentes xenobióticos (drogas o **nutrientes**), diferente capacidad metabólica, diferente susceptibilidad a enfermedades (cáncer, CDVs),



Diferentes requerimientos
(tratamientos con fármacos, **dietas**):
Medicina o Nutrición personalizada

Nutrición y Salud (el pasado)

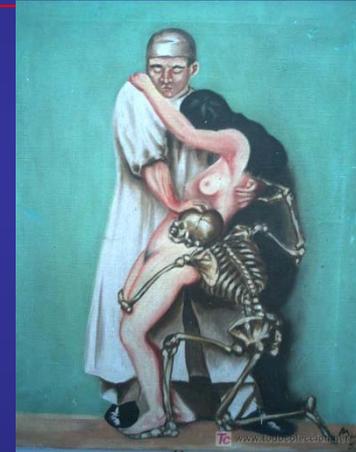
1.- 'You are what you eat'

Alimentos
(proteínas, grasas,
carbohidratos, vitaminas y
minerales)



Conjunto de procesos
de transformación,
Absorción, metabolismo,
asimilación en tejidos
y eliminación

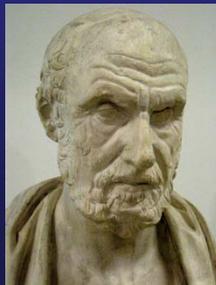
Niveles adecuados de energía y
materia para:
desarrollo y mantenimiento de la
estructura y funcionamiento celular
(homeostasis)



2.- 'Que tu alimento sea tu medicamento y tu medicamento tu alimento'

Hipócrates

Alimentos
(vitaminas, minerales)

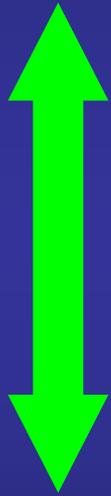
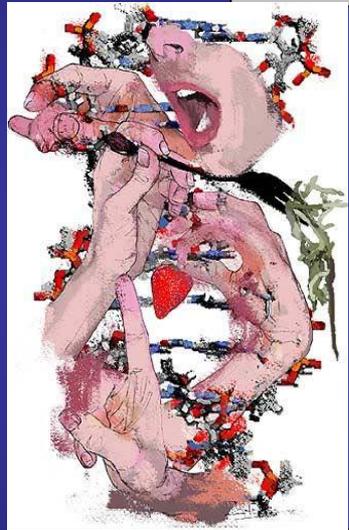


Salud vs Enfermedad

Hipócrates
Médico griego s. V a.C.

Interacción genes y dieta (el presente)

GENOMA
(saludable)



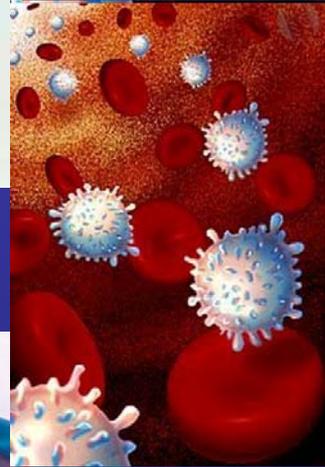
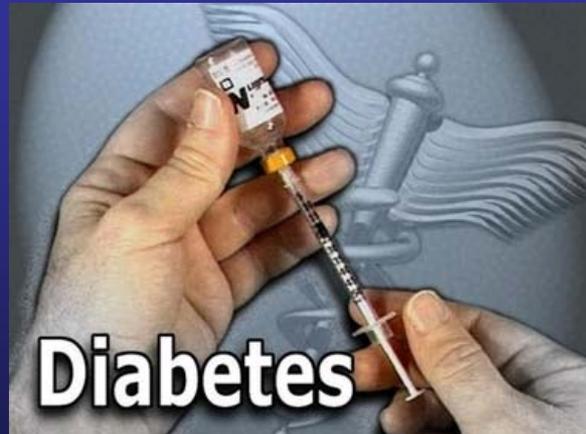
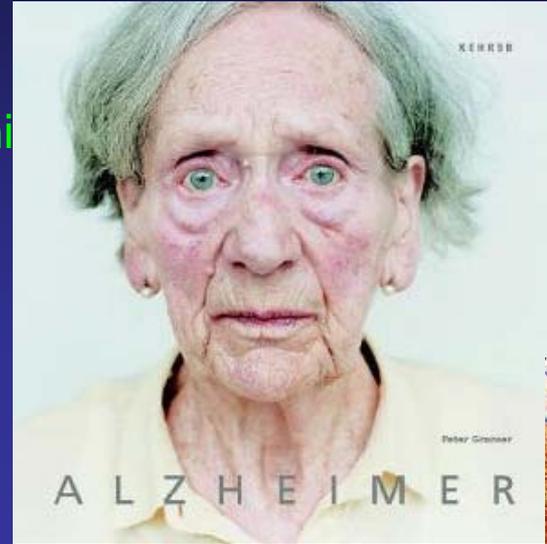
NUTRIENTES
(requerimientos)

- Mantener una vida **saludable** y larga reemplazando nuestras células con nuevas células que tengan un **genotipo normal** y una **expresión génica** apropiada al tejido y función celular.
- La **dieta** tiene un **impacto** enorme y esencial en nuestro genoma y en la **expresión** y **regulación** de nuestros genes desde que nacemos.

Algunos de los problemas de salud actuales

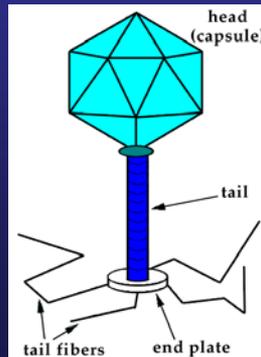
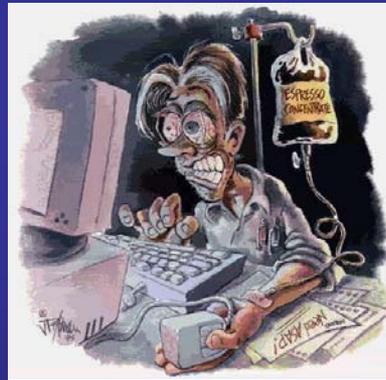


Enfermedades crónicas
(multifactoriales):
Cáncer
Alzheimer
Diabetes
Obesidad
Cardiovasculares
Daño inmunológico



Multiples factores

Epidemiología



Factores:

- Agentes ambientales (tabaco, radiaciones, contaminates químicos)
- Estilo de vida (sedentarismo, stress)
- **Dieta** (alta en calorías, grasa y azúcares refinados)
- Agentes infecciosos (virus)
- Mapa genético individual (polimorfismos) y factores epigenéticos.

Dieta: factor fundamental - enfermedades

Dieta: mezcla de sustancias tóxicas (contribuyen a la iniciación y desarrollo) y beneficiosas (protectoras) que alteran o modulan el equilibrio salud/enfermedad.

-
- Exceso de calorías
 - Exceso y naturaleza grasas (saturadas)
 - Carbohidratos refinados (índice glucémico)
 - Bajo consumo de micronutrientes
 - Mutágenos químicos (procesado, cocinado, conservación)

 - Fibra fermentable (SCFA, butirato)
 - Ácidos grasos mono- y poli-insaturados (ω 3: ω 6)
 - Micronutrientes (vitaminas, minerales)
 - Otros: folatos, glucosinolatos, compuestos fenólicos ...)
 - Probióticos y prebióticos

Desarrollo

Enfermedades
crónicas

Prevención/Retardo



La interacción dieta-genes afecta al equilibrio salud-enfermedad.

**'Nutrición adecuada'
para mantener la salud
(dieta equilibrada)**

**Complejidad del
conjunto de
compuestos que
ocurren en los
alimentos.**

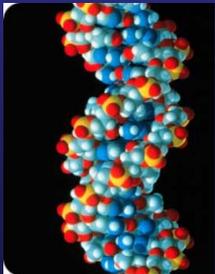
DIETA ↔ GENES

**Variabilidad del
mapa genético
humano (SNPs,
epigenética,
interacción gen-
gen).**

**Complejidad y variabilidad
de la respuesta del
organismo, del estado de
salud o de la enfermedad.**



DOS PERSONAS COMIENDO LOS MISMOS ALIMENTOS Y HACIENDO EL MISMO EJERCICIO, NO TIENEN EL MISMO PESO



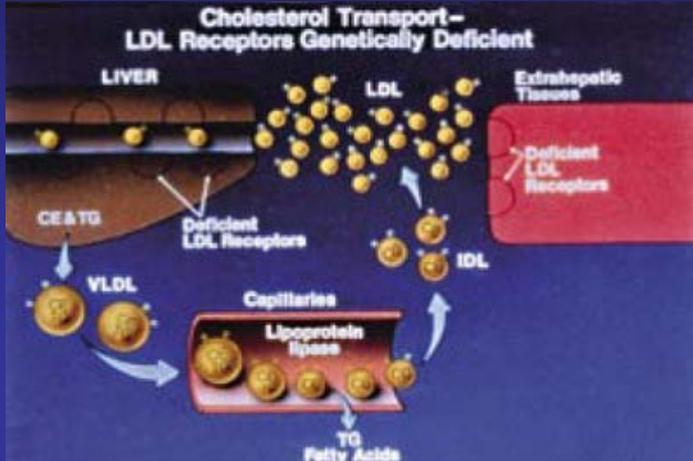
Las diferencias individuales en la respuesta a la dieta pueden ser explicadas en parte por variaciones en el Genoma

MODELOS TRANSGÉNICOS: Ratones a los que se les suprime algún gen relacionado con el metabolismo lipídico y presentan mayor obesidad que ratones control de la misma edad, sexo, y otras características

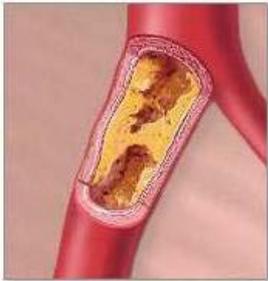


Hipercolesterolemia familiar

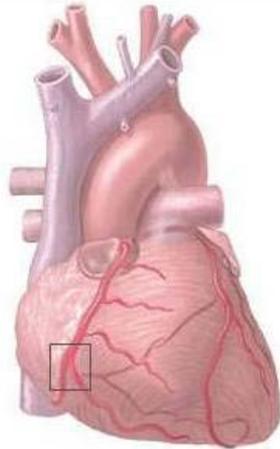
Enfermedad del metabolismo de las lipoproteínas y modulada por la dieta.



- >700 mutaciones/alteraciones diferentes descritas en el gen LDLR (receptor de las LDL, cromosoma 19).
- Diferentes mutaciones, diferentes niveles de severidad en la enfermedad.
- Incluso con la misma mutación, diferentes grados de enfermedad.
- Otros factores intervienen: interacción gen-factores ambientales (estilo de vida, **dieta**) ó interacciones gen-gen

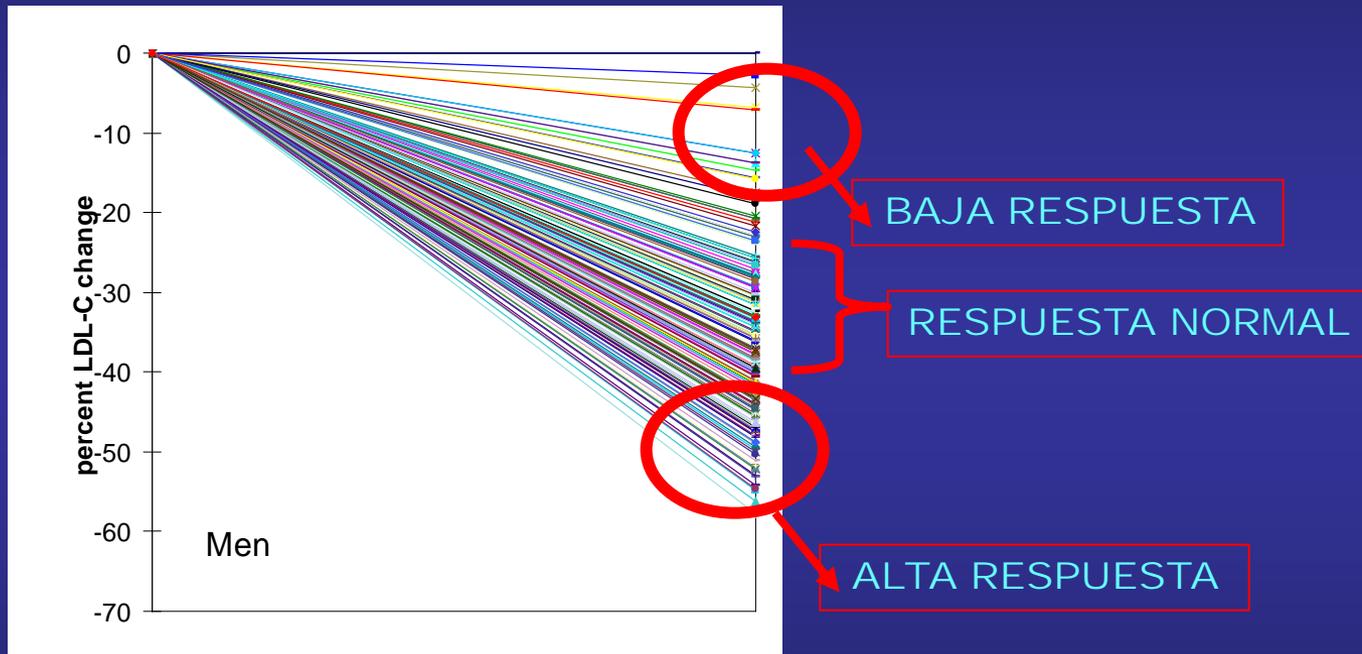


Blockage in right coronary artery



VARIABILIDAD EN LA RESPUESTA INDIVIDUAL FRENTE A UNA INTERVENCIÓN DIETÉTICA

Descenso en los niveles de colesterol en plasma

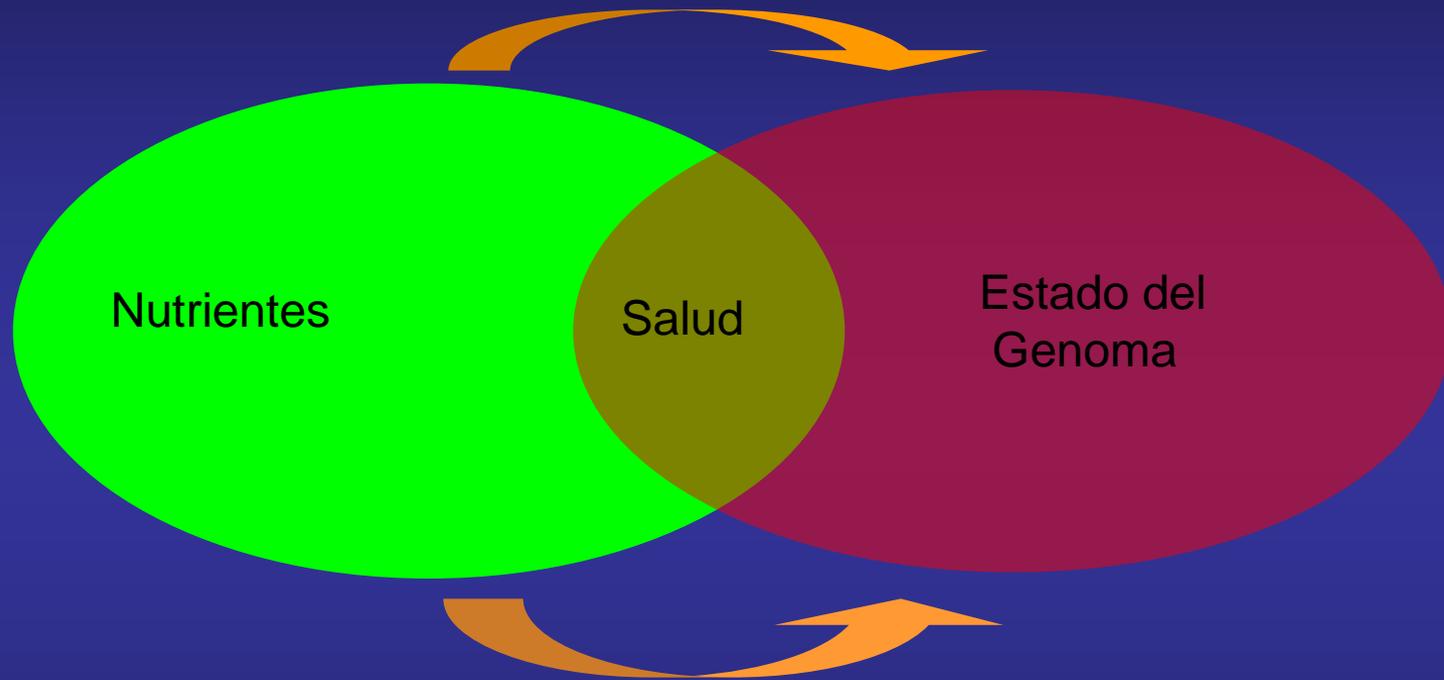


Las recomendaciones dietéticas deben tener en cuenta la dotación genética de cada individuo

Interacción genes y dieta

- Efectos de la dieta en los genes (regulación expresión): efectos moduladores de la exposición a la dieta (nutriente) en el riesgo de desarrollo de enfermedades en personas con diferentes mapas genéticos (genotipo).
- Impacto de las diferencias genéticas en la respuesta a la dieta: efectos diferentes del genotipo sobre el desarrollo de la enfermedad en personas expuestas a diferentes dietas.

