

Macierz – układ liczb, symboli lub wyrażeń zapisanych w postaci prostokątnej tablicy

$$\mathbf{A} = \begin{bmatrix} a_{11} & a_{12} & \cdots & a_{1j} & \cdots & a_{1n} \\ a_{21} & a_{22} & \cdots & a_{2j} & \cdots & a_{2n} \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots & \ddots & \vdots \\ a_{i1} & a_{i2} & \cdots & a_{ij} & \cdots & a_{in} \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots & \ddots & \vdots \\ a_{m1} & a_{m2} & \cdots & a_{mj} & \cdots & a_{mn} \end{bmatrix}$$

i-ty wiersz

j-ta kolumna

Macierz wymiaru $m \times n$ przedstawia się jako tablicę złożoną z $m \cdot n$ liczb rzeczywistych ustawionych w m wierszach i n kolumnach. Elementy macierzy mogą być liczbami rzeczywistymi, zespolonymi lub funkcjami

Mikromacierz

Uporządkowany zbiór jednoniciowych fragmentów DNA (sond molekularnych), unieruchomionych na określonej powierzchni w ściśle zdefiniowanym porządku.

Jaros, 2006

Miniaturowe układy hybrydyzacyjne składające się z sond specyficznymi rozpoznających fragmenty genów lub transkryptów

Formanowicz i in., 2008

Mikromacierze

Rodzaj sond

- cDNA – sondy o długości kilkuset nt
- **Oligonukleotydowe:**
 - ✓ o sondach długich (50 – 70nt)
 - ✓ o sondach krótkich (**18 – 25nt**)

Cel eskperymentu

- Analiza ekspresji
- Genotypowanie
- CNV (ang. copy number variation)
- Alternatywny splicing
- Metylacja DNA
- ...

Mikromacierze cDNA

Sondy:

- Krótkie sekwencje ekspresyjne EST (ang. expressed sequence tag)
- Sekwencje cDNA otrzymane po odwrotnej transkrypcji

Każda sonda powstaje oddzielnie

Powstałe sondy nanoszone są na płytkę

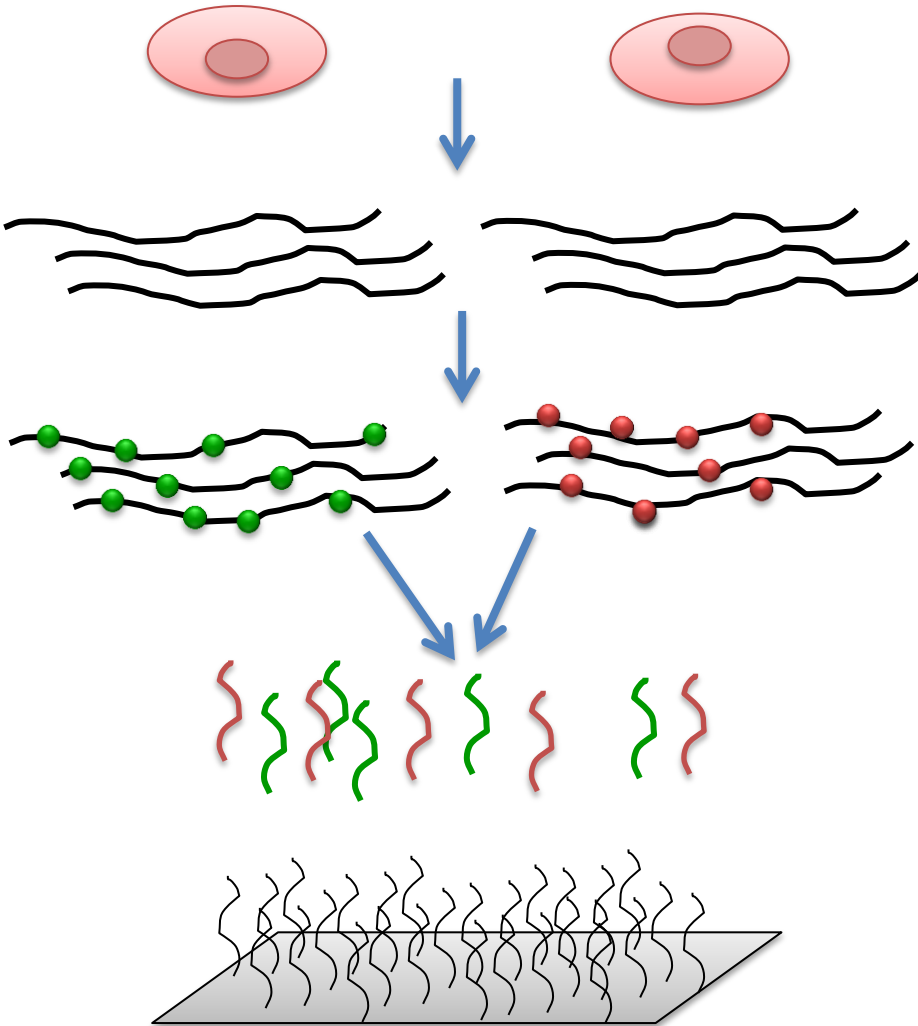
Dostępne są biblioteki klonów i komercyjne zestawy

Ogólny przebieg eksperymentu

Mikromacierz ekspresyjna

Tkanka kontrolna

Tkanka badana



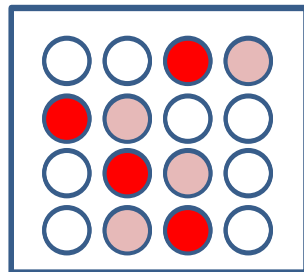
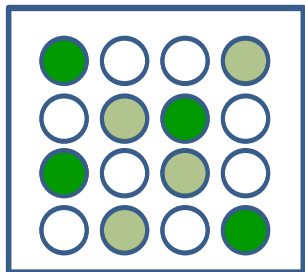
Izolacja mRNA