Nutrición en el presente/futuro



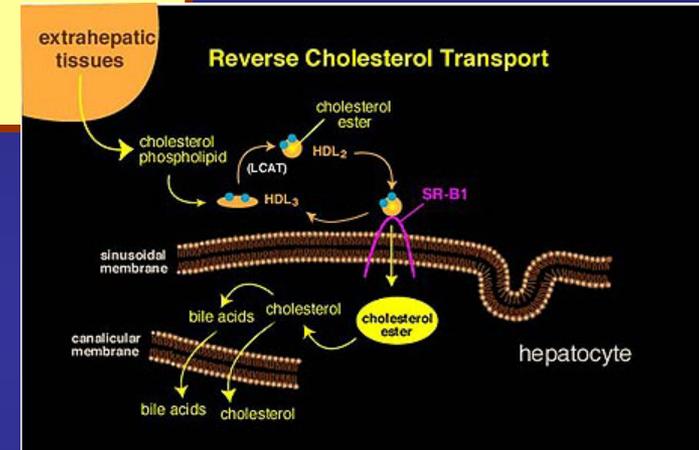
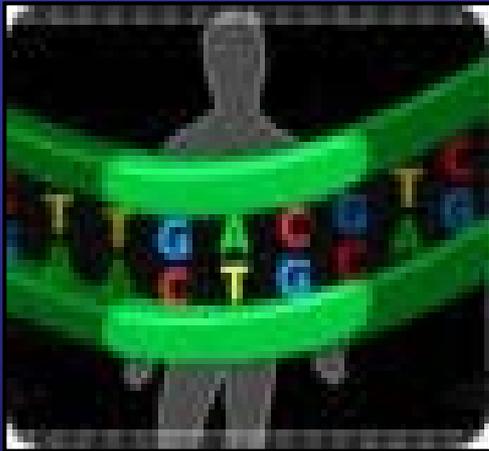
- Nutrición **diseñada** para cada genotipo.
- Optimizar la salud del genoma y **prevenir** el desarrollo de enfermedades causadas por daño genómico (CDVs, cáncer, alzheimer...etc)

Genómica Nutricional

- La **genómica nutricional** es la ciencia que estudia la interacción funcional entre los alimentos y sus componentes con el genoma de los individuos a nivel molecular, celular y sistémico; su objetivo es utilizar una dieta personalizada para prevenir o tratar la enfermedad.
- Dentro de ella se puede distinguir:
 - Nutrigenética
 - Nutrigenómica

Nutrigenómica

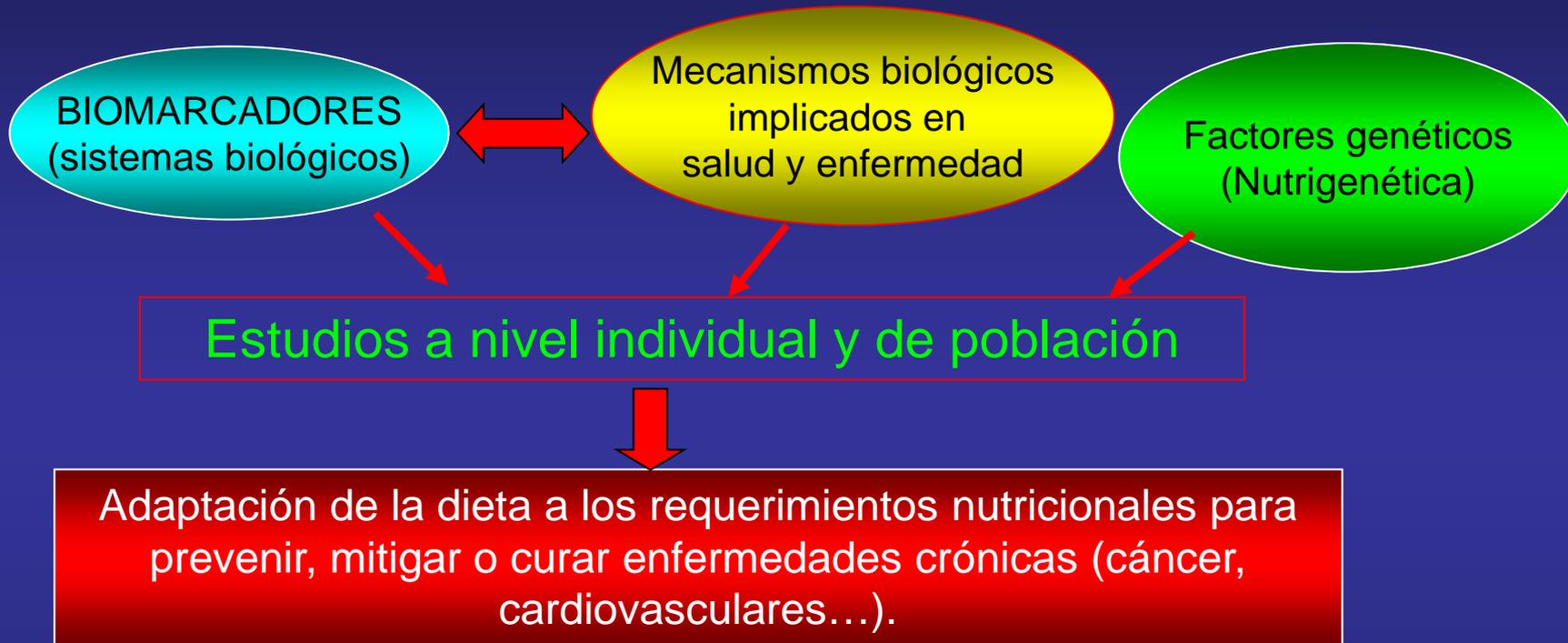
‘Entendimiento de los mecanismos moleculares y genéticos por los cuales los componentes de la dieta afectan la expresión, regulación y estructura genética de un individuo y como esta interacción afecta a su vez al balance entre salud y enfermedad’



Nutrigenética

‘Examina el efecto de la variación genética en la interacción entre dieta y enfermedad. Identifica y caracteriza las variantes genéticas asociadas o responsables de las diferentes respuestas a los nutrientes.’

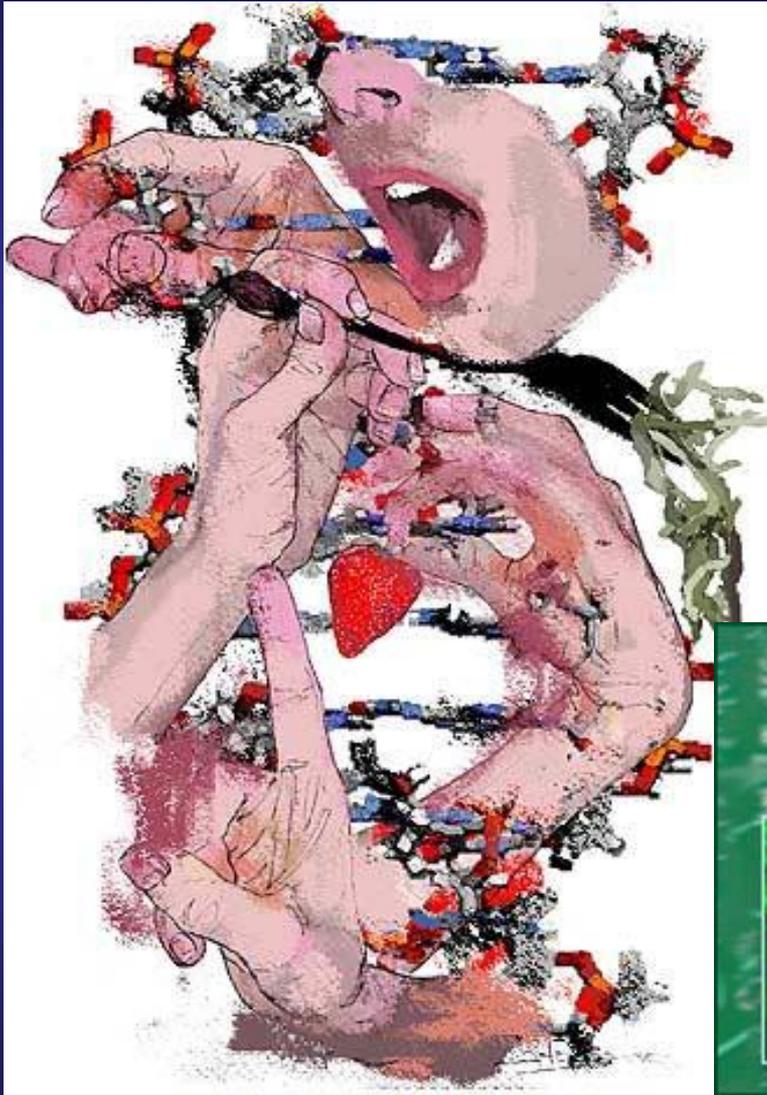
Genómica Nutricional: establecer requerimientos nutricionales adecuados/personalizados.



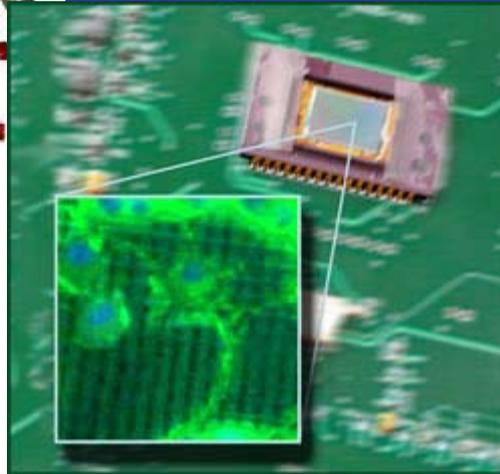
Alimentos funcionales,
nutracéuticos y
suplementos



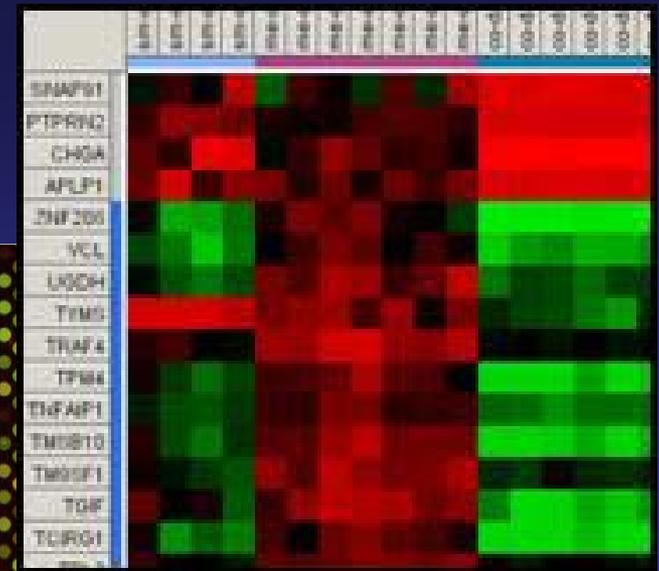
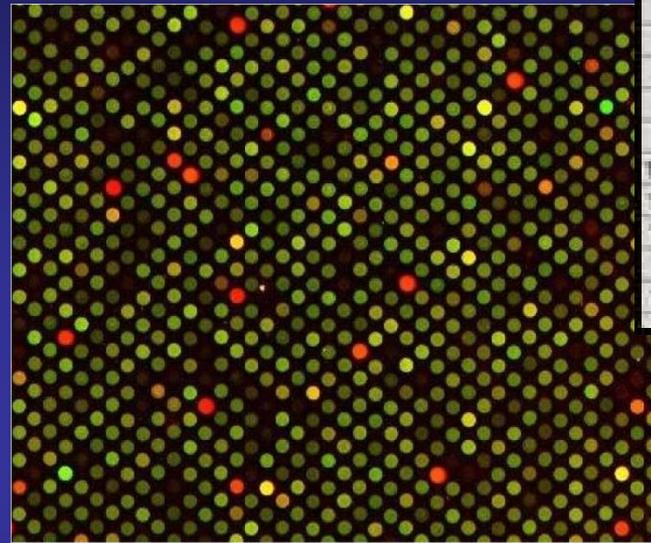
Interacción genes y dieta (el futuro?)



'Una vez descifrado y entendido en su totalidad el genoma humano y establecidos los mecanismos biológicos que expliquen la relación entre salud y dieta...'

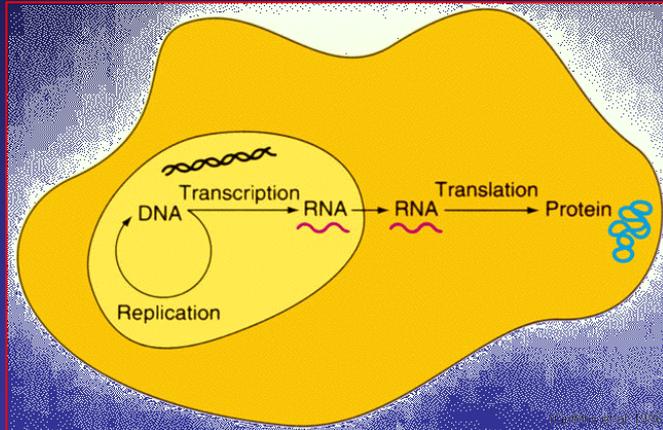


Futuro???
Chips
Nutrigenómicos
Personalizados
???



*Parte 3.- Ómicas. Microarrays
aplicados al estudio del
transcriptoma*

Transcriptoma



Unos genes se expresaran
y otros se reprimirán
(diversos ARNm en
distintas cantidades)

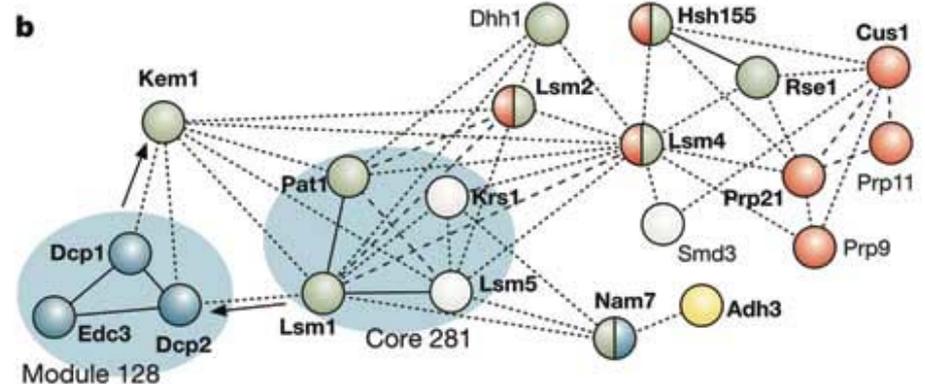
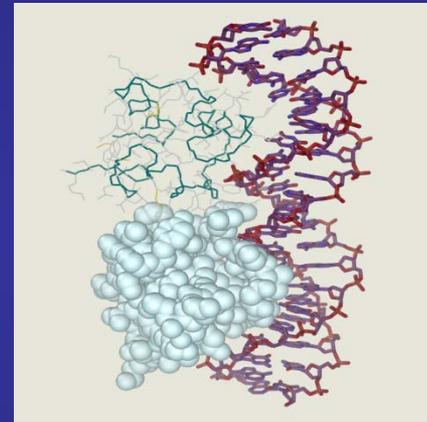
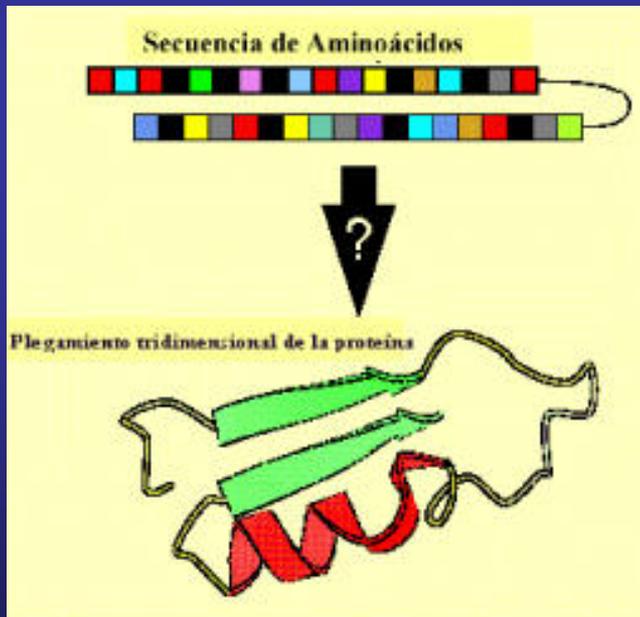
No todos los genes se expresan igual:

- Algunos se expresan todo el tiempo (procesos básicos): **'House Keeping Genes'**.
- Otros se expresan en un tipo de **tejido** u otro, o en diferentes estados de **desarrollo**, o en caso de una **enfermedad**.
- Otros se expresan frente a determinados estímulos o **señales** (hormonas, drogas...)