Odwrotna transkrypcja
Znakowanie cDNA

● **Cyanine-5 (Cy5)**
● **Cyanine-3 (Cy3)**

Hybrydyzacja z sondami na mikromacierzy

Odczyt i interpretacja wyników
Analiza danych



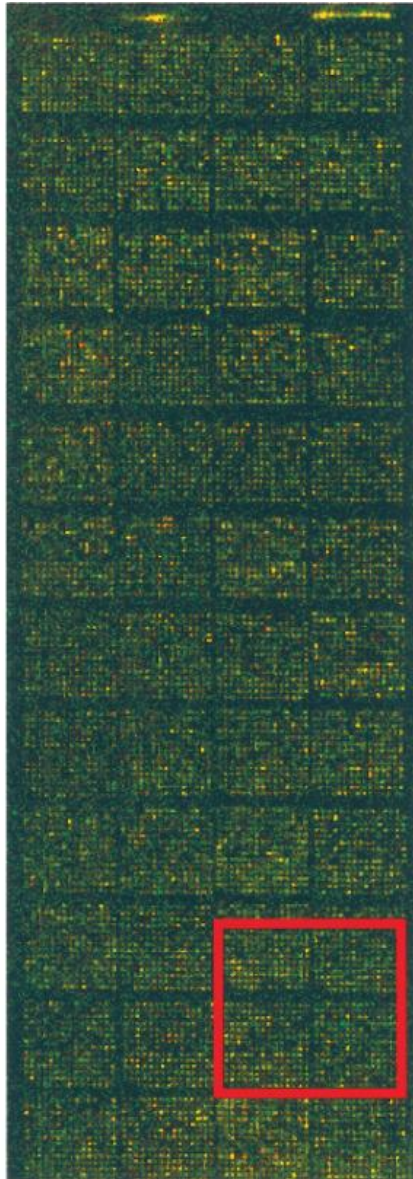
Odczyt i interpretacja wyników Analiza danych

Ekspresja tylko w tkance kontrolnej

Ekspresja tylko w tkance badanej

Porównywalna ekspresja w obu tkankach

(A)



(C) Summary of the microarray data

total genes	good spots	up regulation	down regulation
9982	1143	68	43

(D) Statistical analysis of the microarray data

Exp	mean ratio (Cy5/Cy3)	mean difference of ratio	d.f. (n - 1)	T value	P
1	1.13	0.14	1142	0.93	> 0.05
2	0.99	—	—	—	—

Expression profiling of HS27 newborn foreskin fibroblasts upon red light irradiation by using a 10,000 human cDNA microarray.

(A) Microarray image overlapping Cy3 (control) and Cy5 (sample) fluorescence images.

(B) An enlarged region of the microarray image.

(C) Summary of the microarray data.

(D) Statistical analysis of microarray data.

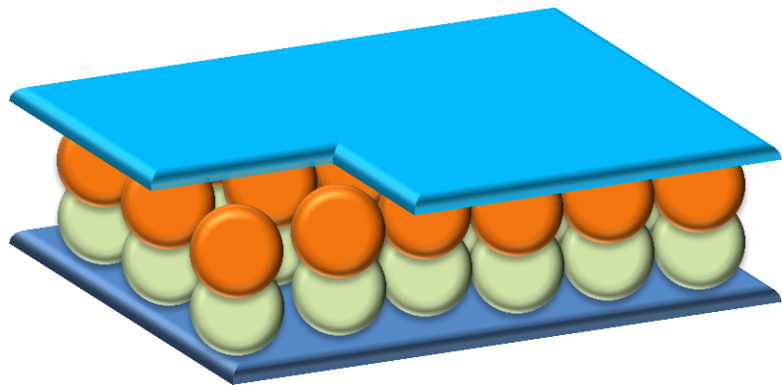


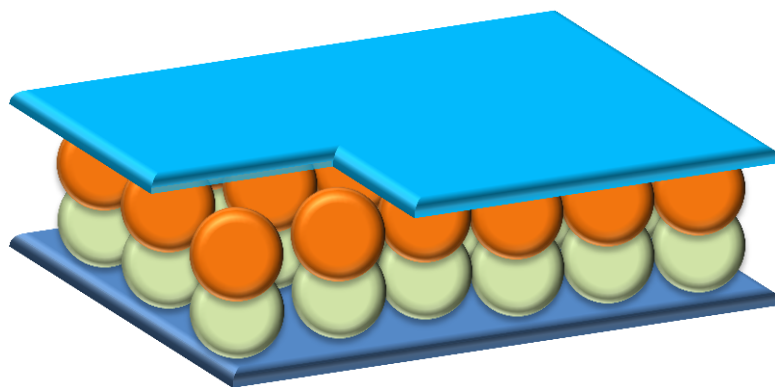
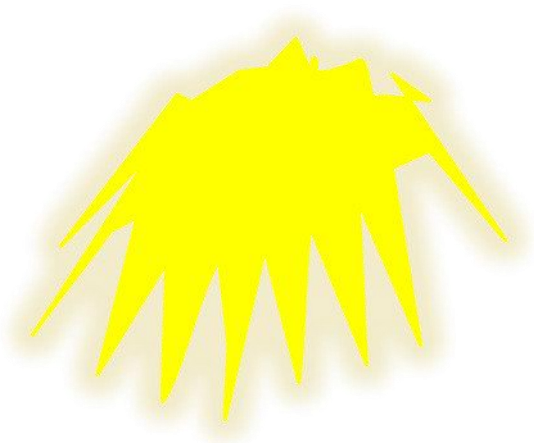
Mikromacierze oligonukleotydowe o sondach krótkich (18 – 25nt)

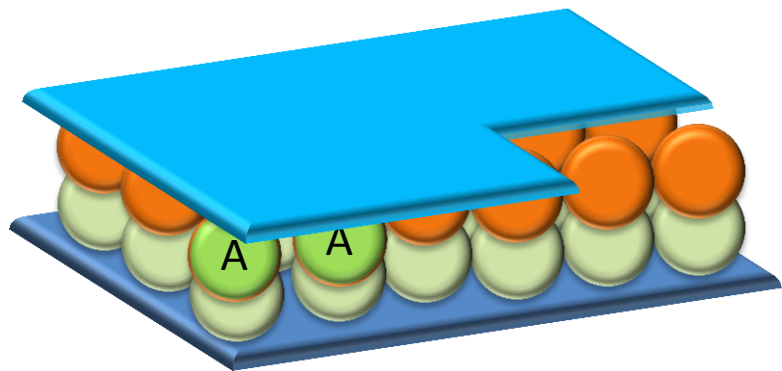
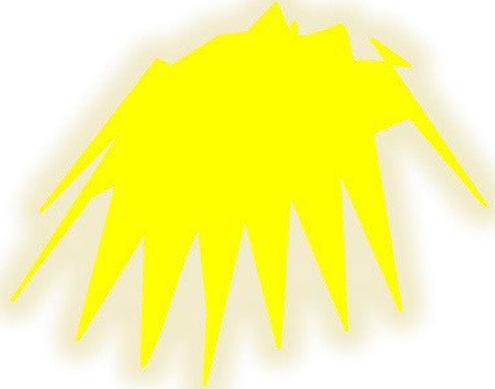
- „statyczne” – sondy immobilizowane na płytce, np. chipy DNA (ang. GeneChips)

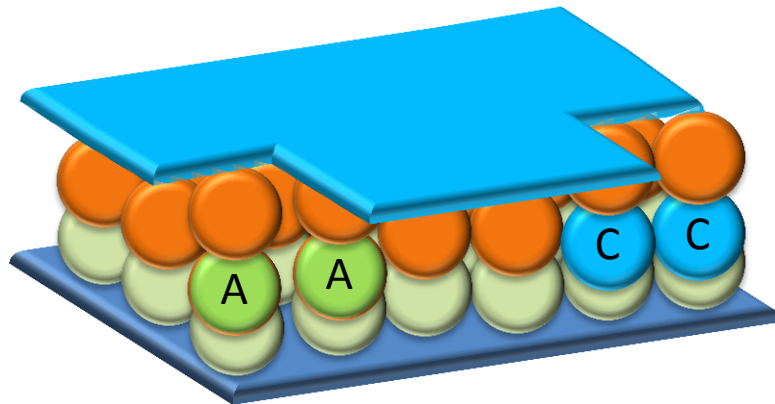
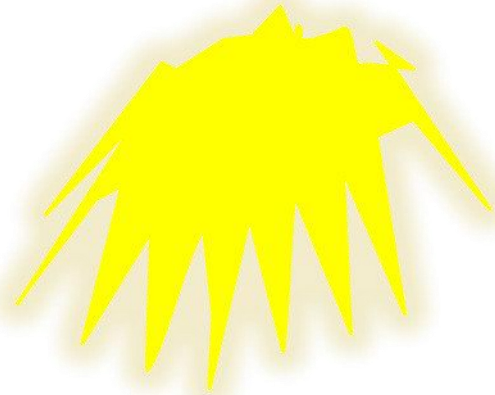


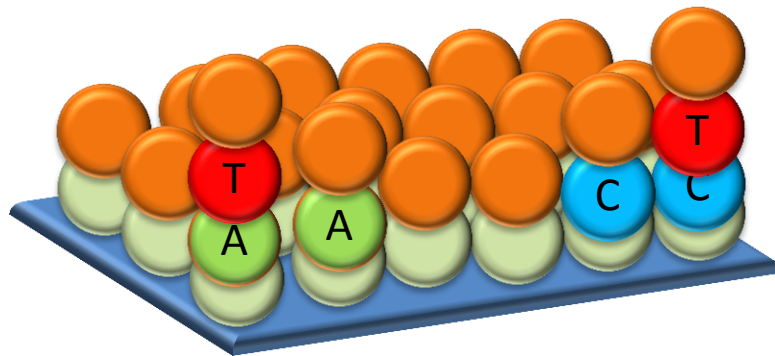
Mikromacierze typu statycznego. Źródło: www.affymetrix.com, www.nimblegen.com