El TRANSCRIPTOMA es el conjunto de transcritos de ARN producidos a partir del genoma en un momento dado y bajo unas condiciones determinadas.

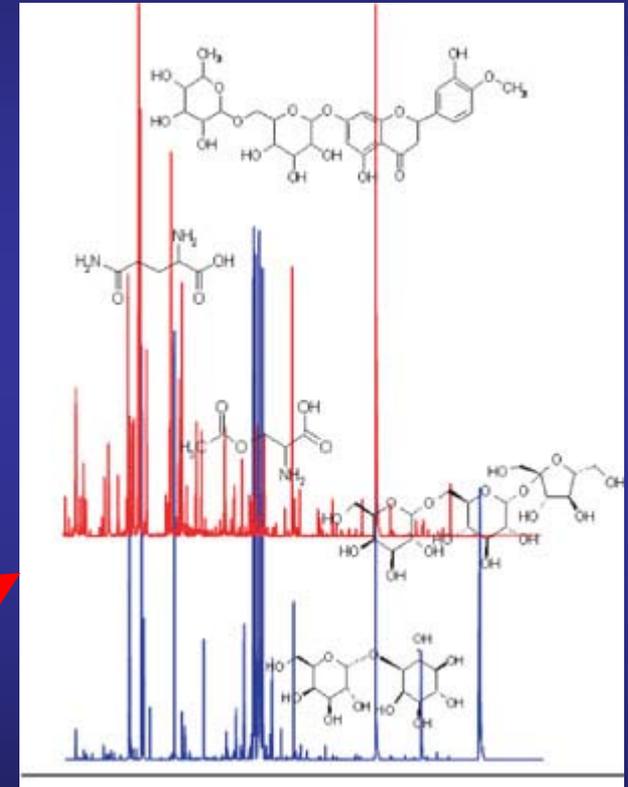
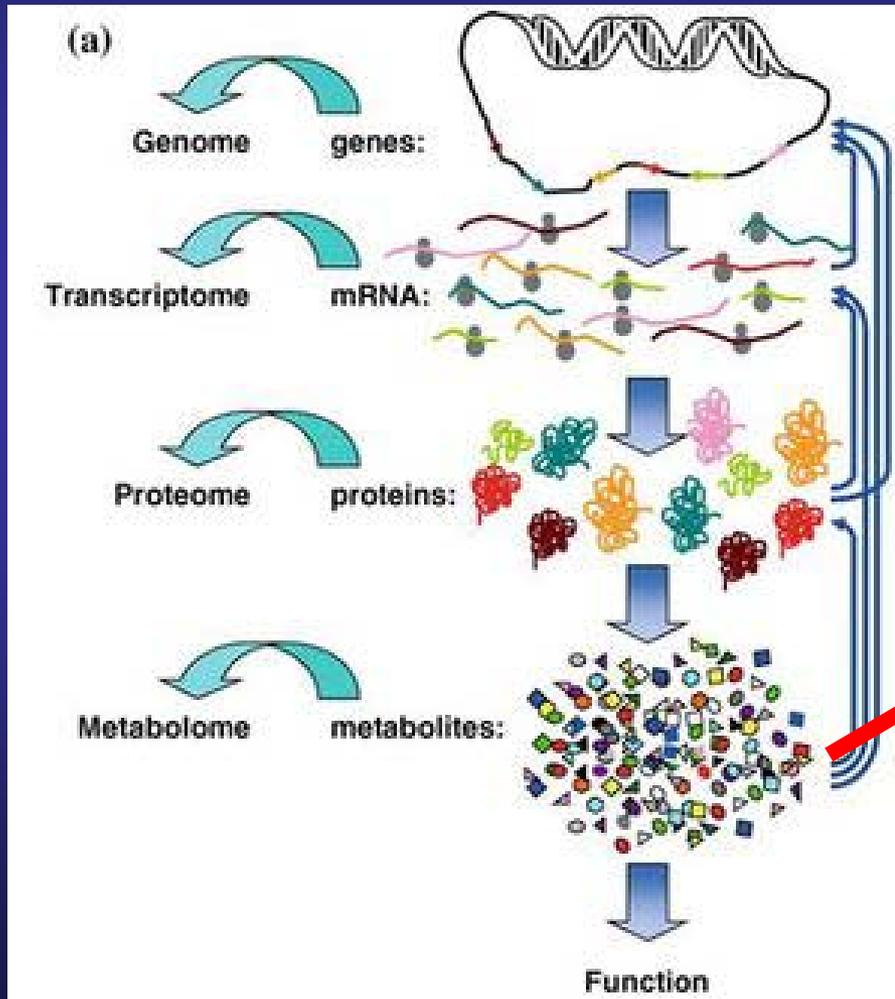
Proteoma

- **Proteoma completo:** de un organismo que puede ser conceptualizado como las proteínas de todas las variedades de proteomas celulares. Es aproximadamente, el equivalente proteínico del genoma
- **Proteoma celular:** la totalidad de proteínas expresadas en una célula bajo condiciones de medioambiente y etapa de desarrollo específicas.



Metaboloma

El **metaboloma** representa la colección de todos los **metabolitos** que se hayan en una célula, tejido, órgano u organismo en un momento dado (endógenos y de origen externo) y que son los productos finales del metabolismo y procesos celulares.



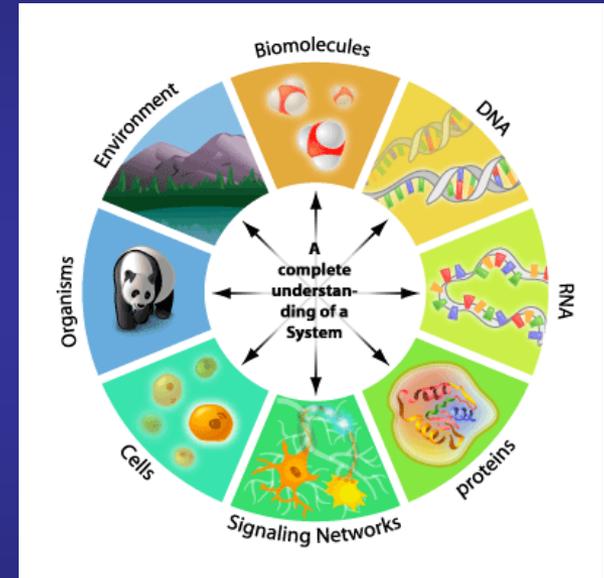
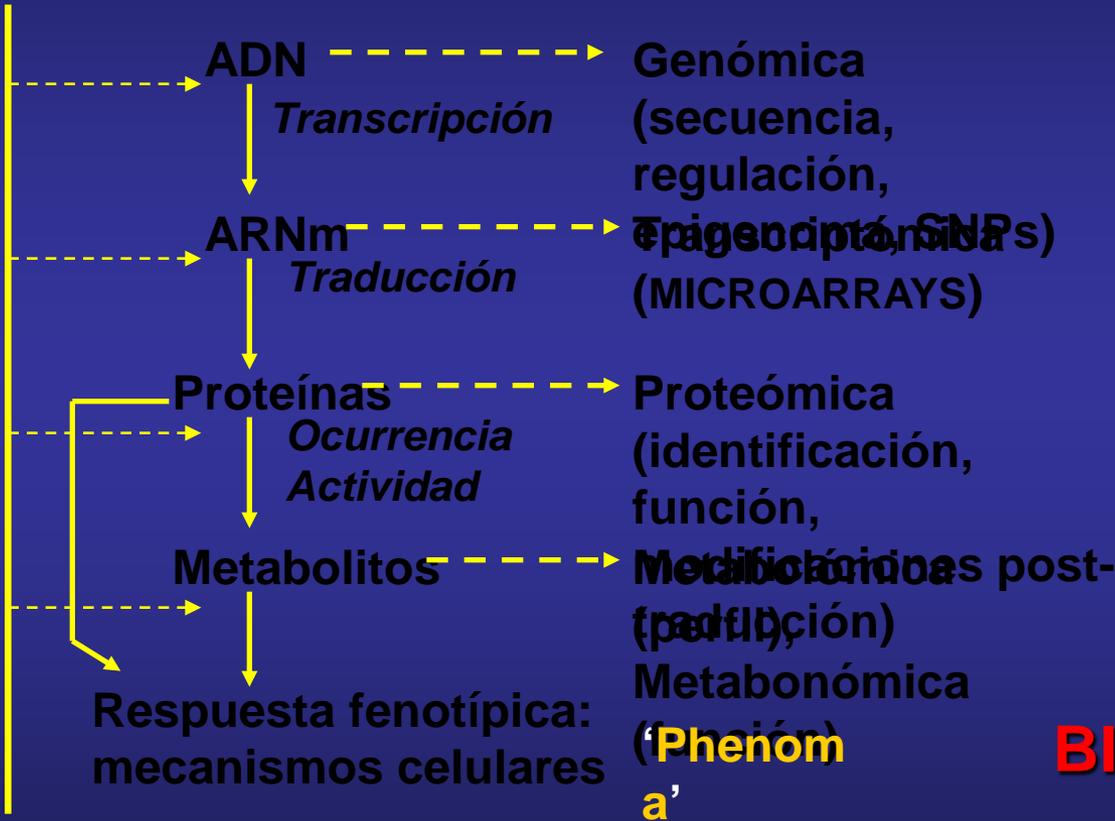
Ómicas

Tecnología 'Ómica'
como herramienta
investigadora

Estudio simultáneo de miles
de genes, mensajeros,
proteínas y metabolitos en un
solo experimento

Proceso celular

Tecnología ómica



BIOLOGÍA DE SISTEMAS

El reto no es encontrar la explicación a un comportamiento o respuestas en un solo gen o proteína, sino una explicación que sea consistente y bien cimentada en el contexto de la información complementaria de posiblemente cientos o miles de genes, proteínas y metabolitos.

Análisis del perfil transcriptómico

QUE?

➤ Determinación simultánea de los niveles de expresión (**ARNm**) de cientos a miles de genes en condiciones/tiempos determinados.

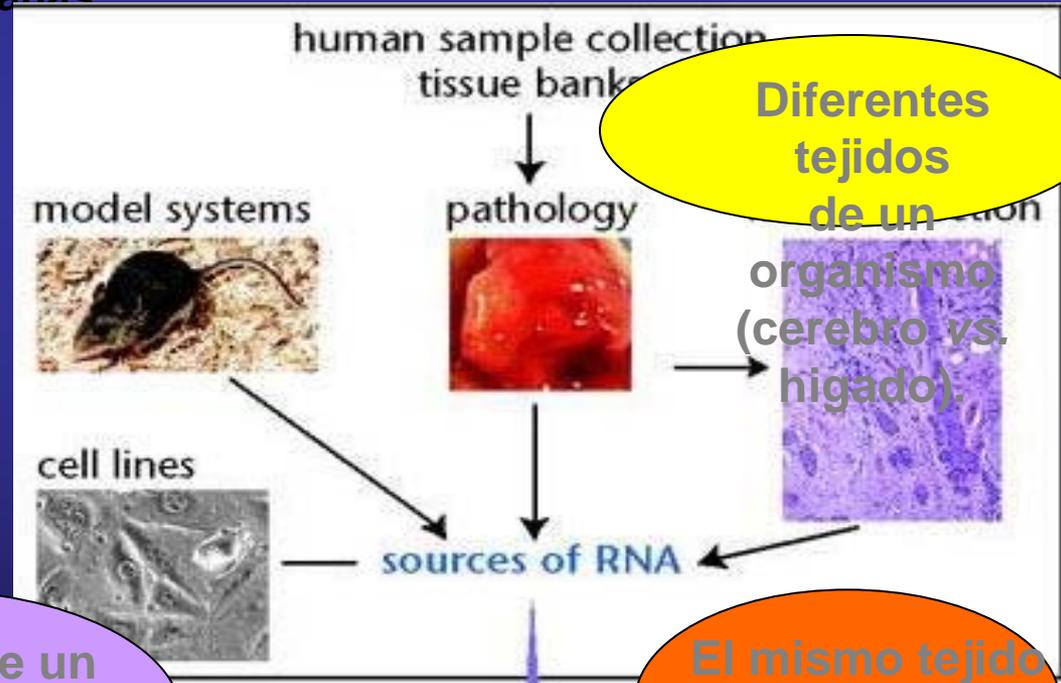
❑ Células: líneas celulares primarias, tumorales o aisladas del organismo (linfocitos).

❑ Tejidos animales, biopsias humanas

➤ **Identificación de genes** regulados/reguladores (diana, marcadores moleculares).

➤ **Identificación de perfiles** de expresión específicos.

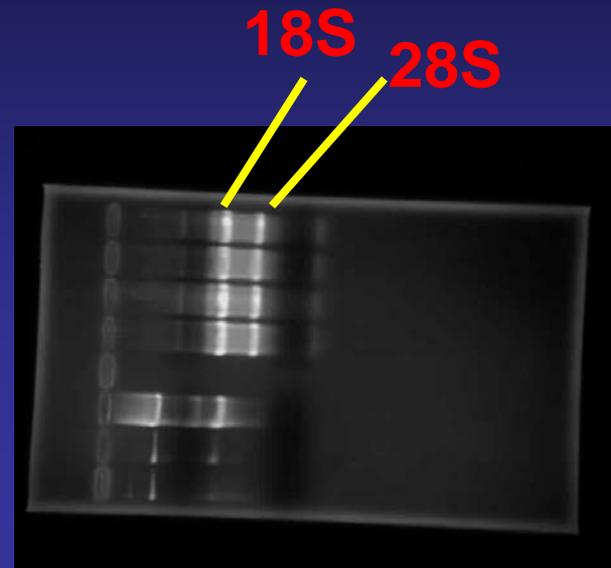
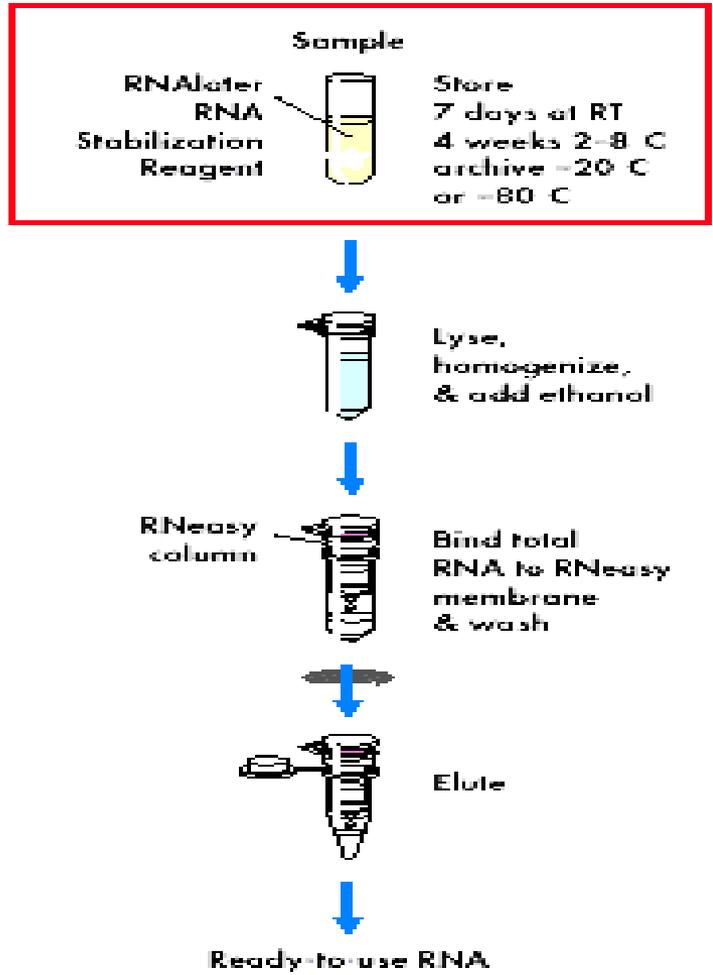
➤ **Identificación de funciones** biológicas alteradas.



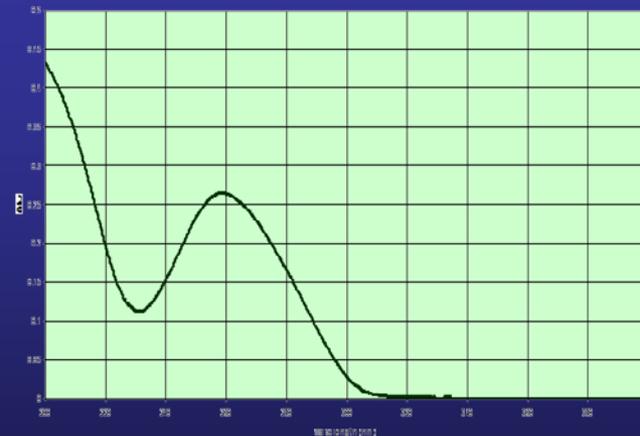
Obtención de ARN puro y cuantificación

RNeasy Procedure

Stabilization with RNeasy Protect Kits



ARN puro
preparado
para análisis

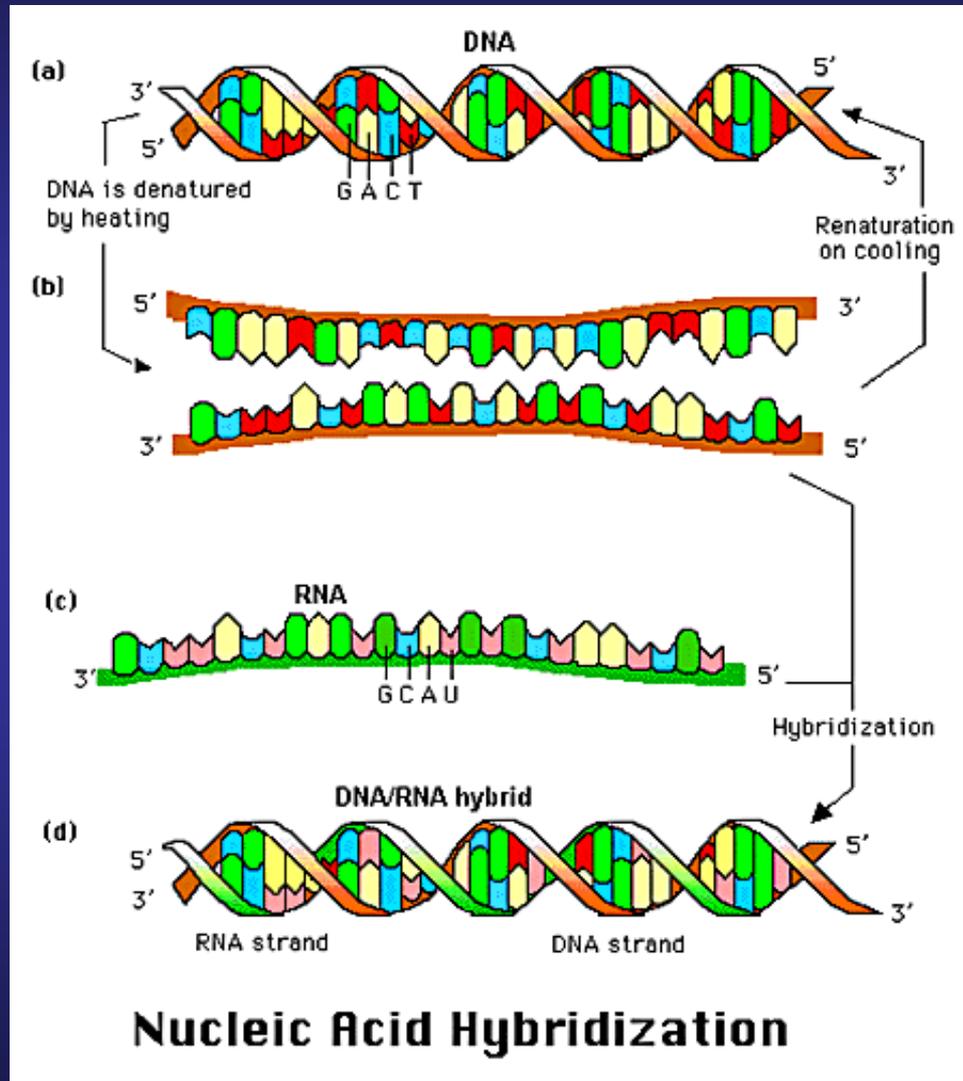


Microarrays de ADN: principios básicos

Se basan en dos principios fundamentales:

- **Transcripción reversa:** convierte de nuevo el ARNm en ADN.
- **Capacidad de hibridación del ADN.**

Propiedades del ADN



➤ Una cadena doble de ADN puede separarse (**desnaturalización**) por **temperatura** que destruye los puentes de hidrógeno entre los pares de bases.

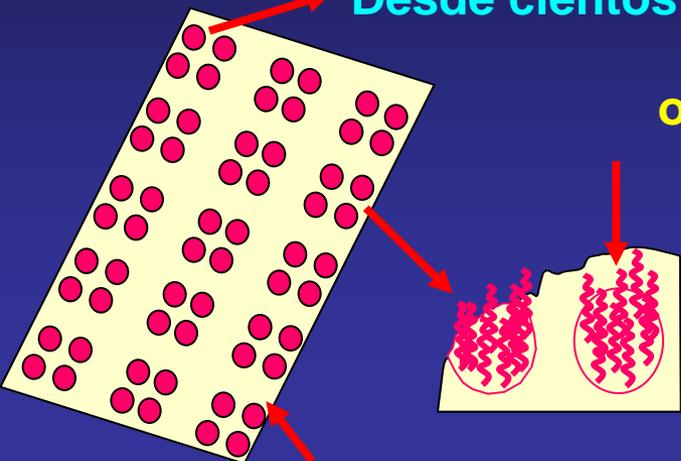
➤ La **hibridación** consiste en **pegar dos cadenas** de ADN que se complementan o de ARNm a su ADN del que se originó (**complementario**).

Microarrays: fundamento

- Microarrays: chips con secuencias de ADNc

Desde cientos a varios miles

Fragmentos de ADNc u oligonucleótidos específicos de un gen ('probes' o 'sondas') unidos covalentemente al soporte ('spots').



Soporte estable (cristal, silicona)

- Amplificación y marcaje de cadenas de ADNc o ARNc a partir del ARNm



ARN m G U A A U C C U C

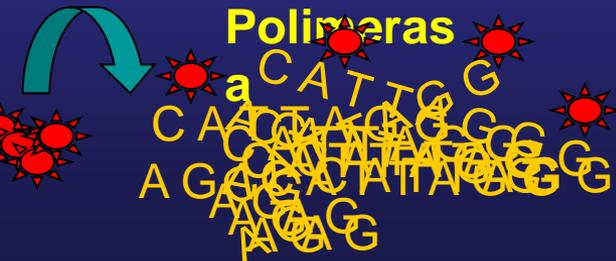
1) Transcriptasa

Reversa

TTAGG
ADNc
c

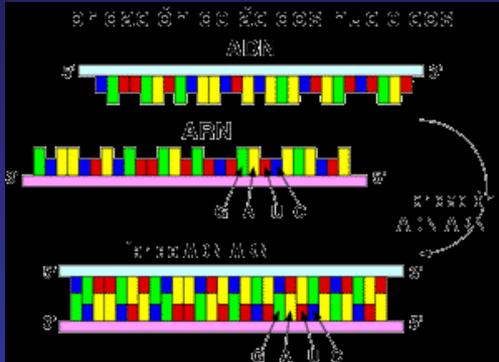
2) Polimeras

3) Molécula marcada

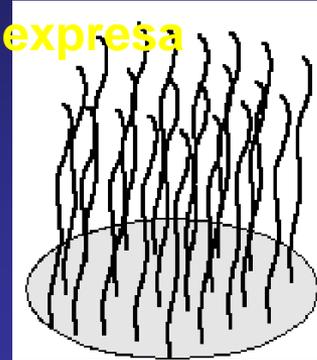


Microarrays: fundamento

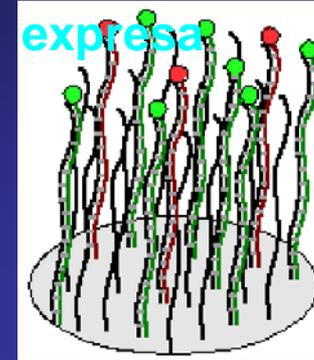
- Hibridación de dos cadenas de ácido nucleico que se complementan



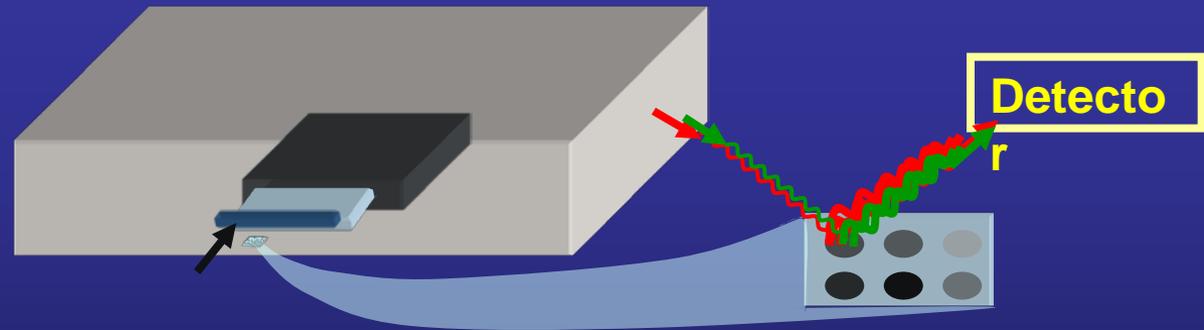
Gen no se expresa



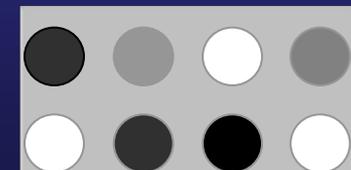
Gen se expresa



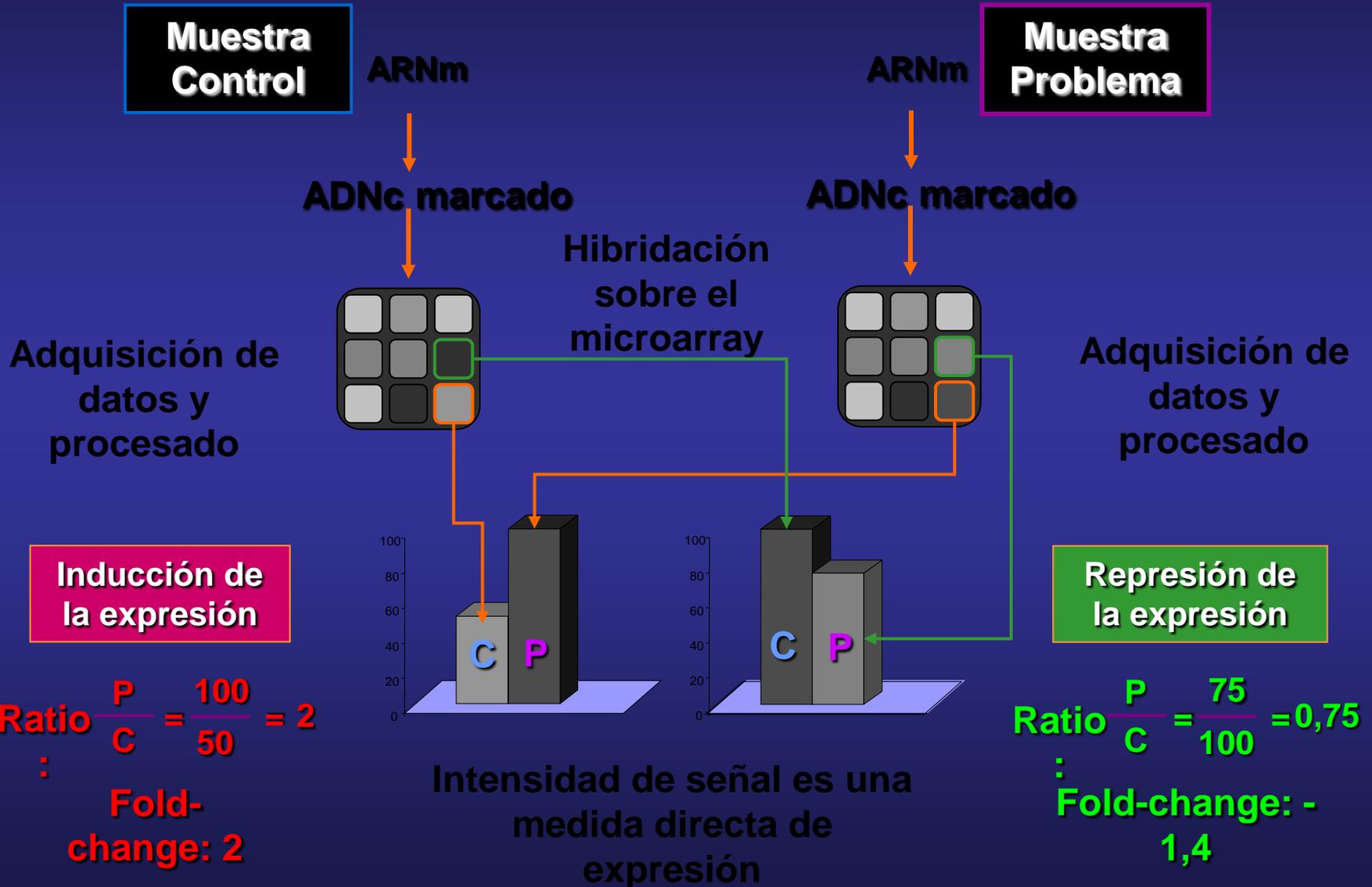
- Escaneado



- Análisis y procesamiento de imagen



Microarrays: expresión diferencial



Microarrays: análisis de expresión diferencial

Lista sondas (Affymetrix) Datos grupo Tratado Datos grupo Control

Datos normalizados

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M
1	ID Sonda	Tratado 1	Tratado 2	Tratado 3	Control 1	Control 2	Control 3	Media T	Media C	T/CT	Log2 T/CT	Fold change	Simbolo
2	211518_s_at	145.31	135.66	151.24	1524.68	1676.60	1674.87	144.07	1625.38	0.09	-3.50	-11.29	BMP4
3	209101_at	1100.27	1064.68	1091.18	9996.93	9515.37	9370.39	1085.38	9627.57	0.11	-3.15	-8.87	CTGF
4	217028_at	32.85	30.00	28.90	255.95	249.88	262.88	30.58	256.24	0.12	-3.07	-8.39	CXCR4
5	222802_at	786.61	838.18	722.18	6832.04	6246.31	6271.54	782.32	6449.97	0.12	-3.04	-8.25	
6	210764_s_at	545.33	441.99	454.47	4466.57	3687.15	3614.43	480.60	3922.72	0.12	-3.03	-8.16	CYR61
7	218995_s_at	663.03	654.93	707.10	5208.69	5184.38	5532.03	675.02	5308.37	0.13	-2.98	-7.87	EDN1
8	225328_at	33.64	24.82	38.28	228.11	212.75	209.69	32.24	216.85	0.15	-2.77	-6.83	
9	201289_at	846.07	795.65	825.70	5350.92	4689.13	4725.80	822.48	4921.95	0.17	-2.58	-5.97	CYR61
10	225810_at	134.13	159.14	145.05	776.51	869.23	776.26	146.10	807.33	0.18	-2.47	-5.53	MTMR10
11	204602_at	134.40	126.53	106.95	693.22	592.18	653.45	122.63	646.28	0.19	-2.40	-5.28	DKK1
12	235183_at	24.31	22.68	25.83	117.27	123.79	134.17	24.27	125.07	0.19	-2.37	-5.15	
13	222856_at	116.55	101.80	98.88	569.55	556.37	484.78	105.74	536.90	0.20	-2.34	-5.08	APLN
14													
15	202207_at	388.15	407.38	376.38	112.24	105.61	113.17	390.64	110.34	3.54	1.82	3.54	ARL4C
16	207029_at	276.99	221.05	188.07	59.85	67.97	59.38	228.70	62.40	3.63	1.86	3.63	KITLG
17	220266_s_at	151.85	96.24	96.46	34.40	25.82	33.10	114.85	31.11	3.63	1.86	3.63	KLF4
18	220351_at	445.35	513.44	546.34	124.54	134.85	145.68	501.71	135.02	3.71	1.89	3.71	CCRL1
19	209355_s_at	477.88	455.77	486.08	118.43	120.05	142.62	473.24	127.03	3.74	1.90	3.74	PPAP2B
20	212226_s_at	748.02	798.35	835.86	185.28	216.23	220.64	794.08	207.39	3.84	1.94	3.84	PPAP2B
21	211124_s_at	246.19	208.92	168.52	52.28	44.48	53.14	207.88	49.97	4.12	2.04	4.12	KITLG
22	226534_at	1232.55	1184.70	1216.89	275.39	261.93	270.27	1211.38	269.20	4.50	2.17	4.50	KITLG
23	221031_s_at	534.24	520.80	489.87	108.98	106.04	107.50	514.97	107.51	4.79	2.26	4.79	APOLD1
24	222486_s_at	245.50	189.30	184.45	31.10	29.02	27.01	206.41	29.04	7.06	2.82	7.06	ADAMTS1
25	205466_s_at	104.04	98.57	88.67	12.78	12.49	13.18	97.09	12.81	7.56	2.92	7.56	HS3ST1
26	221841_s_at	914.23	858.79	665.38	78.65	76.63	66.26	812.80	73.85	10.94	3.45	10.94	KLF4
27	222162_s_at	870.14	787.60	736.19	65.34	64.76	54.27	797.98	61.46	13.00	3.70	13.00	ADAMTS1
28													

OBJETIVO: Identificación de aquellos genes cuyos niveles de expresión son diferentes y reproducibles entre las muestras comparadas (control vs. tratada)

Paquetes informáticos: Expresión diferencial

Existen numerosos paquetes informáticos comerciales o disponibles en la red para el análisis de microarrays:

- Incluyen diferentes métodos analíticos para estudiar y comparar los datos (fáciles de usar).
- Integrados con múltiples bases de datos para ayudar al investigador a organizar la información y desarrollar hipótesis y modelos biológicos.
- Métodos de visualización de los resultados para ayudar a comprender los datos obtenidos.