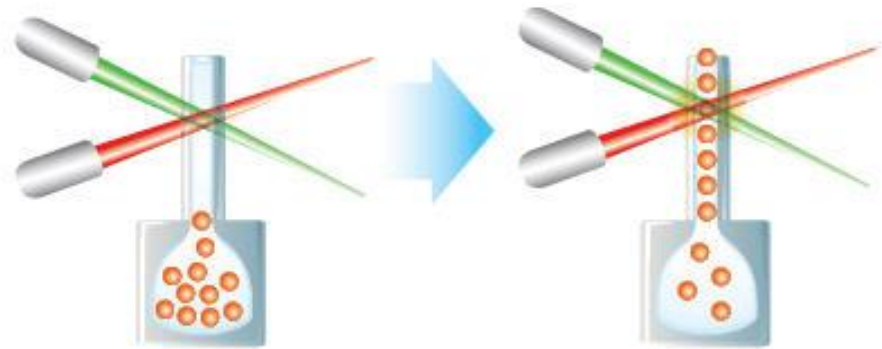
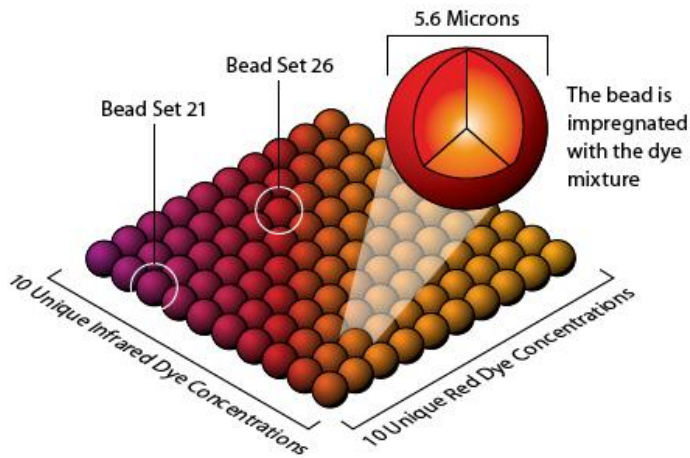






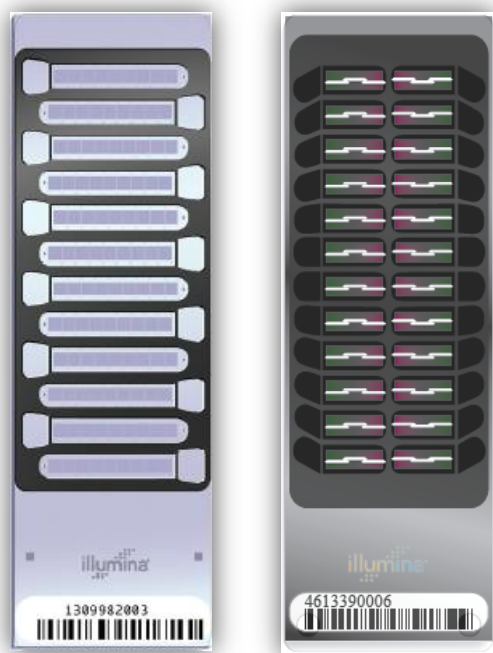
Mikromacierze oligonukleotydowe o sondach krótkich (18 - 25nt)

- „przepływowe” – sondy zakotwiczone w ziarnach swobodnie pływających w roztworze (ang. bead arrays)

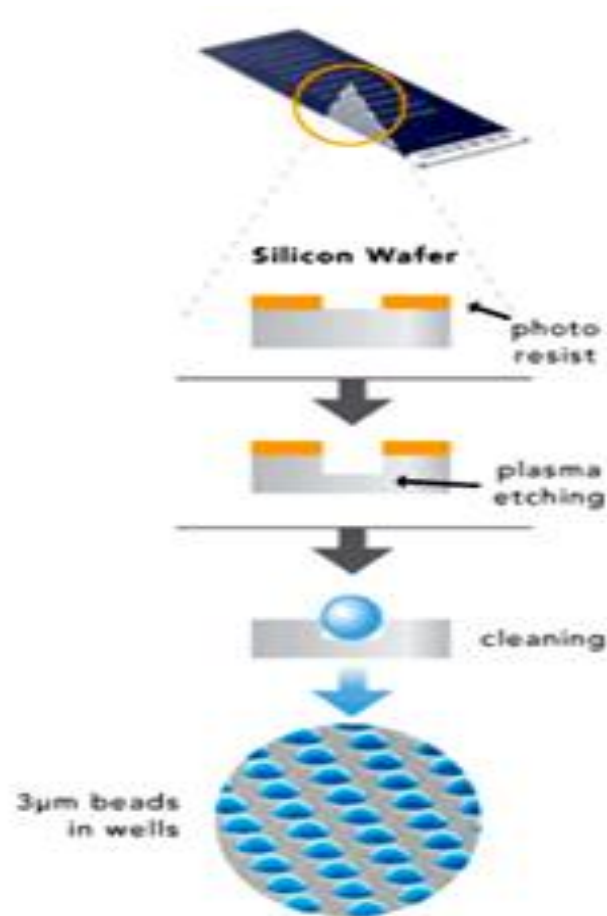


Mikromacierze oligonukleotydowe o sondach krótkich (18 - 25nt)

Bead Chip



BovineSNP50 BeadChip
v1 (54001 sond) i v2 (54609 sond)



Schemat obrazujący budowę mikromacierzy Bead Chip

Ogólny przebieg eksperymentu

Dzień
1

- Amplifikacja DNA podczas inkubacji izotermalnej

Dzień
2

- Fragmentacja produktu amplifikacji podczas procesu kontrolowanego enzymatycznie
- Wytrącanie DNA
- Zawieszanie DNA w buforze do hybrydyzacji
- Hybrydyzacja próby z sondami umieszczonymi na powierzchni mikromacierzy BeadChip

Dzień
3

- Przemycanie BeadChip
- Dobudowanie nukleotydu do sondy zgodnie z sekwencją badanej próby DNA oraz wybarwienie
- Skanowanie i odczyt wyników

Dzień 1

Amplifikacja DNA podczas inkubacji izotermalnej

Inkubacja 20-24h w temperaturze 37°C
w piecu hybrydacyjnym
(Hybridization Oven, Illumina®).