GEPAS: Análisis de Expresión Génica

GEPAS
GENE EXPRESSION PATTERN ANALYSIS SUITE

You are using the **new GEPAS 4.0**, previous [version v3.1 here](#)
For GEPAS v4.0, your browser has to accept cookies

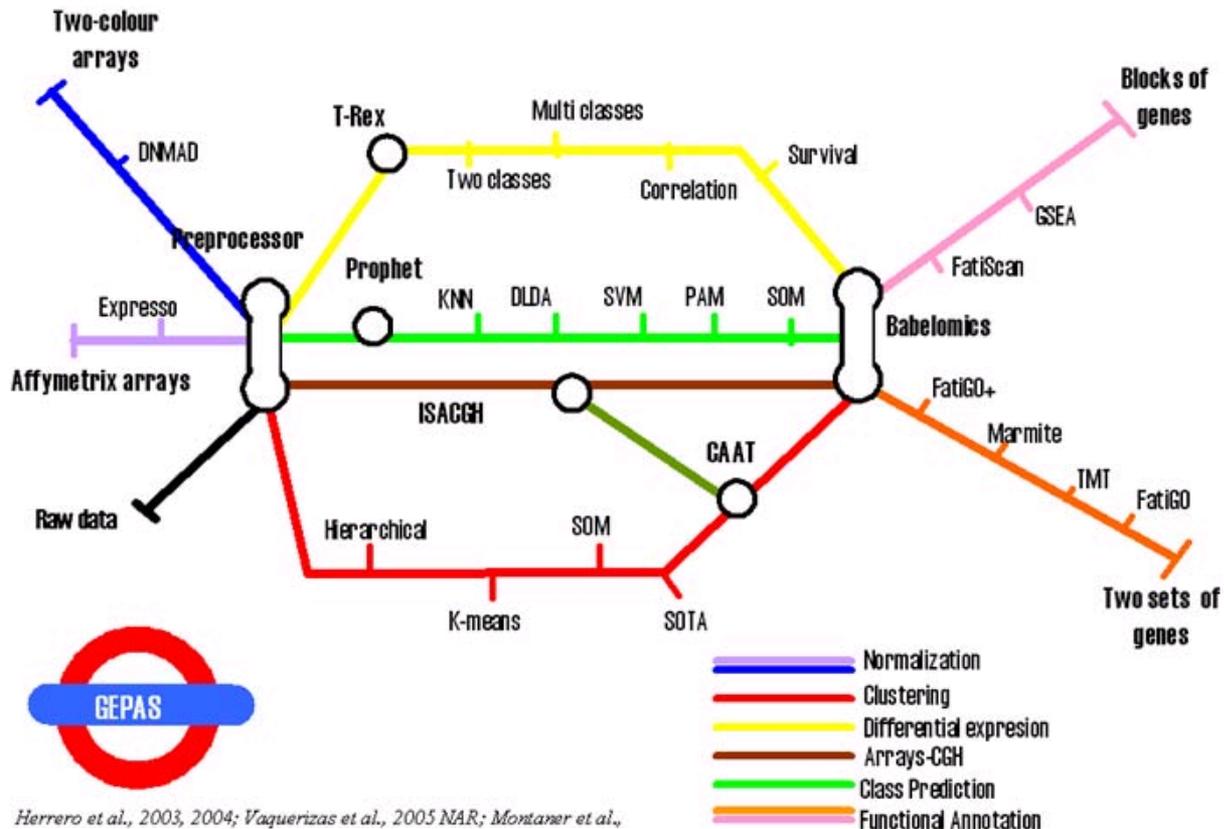
Tools Documentation Datasets News About us

Bioinformatics

Tools

GEPAS is the next station in microarray analysis, it is composed of the following interconnected tools :

- Normalization**
Affymetrix, two-colors normalization
- Preprocessing**
Apply logarithm, impute values, remove missing values, standardize...
- Clustering**
Hierarchical (SOTA, UPGMA, WPGMA...), non-hierarchical (SOM, K-means)
- Differential expression**
T-Rex (t-test, Bayes, data adaptive, CLEAR, ANOVA, Pearson's test, Spearman's test, regression, survival)
- Supervised classification**



Análisis de expresión diferencial: T-Rex



Differential Expression : form

Help | Send comments

On-line examples

TwoClasses MultiClasses Correlation Survival Time/Dosage series

Gene expression file

Select file from your computer

or select file from the server (clean text-box)

or enter your data

Sample info file
(classes, indep., time, censored...)

Select file from your computer

or select file from the server (clean text-box)

or enter your data

Tests

T-Test

Bayes

Data adaptive

SAM

CLEAR

CLEAR test

Significance level

Image parameters

Standardize

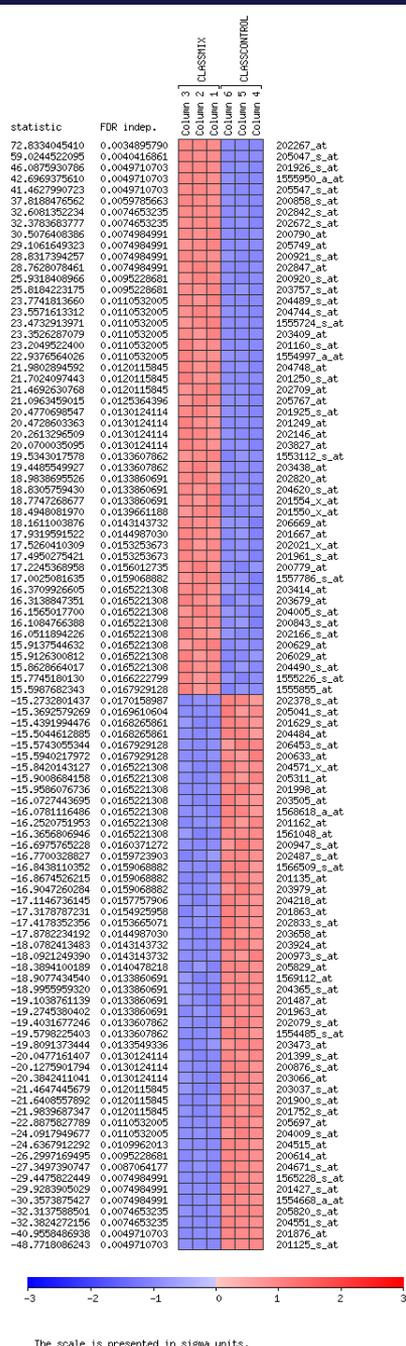
Rows

Scale

Job name

Submit

Resultados del análisis diferencial (t-test con corrección de multitest (FDR- B-H))



#ALGORITHM	t-test	statistic	pvalue	fwer.holm	fdrBH	qvalue
#DESCRIPTION	genename					
202267_at	72.833404541	2.13e-07	0.003489579	0.003489579	0.00231954844431711	
205047_s_at	59.0244522095	4.934e-07	0.0080828788	0.0040416861	0.00268653803386399	
201926_s_at	46.0875930786	1.3257e-06	0.021714966	0.00497107028571429	0.00330430643576763	
1559950_a_at	42.696937561	1.7988e-06	0.0294625452	0.00497107028571429	0.00330430643576763	
205547_s_at	41.4627990723	2.0222e-06	0.0331195916	0.00497107028571429	0.00330430643576763	
200858_s_at	37.8188476562	2.9194e-06	0.0478080944	0.005978566275	0.00397399631944798	
202842_s_at	32.6081352234	5.2739e-06	0.0863601125	0.007465323525	0.00496225463551266	
202672_s_at	32.3783683777	5.4247e-06	0.0888186131	0.007465323525	0.00496225463551266	
200790_at	30.5076408386	6.8772e-06	0.1125866412	0.0074984991	0.00498430668058188	
205749_at	29.1061649323	8.2947e-06	0.1357593549	0.0074984991	0.00498430668058188	
200921_s_at	28.8317394257	8.6138e-06	0.1409734508	0.0074984991	0.00498430668058188	
202847_at	28.7628078461	8.6963e-06	0.1423149495	0.0074984991	0.00498430668058188	
200920_s_at	25.9318408966	1.31379e-05	0.2149623198	0.00952286805652174	0.00632991939312509	
203757_s_at	25.8184223175	1.33691e-05	0.2187318451	0.00952286805652174	0.00632991939312509	
204489_s_at	23.7741813366	1.8562e-05	0.303637196	0.011053200525	0.00734714247262744	
204744_s_at	23.5571613312	1.92513e-05	0.3148935141	0.011053200525	0.00734714247262744	
1555724_s_at	23.4732913971	1.95262e-05	0.3193705272	0.011053200525	0.00734714247262744	
203409_at	23.3526287079	1.99305e-05	0.3259633275	0.011053200525	0.00734714247262744	
201160_s_at	23.20495224	2.04395e-05	0.334267583	0.011053200525	0.00734714247262744	
1554997_a_at	22.9376564026	2.14029e-05	0.3500016237	0.011053200525	0.00734714247262744	
204748_at	21.9802894592	2.53541e-05	0.414539535	0.0120115844684211	0.00798418722359046	
201250_s_at	21.7024097443	2.66684e-05	0.4360016716	0.0120115844684211	0.00798418722359046	
202709_at	21.4692630768	2.78373e-05	0.4550563431	0.0120115844684211	0.00798418722359046	
205767_at	21.0963459015	2.98432e-05	0.487787104	0.0125364396307692	0.00833306225273195	
201925_s_at	20.4770698547	3.35897e-05	0.5489900568	0.0130124114413043	0.00864944416374916	
201249_at	20.4728603363	3.36171e-05	0.5494042653	0.0130124114413043	0.00864944416374916	
202146_at	20.2613296509	3.50316e-05	0.5724513756	0.0130124114413043	0.00864944416374916	
203827_at	20.0700035095	3.63754e-05	0.5943376606	0.0130124114413043	0.00864944416374916	
1553112_s_at	19.5343017578	4.04958e-05	0.661498893	0.0133607862294118	0.00888101140948105	
203438_at	19.4485549927	4.12084e-05	0.6730980056	0.0133607862294118	0.00888101140948105	
202820_at	18.9838695526	4.53546e-05	0.7405952634	0.0133607862294118	0.00888101140948105	
204620_s_at	18.830575943	4.68355e-05	0.764683208	0.0133607862294118	0.00888101140948105	
201554_x_at	18.7747268677	4.73901e-05	0.773690252	0.0133607862294118	0.00888101140948105	
201550_x_at	18.494808197	5.02961e-05	0.821000000	0.0133607862294118	0.00888101140948105	

Lista de genes con cambios de expresión significativos entre dos condiciones

Interpretación de datos: análisis funcional

Extracción de los fenómenos biológicos que predominan en los resultados



PUBMED:
CYP1A1
6097
Liver CYP1A1
3057

Lista de genes con cambios de expresión significativos entre dos condiciones

Herramientas bioinformáticas

información recogida en la bibliografía y bases de datos biológicas

Human liver CYP1A1
972
Human liver CYP1A1 drug
652

Determinan si una determinada categoría o anotación funcional está estadísticamente representada en el grupo de genes seleccionados.

Determinan interacciones entre genes y entre genes y sus funciones: Redes Funcionales.

Pistas sobre posibles funciones biológicas, rutas y mecanismos moleculares en los que los genes modulados pueden estar implicados.

Project Manager

My Projects

- Colon Normal Zoster
- Caco-2 metabolites (SAM)JR
- TNF HUVEC Norwich
- Caco-2 Chokeberry
- Caco-2 Ellagitannins Metabolites
- CACO2met212
- Human Genes Chromosomal Location
- Sample Analyses
- Tissue Expression

Shared Projects

- Projects Shared with Others
- Projects Shared with Me

Libraries

- Ingenuity Canonical Pathways
- My Pathways
- Ingenuity Tox Lists
- My Lists

Quick Start Screen

Ingenuity Pathways Analysis



Search and Explore

Search IPA for genes, proteins, diseases, biological functions, chemicals and more.

[> Search](#)



Build Pathways

Create customized pathways for your targets, biomarkers, biological functions, and diseases of interest.

[> Build pathways](#)

[System Downtime](#)

[Training Schedule](#)

[Tutorials and Help](#)

[FAQs](#)

[Guidelines for Citing IPA](#)

[Customer Support](#)

Analyze



Core

Interpret datasets in the context of biological processes, pathways, and molecular networks.

[> Analyze a dataset](#) [> Compare analyses](#)



IPA-Tox

Assess toxicity and safety profiles of test compounds.

[> Analyze a dataset](#) [> Compare analyses](#)



IPA-Biomarker

Filter datasets and prioritize potential biomarker candidates.

[> Analyze a dataset](#) [> Compare analyses](#)



IPA-Metabolomics

Gain biological insight into cell physiology and metabolism from metabolite data.

[> Analyze a dataset](#) [> Compare analyses](#)

 Do not show at startup

INGENUITY ANALYSIS PATHWAY: 'Top Functions'

Funciones que aparecen mas significativamente asociadas a la selección de genes con expresión alterada.

Data for IPA dp3.9 4h vs DMSO 4h - 2007-03-06 03:0

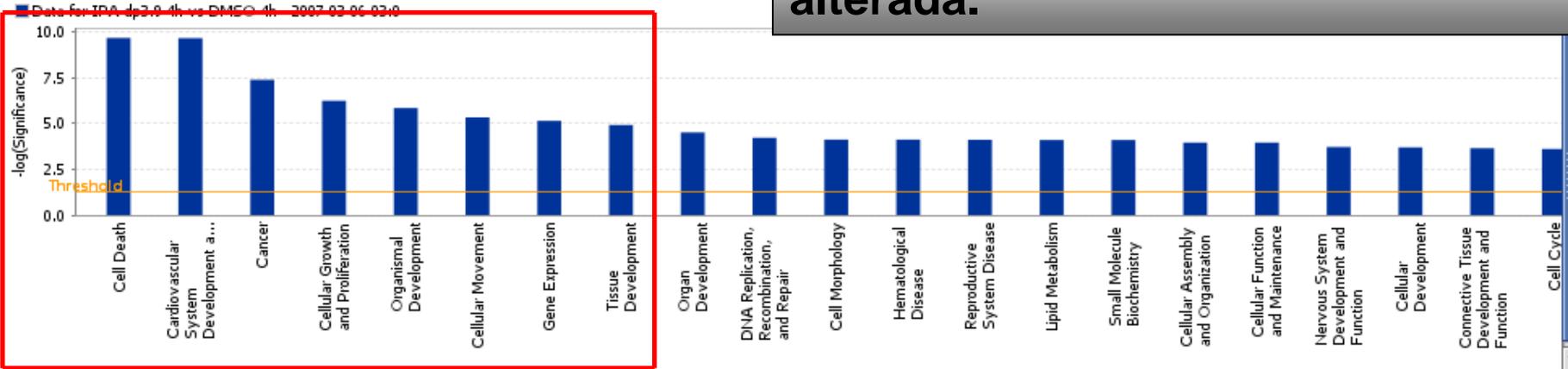
Networks \ Functions \ Canonical Pathways \ My Pathways \ Gene Summary \ Network Explorer

CUSTOMIZE CHART

View as:

BAR CHART

LINE GRAPH



ADD TO PATHWAY

ADD TO LIST

GENE DETAILS

VIEW FINDINGS



EXPAND FUNCTIONS

Functions and Diseases

Relevant Functions & Diseases

Cell Death

Cardiovascular System Development and Function

Cancer

Cellular Growth and Proliferation

Organismal Development

Significance

Associated Genes

418

2.12E-10 - 1.15E-2 202

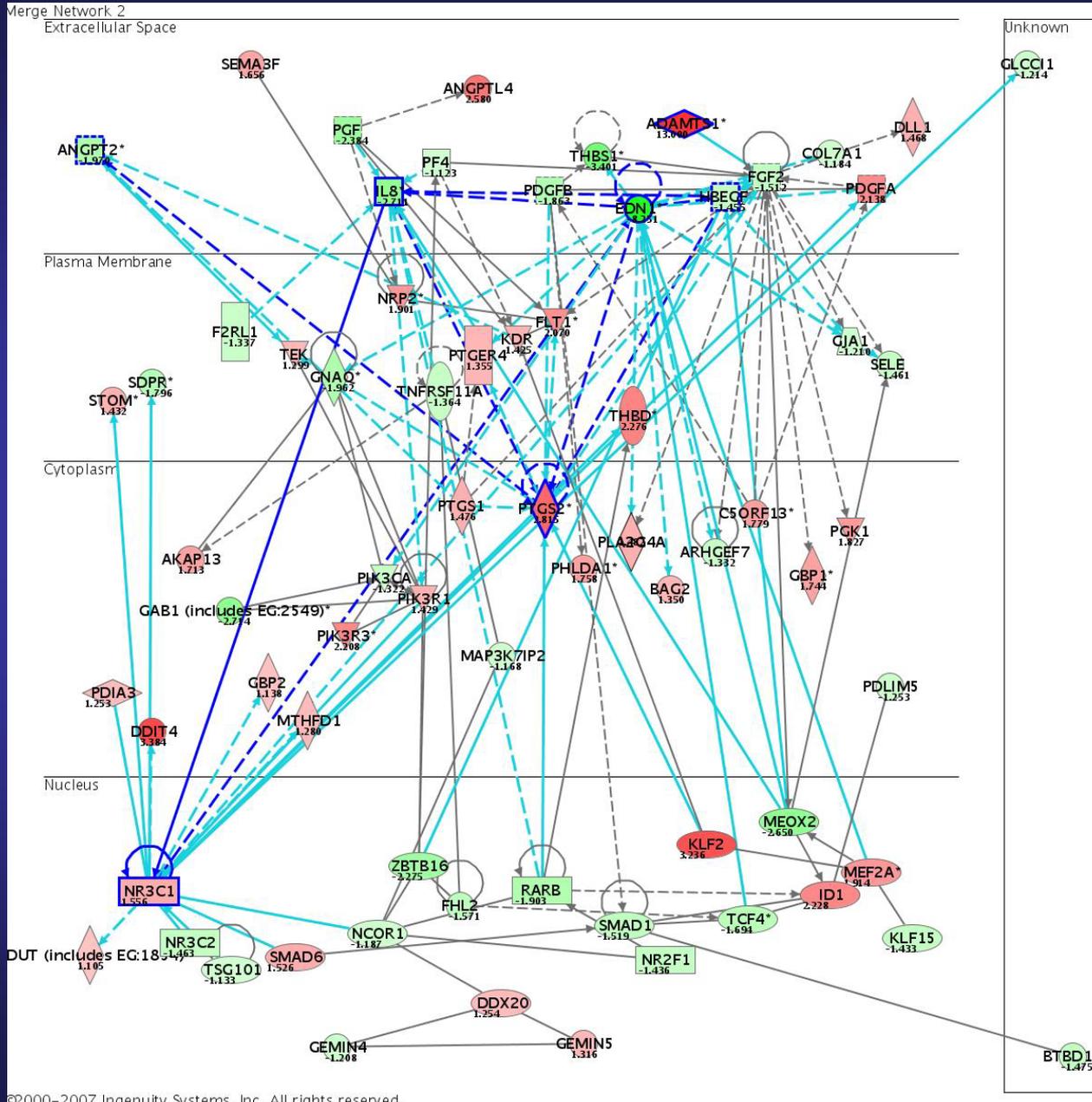
2.19E-10 - 1.15E-2 86

4.02E-8 - 1.15E-2 208

5.77E-7 - 1.15E-2 217

1.43E-6 - 1.15E-2 52

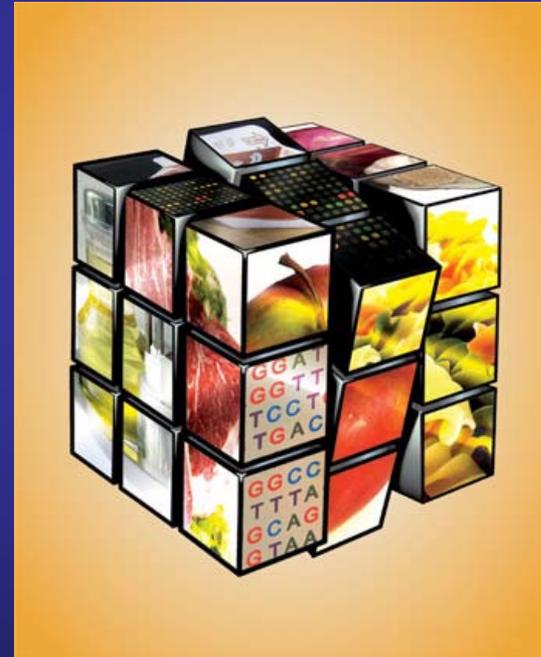
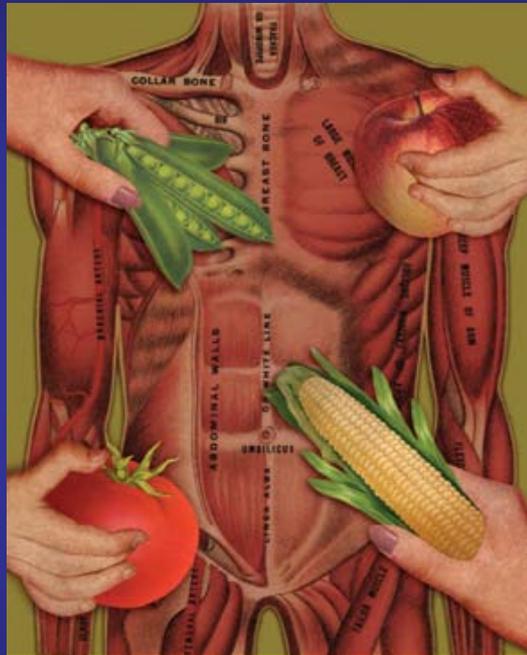
Redes Funcionales Gráficas



➤ Genes **reprimidos** están representados en **verde** y genes **inducidos** en **rojo**.

➤ Interacciones entre genes están representadas en **azul**.

PARTE 4. - NUTRITRANSCRIPTÓMICA: APLICACIONES ACTUALES Y PERSPECTIVAS

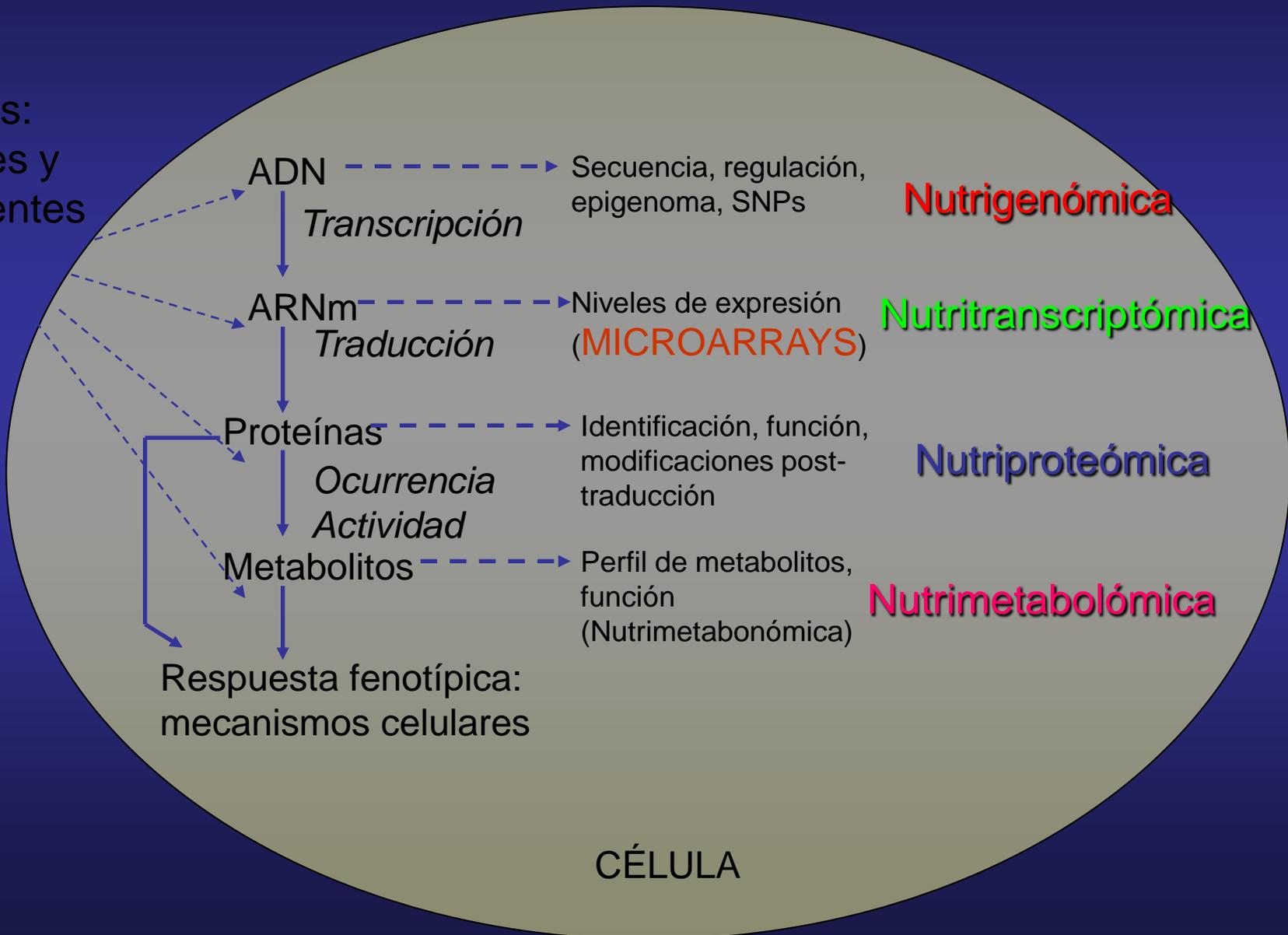


ÓMICAS EN ALIMENTOS

Proceso celular

Tecnología ómica

Alimentos:
Nutrientes y
No nutrientes



NUTRITRANSCRIPTÓMICA COMPARATIVA



ÁNALISIS TRANSCRIPTÓMICO APLICADOS AL ESTUDIO COMPARATIVO ENTRE DOS CONDICIONES NUTRICIONALES

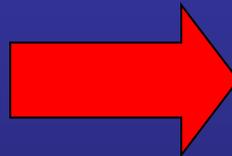
QUE?

Determinación simultánea de los niveles de expresión (**ARNm**) de cientos a miles de genes en condiciones/tiempos determinados.

➤ **Identificación de genes** regulados/reguladores (marcadores moleculares).

➤ **Identificación de perfiles** de expresión específicos.

➤ **Identificación de funciones** biológicas alteradas.



➤ Mayor entendimiento de los procesos celulares (respuestas a los componentes de alimentos, efecto en patologías).

➤ Descubrimiento de nuevas y mejores 'dianas' para el tratamiento y/o prevención de enfermedades.

➤ Identificación de perfiles génicos asociados a la aparición o retardo de enfermedades.

EJEMPLOS DE ESTUDIOS DE TRANSCRIPTÓMICA

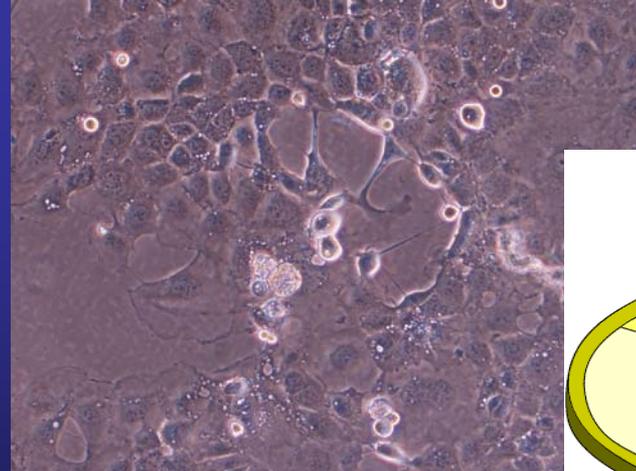
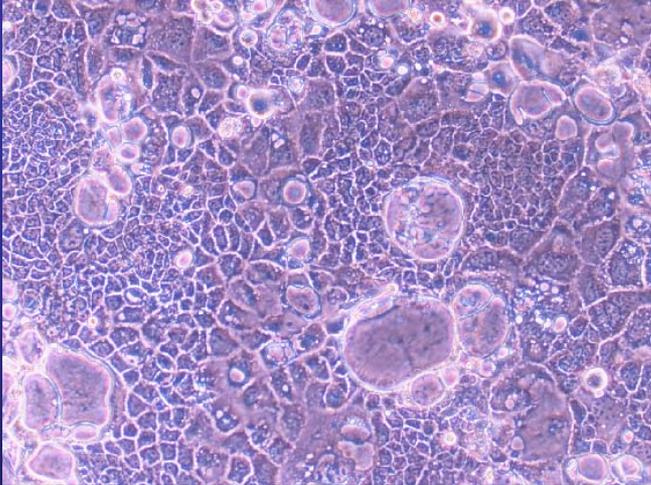
In vitro:
modelos
celulares

- Mecanismos moleculares en respuesta a moléculas específicas
- Tipos celulares apropiados frente a compuesto y dosis adecuadas (bio-disponibilidad real)

Metabolito activo de colon

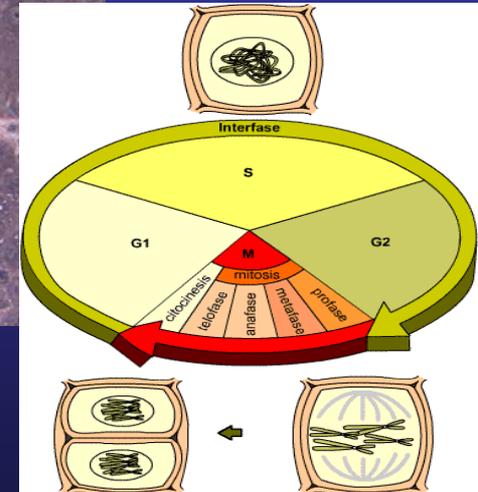
Urolitina A

(Mw: 228)



ARN

ARN



GeneChip® Probe Array

Hybridized Probe Cell

Single stranded,
labeled RNA target
Oligonucleotide probe



1.28cm

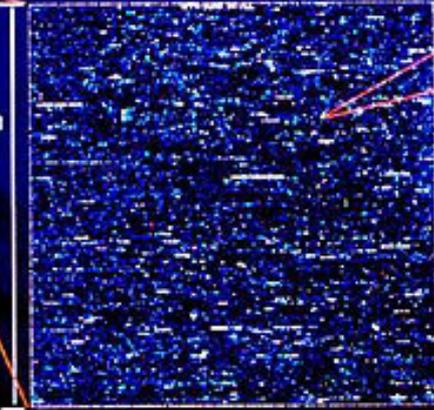
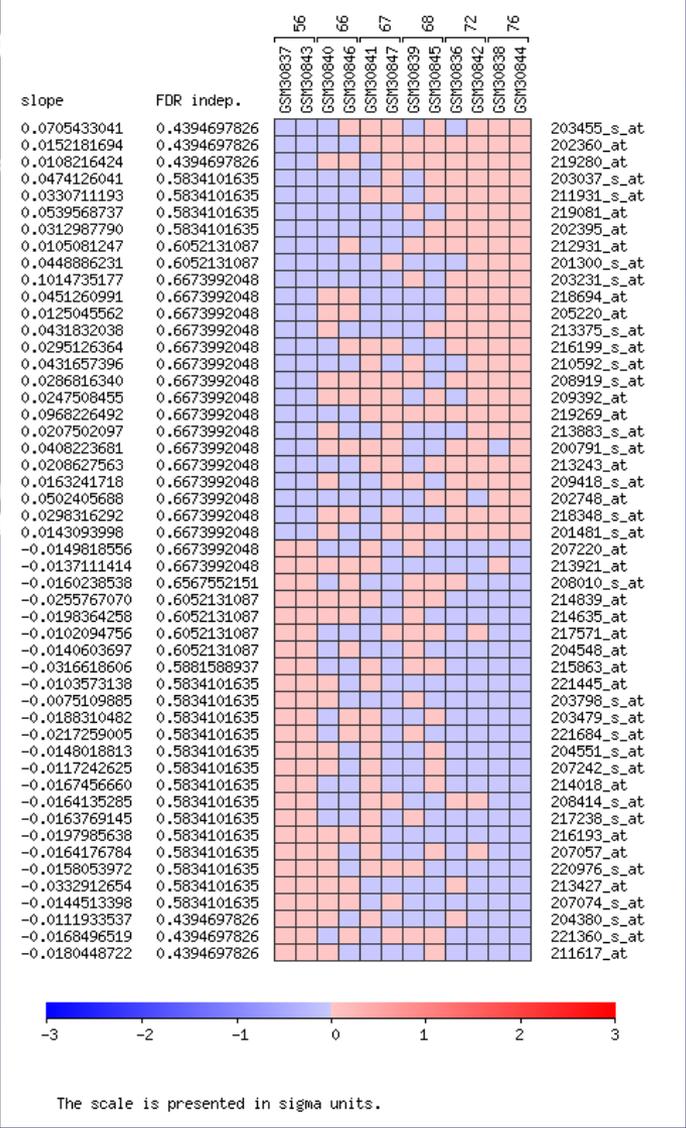