www.illumina.com

Dzień 2

Fragmentacja produktu amplifikacji podczas procesu kontrolowanego enzymatycznie

Inkubacja 1h w temperaturze 37°C w bloku grzejnym Hybex® Microsample Incubator (SciGene, USA) z wkładem MIDI Heat Block Insert (Illumina®)



www.illumina.com

www.scigene.com

Dzień 2

- Wytrącanie DNA
- Zawieszanie DNA w buforze do hybrydyzacji

Worteks
(High Speed Microplate Shaker, Illumina)

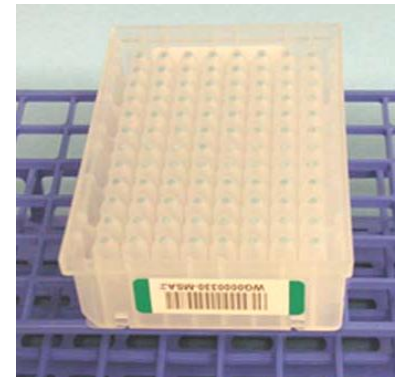


www.biosurplus.com

Wirówka do płytek z możliwością
chłodzenia (Centrifuge 5804R, Eppendorf)



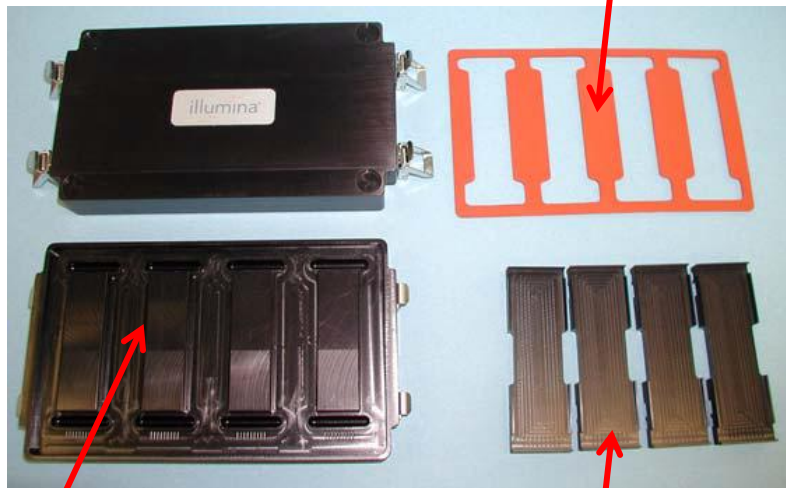
Odwrócona płytka zawierająca
wytrącony DNA (niebieski osad) – w
trakcie suszenia



Zdjęcie pochodzi z Infinium® II
Assay Multi-Sample Protocols
(Illumina®)

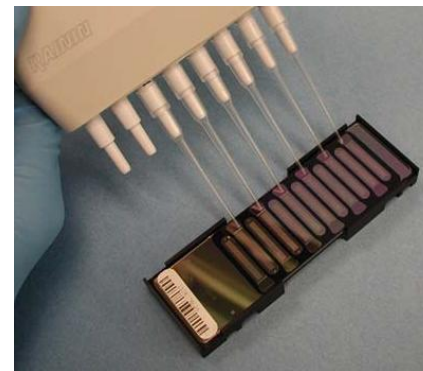
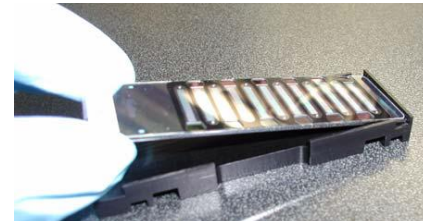
Hybrydyzacja próby z sondami umieszczonymi na powierzchni mikromacierzy BeadChip

Uszczelka do komory hybrydyzacyjnej
(Hyb Chamber Gaskets , Illumina[®])



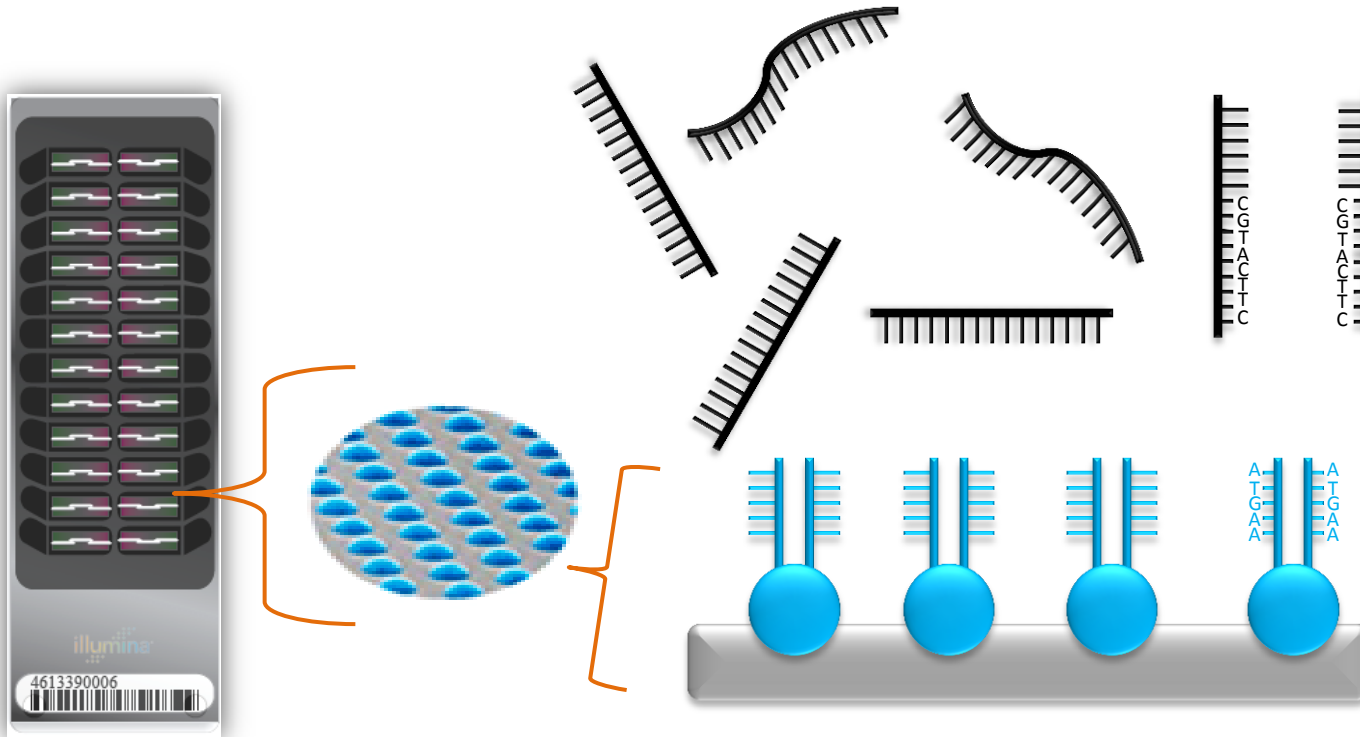
Komora hybrydyzacyjna
(BeadChip Hyb Chamber, Illumina[®])

Inserty do komory
hybrydyzacyjnej (BeadChip
Hyb Chamber inserts,
Illumina[®])



Dzień 2

Hybrydyzacja próby z sondami umieszczonymi na powierzchni mikromacierzy BeadChip

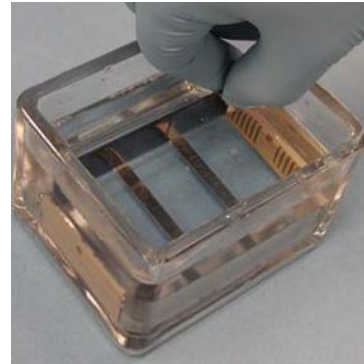
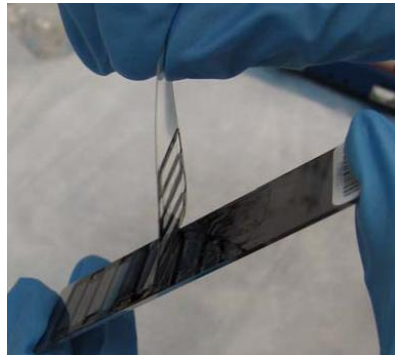


BovineSNP50 BeadChip
Illumina®

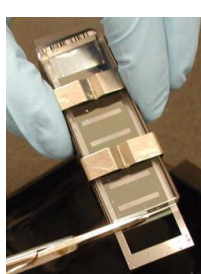
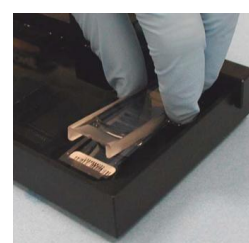
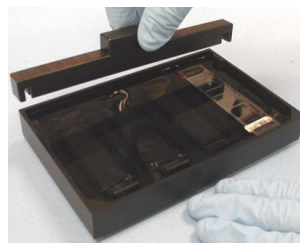
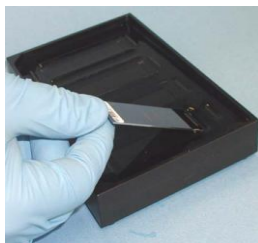
www.illumina.com

Dzień 3

Przemywanie BeadChip



Przygotowanie mikromacierzy BeadChip do kolejnego etapu



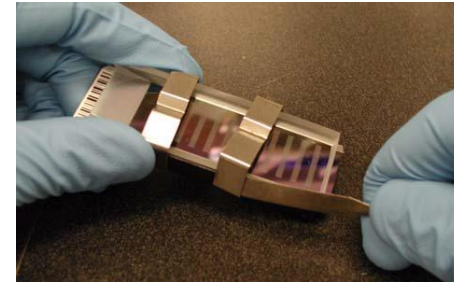
Zdjęcia pochodzą z Infinium® II Assay Multi-Sample Protocols (Illumina®)

Dzień 3

Dobudowanie nukleotydu do sondy zgodnie z sekwencją badanej próby DNA

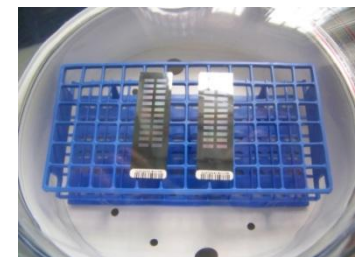
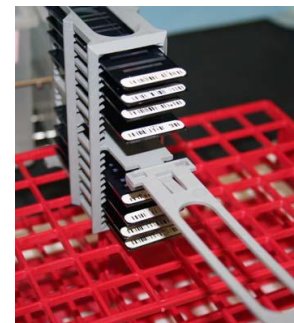
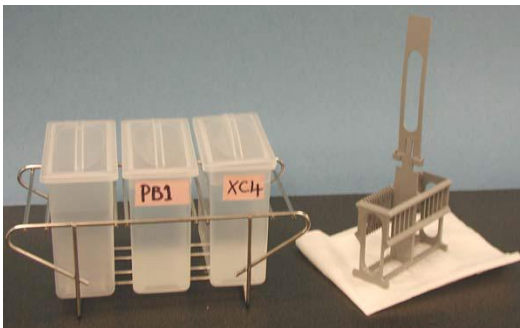