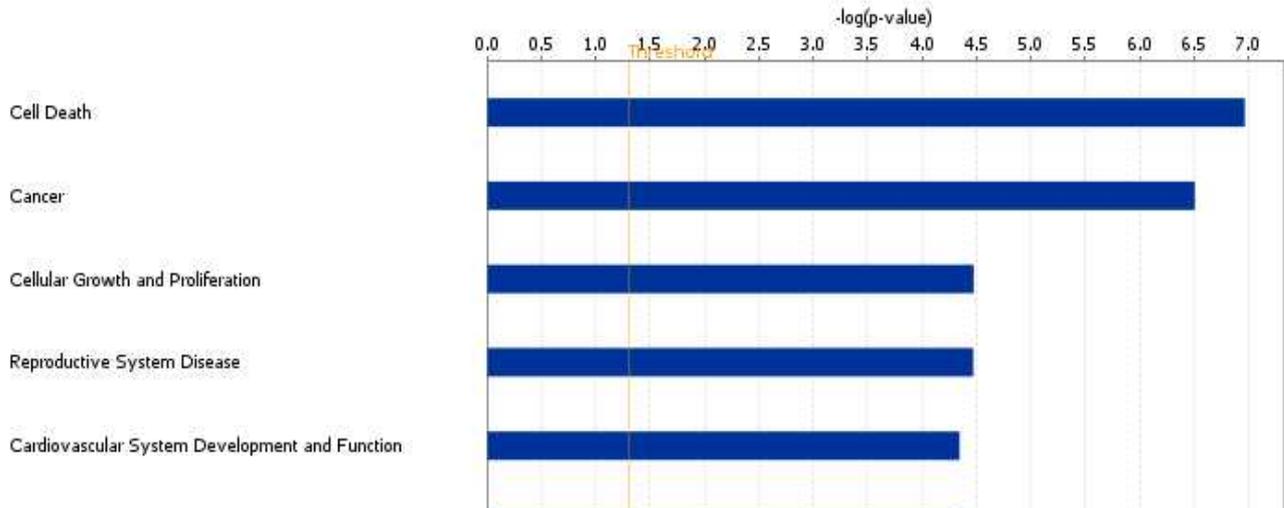
Image of Hybridized Probe Array

Millions of copies of a specific oligonucleotide probe

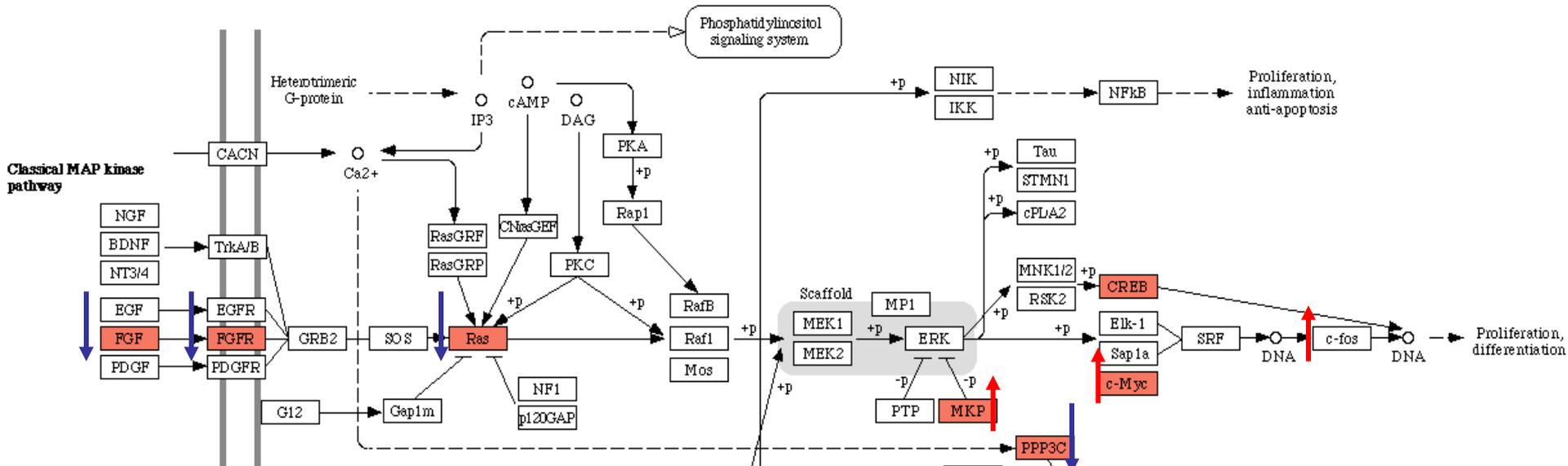
>400,000 different complementary probes



data mix for IPA - 2007-03-05 09:24 AM



MAPK SIGNALING PATHWAY



In vivo:
modelos
animales

- Evaluación de la significación biológica de los efectos *in vivo*

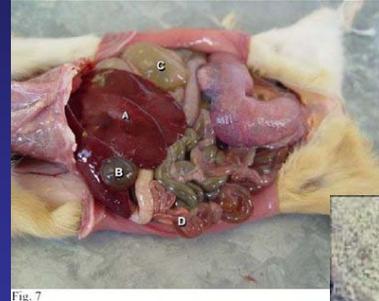
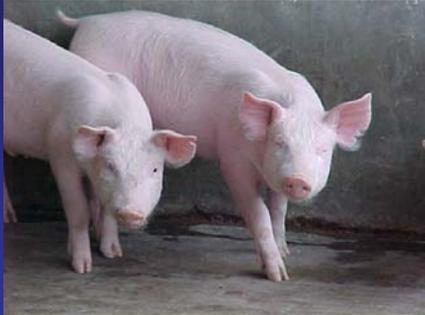


Fig. 7



- Muestras de todos los tejidos.
- Heterogeneidad de las muestras de tejidos



Extracción material genético (ARN)



- Biodisponibilidad; dosis dietéticas equivalentes a dosis humanas, plazos.
- Gran variedad de modelos: roedores, cerdos; modelos transgénicos; modelos inducidos

In vivo: estudios humanos

- Evaluación de la significación biológica de los efectos *in vivo*



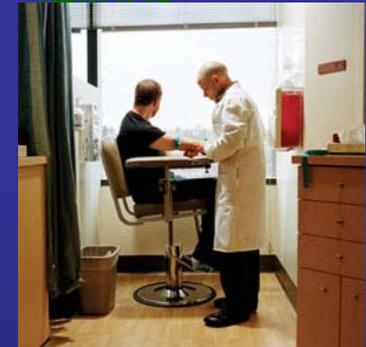
Intervención dietética:

- Alimento o producto
- Duración (agudos vs crónicos)
- Controles y/o placebos
- Dosis dietéticas reales



Toma de
muestras:

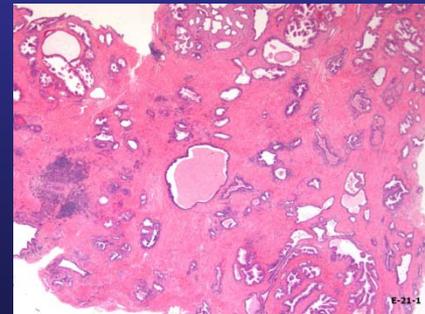
Dificultad toma
de muestras /
heterogeneidad
tejidos



(prevención vs tratamiento)



Extracción material
genético (ARN)



Mononuclear Cell Transcriptome Response after Sustained Virgin Olive Oil Consumption in Humans: An Exploratory Nutrigenomics Study

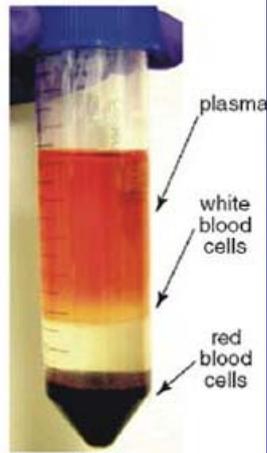
Olha Khymenets,^{1,2} Montserrat Fitó,^{2,3} María-Isabel Covas,^{2,3} Magí Farré,^{1,4} Maria-Antonia Pujadas,^{1,2} Daniel Muñoz,³ Valentini Konstantinidou,^{2,3} and Rafael de la Torre^{1,2,5}



TABLE 1. PLASMA LIPID PROFILE, OXIDATIVE STRESS, INFLAMMATION, AND GLYCEMIC HOMEOSTASIS BIOMARKERS^a IN VOLUNTEERS DURING DIETARY INTERVENTION^b

Biomarkers	Values	Male group (n = 6)		Male and female combined group (n = 10)	
		Baseline	3-week diet	Baseline	3-week diet
Plasma lipid profile:					
total cholesterol	mg/dL	164.00 (17.45)	174.67 (30.08)	169.10 (27.98)	171.80 (27.26)
LDL cholesterol	mg/dL	92.28 (20.48)	104.30 (20.03)	98.07 (21.37)	103.09 (20.46)
HDL cholesterol	mg/dL	57.23 (16.35)	57.02 (12.44)	56.73 (14.50)	56.55 (11.11)
triglycerides (TG)	mg/dL	68.45 (51.85–109.20)	62.80 (47.53–86.38)	68.45 (47.15–87.87)	61.00 ^c (39.88–69.60)
Oxidative stress:					
oxidized LDL	U/L	66.96 (21.85)	80.37 (34.48)	63.33 (18.90)	71.14 (30.56)
lipid peroxides ^d	μmol/L	5.37 (2.94–8.46)	3.82 (2.92–9.70)	3.47 (2.76–7.27)	2.87 (2.59–4.72)
Inflammation:					
C-reactive protein	mg/L	0.025 (0.015–0.033)	0.020 (0.010–0.065)	0.020 (0.015–0.033)	0.020 (0.010–0.038)
Glucose homeostasis:					
Serum Glucose	mg/dL	89.67 (5.29)	91.65 (6.24)	87.01 (5.89)	87.5 (7.49)

B



plasma
white blood cells
red blood cells

Microarray normalization and filtering
Cutoffs: $P < 0.05$ (t-statistics)
 $[\log_2(\text{ratio})]_i \geq 0.5$ (M-statistics)

n = 1659

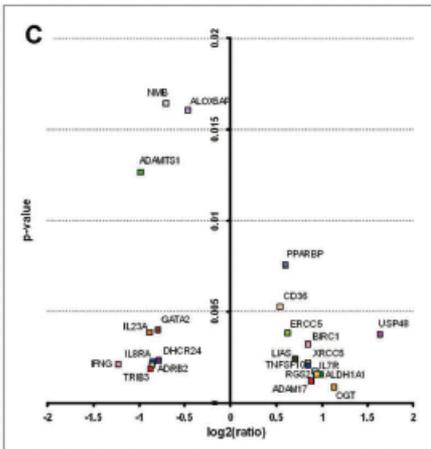
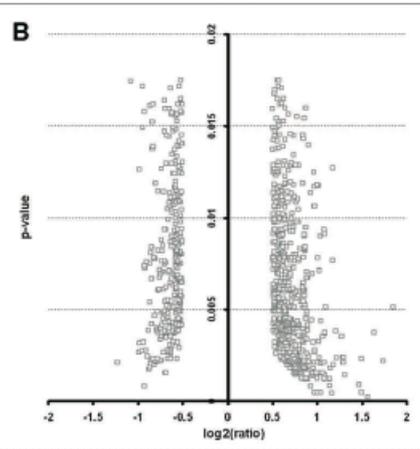
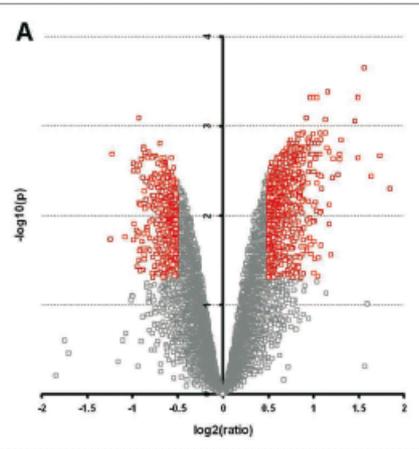
Additional cutoff: B-probability $\geq 20\%$
(B-statistics)
Data mining: Published reports
(PubMed database)

n = 317

qPCR verification:
microarray pooled samples
individual volunteers samples
Cutoffs: $P < 0.05$ & $[\log_2(\text{ratio})]_i \geq 0.5$

n = 23

Gene-responder
n = 10



- D**
- ADAM17
 - ALDH1A1
 - BIRC1
 - ERCC5
 - LIAS
 - OGT
 - PPARBP
 - TNFSF10
 - USP48
 - XRCC5

TABLE 2. OVER- AND UNDERREPRESENTED GO CATEGORIES AMONG THE DIFFERENTIALLY EXPRESSED GENES

ID	Category • Significant subcategory in this branch	Reference list ^a (n = 13,568)	Upregulated ^b (n = 1,034)				Downregulated ^c (n = 628)				Differentially expressed ^d (n = 1,659)			
			Hit (n)	Exp (n)	±e	p ^f	Hit (n)	Exp (n)	±e	p ^f	Hit (n)	Exp (n)	±e	p ^f
<i>Biological Process</i>														
BP00031	Nucleoside, nucleotide and nucleic acid metabolism	2110	232	161	+	0.000	75	97.7	-	0.187	307	258	+	0.020
BP00047	• Pre-mRNA processing	250	42	19.1	+	0.000	3	11.6	-	0.435	45	30.6	+	1.000
BP00048	• mRNA splicing	194	35	14.8	+	0.000	2	8.9	-	1.000	37	23.7	+	1.000
BP00055	• rRNA metabolism	73	16	5.6	+	0.031	6	3.4	+	1.000	22	8.9	+	0.021
BP00060	Protein metabolism and modification													
BP00061	• Protein biosynthesis	690	27	52.6	-	0.007	30	31.94	-	1.000	57	84.4	-	0.114
BP00072	• Protein complex assembly	70	15	5.3	+	0.061	1	3.24	-	1.000	16	8.6	+	1.000
BP00019	Lipid, fatty acid and steroid metabolism	375	14	28.6	-	0.055	21	17.36	+	1.000	35	45.9	-	1.000
BP00020	• Fatty acid metabolism	93	4	7.09	-	1.000	13	4.3	+	0.073	17	11.4	+	1.000
<i>Molecular Function</i>														
MF00042	Nucleic acid binding	2147	181	163.6	+	1.000	70	99.37	-	0.014	251	262.5	-	1.000
MF00075	• Ribosomal protein	570	14	43.4	-	0.000	23	26.38	-	1.000	37	69.7	-	0.001
MF00069	• Ribonucleoprotein	97	23	7.4	+	0.000	4	4.49	-	1.000	27	11.9	+	0.017
MF00036	Transcription factor	1084	115	82.6	+	0.007	29	50.17	-	0.016	144	132.5	+	1.000
MF00228	• Basal transcription factor	42	15	3.2	+	0.000	2	1.94	+	1.000	17	5.1	+	0.004
MF00087	Transfer/carrier protein	192	4	14.6	-	0.031	7	8.89	-	1.000	11	23.5	-	0.094
MF00077	Chaperone	162	36	12.4	+	0.000	3	7.5	-	1.000	39	19.8	+	0.002
MF00079	• Other chaperones	79	18	6.1	+	0.009	1	3.6	-	1.000	19	9.66	+	0.797

^aAll primary IDs, presented in comparison analysis of baseline to intervention level, were used as a reference list for estimation of under- and overrepresented GO categories for differentially expressed primary IDs, according to the cutoffs defined by t- and M-statistics (see explanation in Material and Methods).

^bUpregulation was defined by $p < 0.05$ and $\log_2(\text{ratio}) \geq 0.5$.

^cDownregulation was defined by $p < 0.05$ and $\log_2(\text{ratio}) \leq -0.5$.

^dDifferentially expressed, up and downregulated at $p < 0.05$ and $[\log_2(\text{ratio})]_i > 0.5$.

^eOverrepresented (+) and under-represented (-).