Te-Flow, TECAN, Szwajcaria
www.izoo.krakow.pl



Zdjęcia pochodzą z Infinium® II Assay Multi-Sample Protocols (Illumina®)

Znakowanie fluorescencyjne dobudowanych nukleotydów

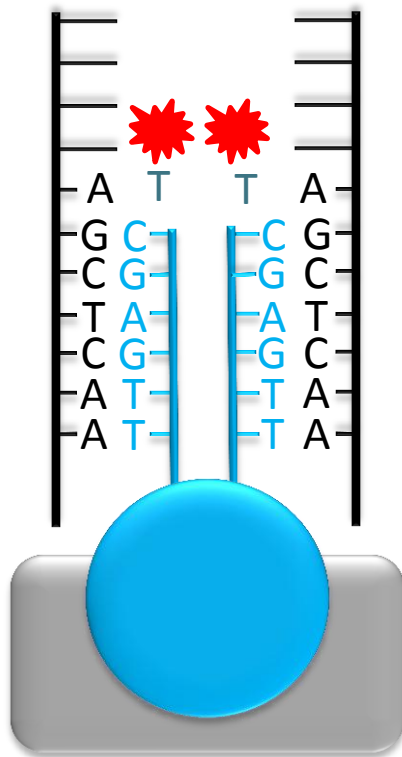


www.izoo.krakow.pl

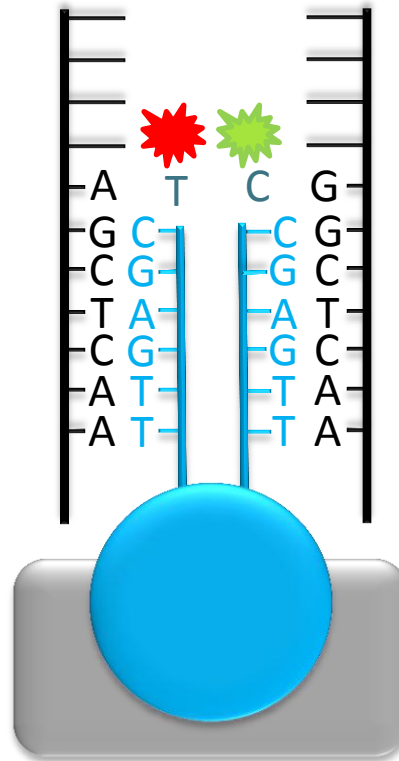
Zdjęcia pochodzą z Infinium® II Assay Multi-Sample Protocols (Illumina®)

Dzień 3

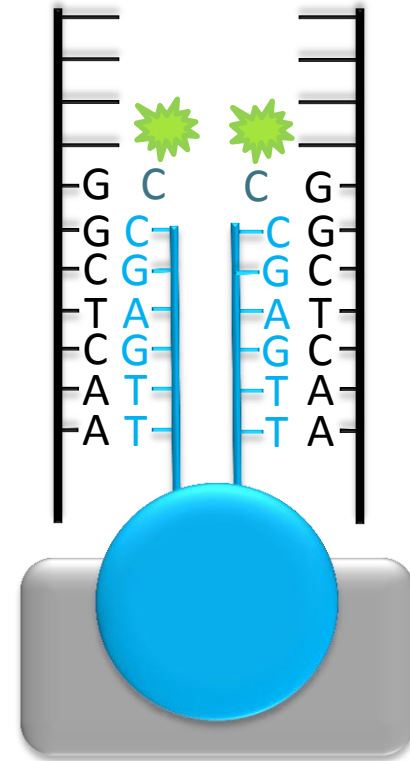
Dobudowanie nukleotydu do sondy zgodnie z sekwencją badanej próby DNA oraz znakowanie go fluorescencyjnie



Sample 1



Sample 2

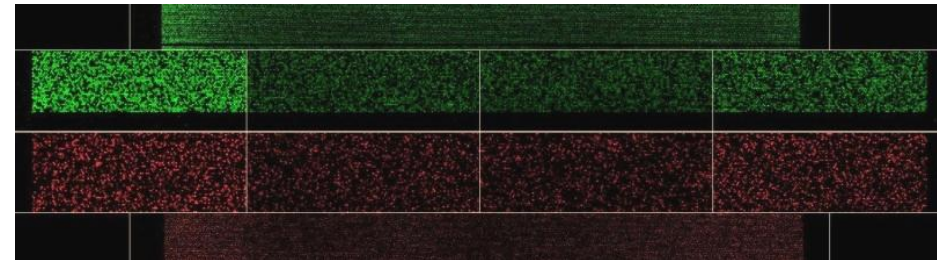
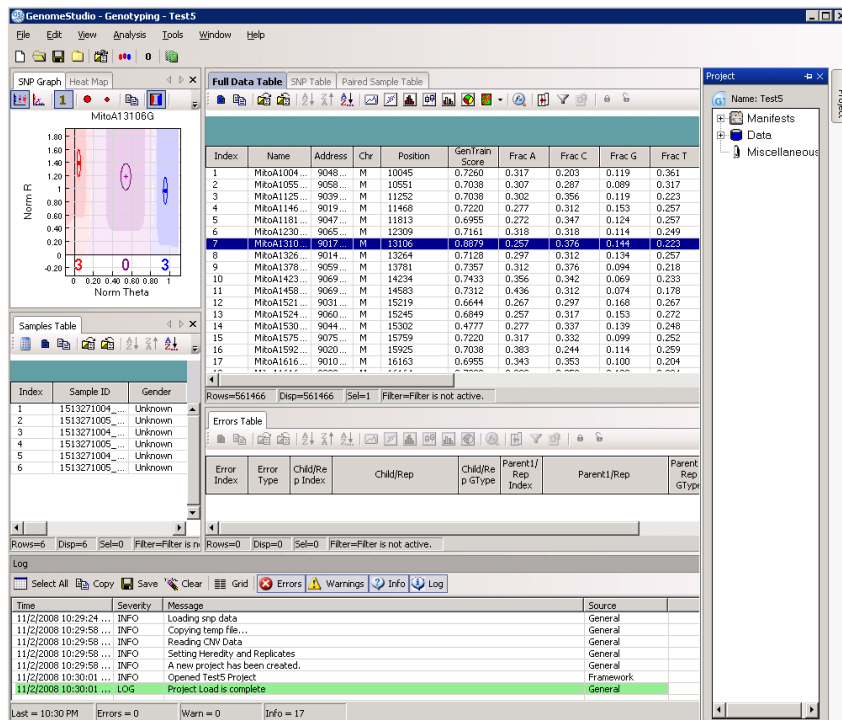