Futuro

- Mayor conocimiento del genoma y de su biología: mayor precisión pero también mayor complejidad de los planteamientos.
- Microarrays mejor diseñados (*'sequencing technology'*) y más económicos: mayor N^o de muestras, más reproducibilidad.
- Mejores y más fáciles y accesibles herramientas de análisis (bioinformática para todos).
- Cambio en los planteamientos: Necesidad de desarrollar más y mejores estudios *in vivo* (1^o) e *in vitro* (2^o).
- Integración con estudios de proteómica, variabilidad genética (polimorfismos), epigenética... Bases de Datos, Bioinformática



SYSTEMS BIOLOGY

An antiinflammatory dietary mix modulates inflammation and oxidative and metabolic stress in overweight men: a nutrigenomics approach¹⁻⁴

Gertruud CM Bakker, Marjan J van Erk, Linette Pellis, Suzan Wopereis, Carina M Rubingh, Nicole HP Cnubben, Teake Kooistra, Ben van Ommen, and Henk FJ Hendriks



36 voluntarios sanos

4 × 5 semanas = 20 semanas



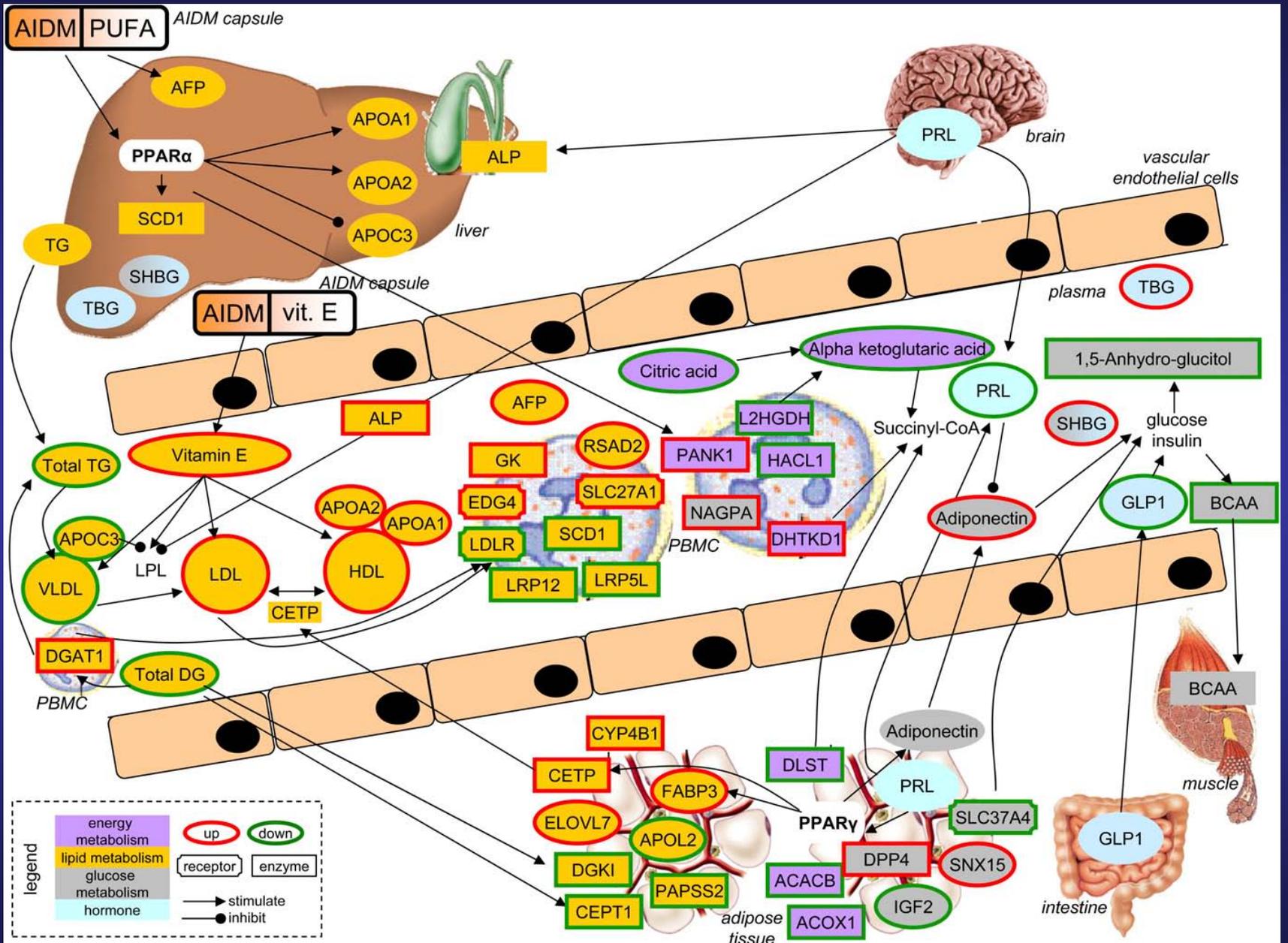
- Mezcla de AOX (resveratrol, extracto de tomate, extracto de te, vit. C, a. grasos insaturados)
- 4 capsulas al día

Linfocitos y tejido adiposo
Sangre y orina

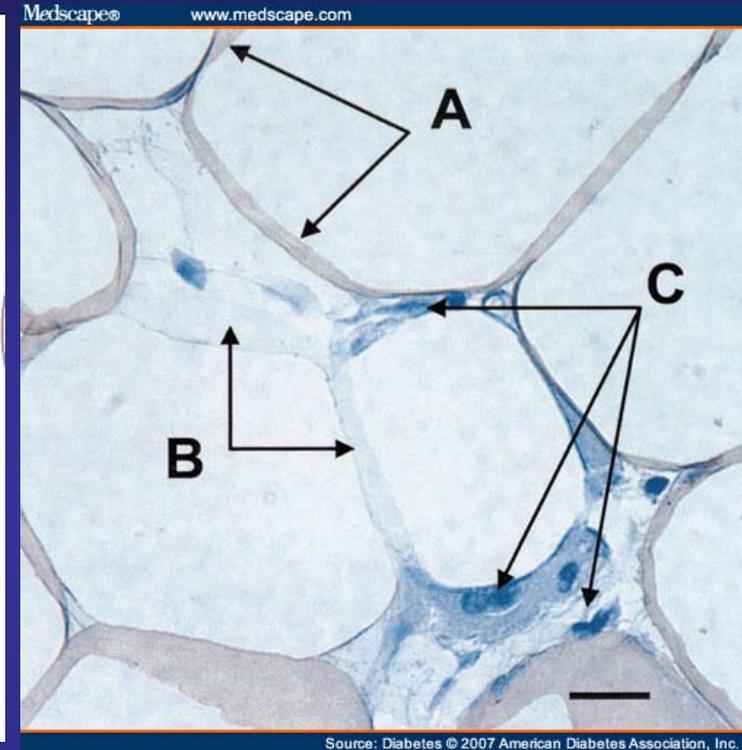
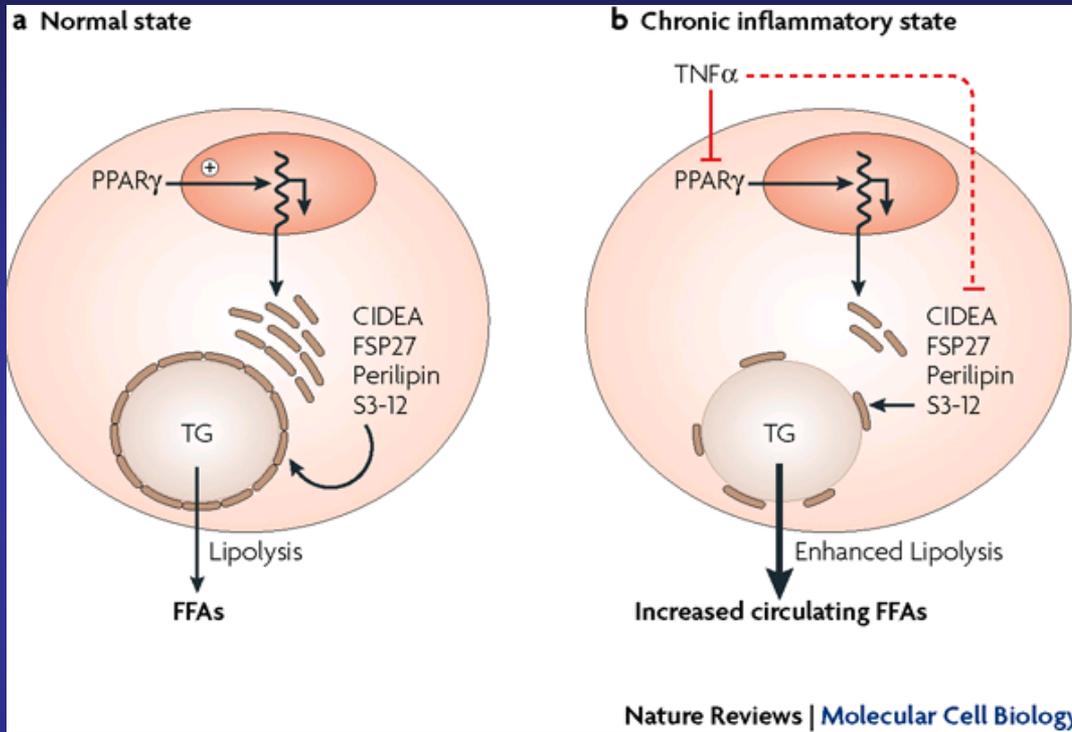
➤ Metabolitos (lípidos) en sangre
(**Metabolómica**)

➤ Expresión génica en linfocitos y adiposo (**Transcriptómica**)

➤ Proteínas en sangre (marcadores de inflamación) (**Proteómica**)



Ejemplo interacción polimorfismo-componente de la dieta



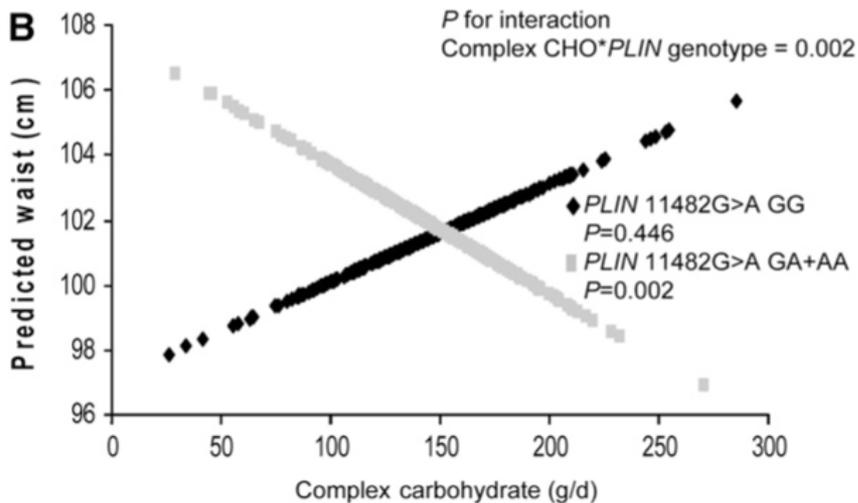
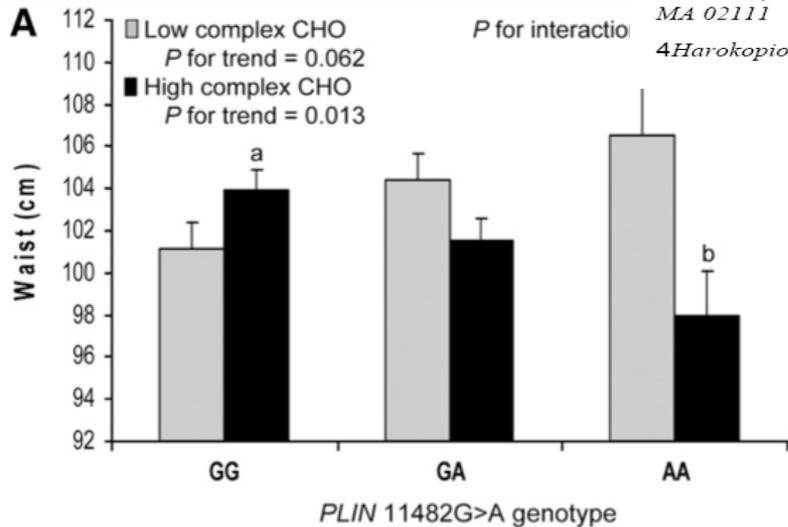
- Perilipina (*PLIN*) rodea las gotas lipídicas en adipocitos y regula metabolismo de estas células (inhibe lipolisis, promueve acumulación de grasa, TG).
- Gen de interés en relación con la obesidad.
- Variantes genéticas de *PLIN* afectan el metabolismo de adipocitos y riesgo de obesidad.

Perilipin Polymorphism Interacts with Dietary Carbohydrates to Modulate Anthropometric Traits in Hispanics of Caribbean Origin^{1,2}

Caren E. Smith³, Katherine L. Tucker³, Nikos Yiannakouris⁴, Bibiana Garcia-Bailo³, Josiemer Mattei³, Chao-Qiang Lai³, Laurence D. Parnell³, and José M. Ordovás^{3,*}

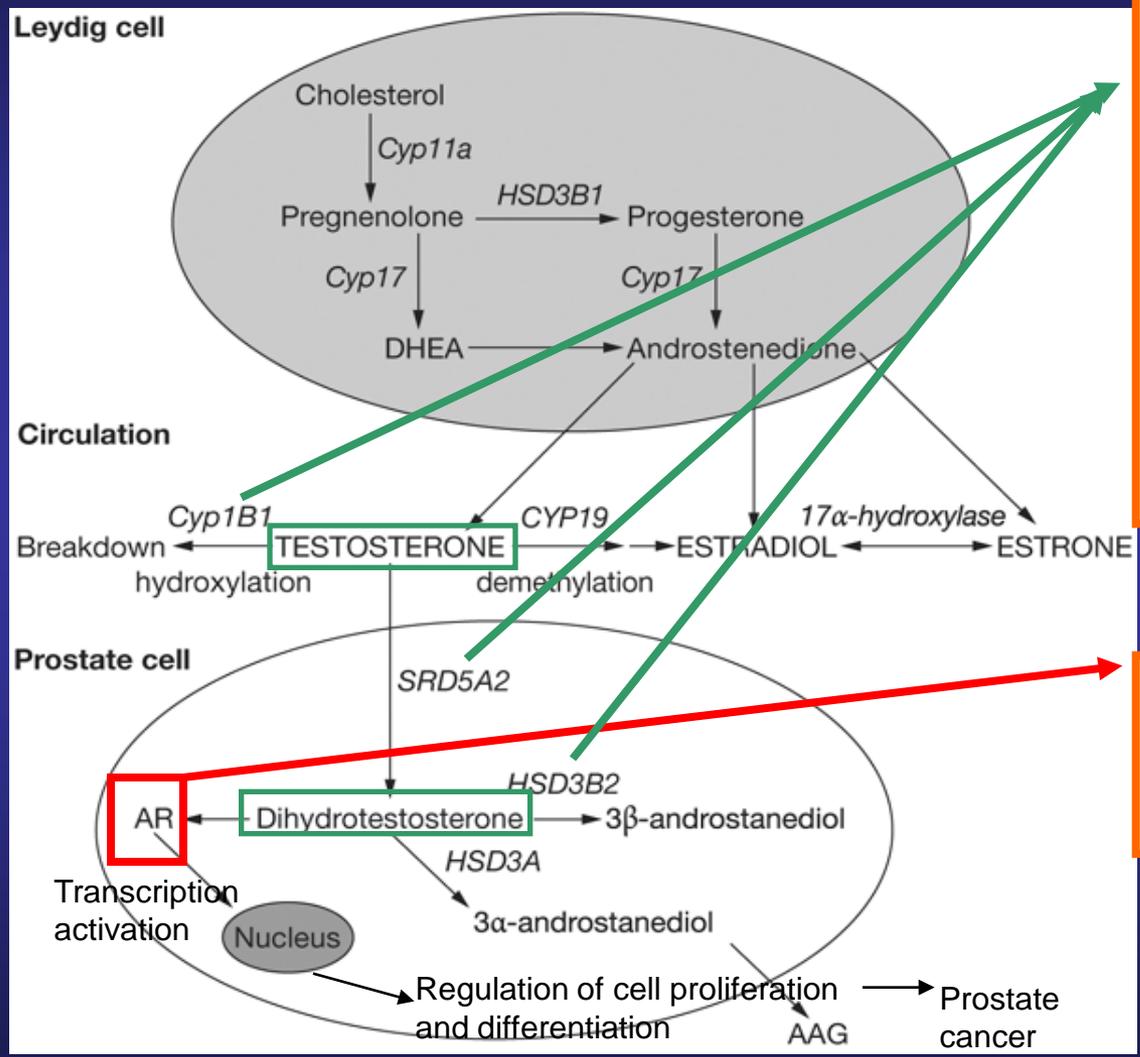
³Jean Mayer USDA Human Nutrition Research Center on Aging, Tufts University School of Medicine, Boston, MA 02111

⁴Harokopio University of Athens, 17671 Athens, Greece



- 256 hombres y 664 mujeres hispanos de entre 47 y 74 años de edad (Boston).
- Obesidad medida como perímetro cintura.
- Polimorfismo *PLIN 11482 G>A* (GG, GA, AA)
- Ingesta de carbohidratos complejos (alta >144 g/d vs baja <144 g/d).

Pequeñas contribución de múltiples polimorfismos: riesgo de enfermedad



Polimorfismos de genes relacionados con metabolismo de andrógenos:

- *CYP1B1*, g355t: sustitución de 1 aa
- *SRD5A2*, g888a: sustitución de 1 aa
- *HSD3B2*, N367T: sustitución de 1 aa

Polimorfismos de AR:

- g1733a: \uparrow riesgo de cancer
- a748t: \downarrow estabilidad de AR

Singh AS *et al.* (2005) Mechanisms of Disease: polymorphisms of androgen regulatory genes in the development of prostate cancer. *Nat Clin Pract Urol* 2: 101–107 doi:10.1038/ncpuro0091