Sample 3

Dzień 3

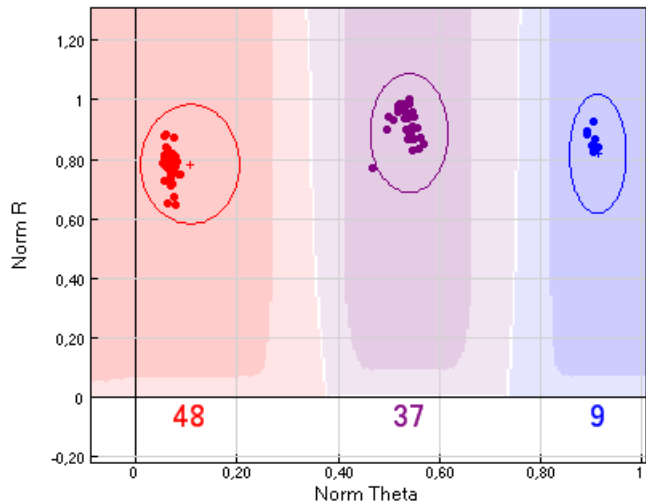
Skonowanie i odczyt wyników

- Skanowanie mikromacierzy:
HiScanSQ, Illumina®
- Odczyt wyników: GenomeStudio™ ,
Illumina®

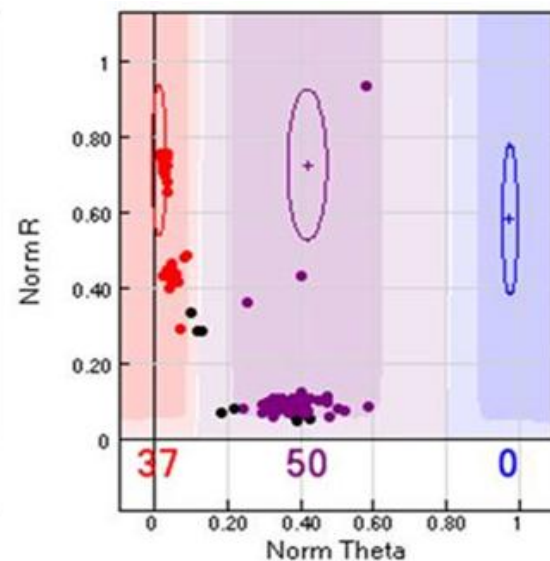
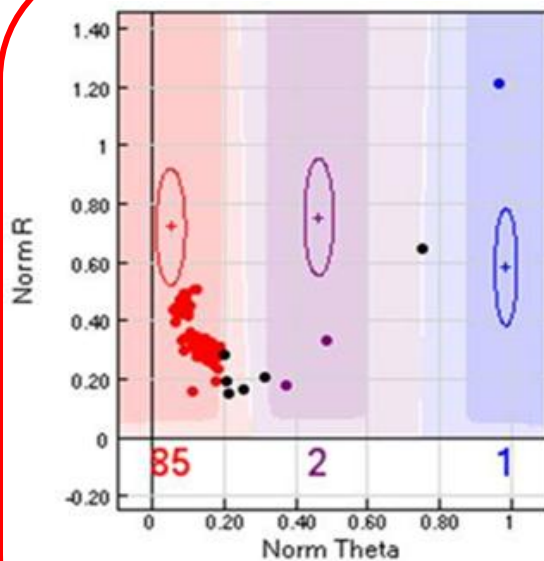


Zdjęcia pochodzą ze strony www.illumina.com

ARS-BFGL-NGS-33254



SNP Graph pokazujący prawidłowy podział na klastry.



SNP Graphs pokazujące błędny podział na klastry.
Czarne kropki oznaczają próbki zaklasyfikowane "No Calls"

Podstawowe informacje uzyskane po analizie mikromacierzy:

Full Data Table | SNP Table | Paired Sample Table

					Sample 1 1513271004_A_idat				Sample 2 1513271005_A...		
Index	Name	Address	Chr	Position	GType	Score	Theta	R	GType	Score	Thet
1	MitoA1004...	9048...	M	10045	AA	0.3107	0.0113	4.3157	AA	0.3107	0.00...
2	MitoA1055...	9058...	M	10551	AA	0.2904	0.0290	3.8688	AA	0.2904	0.02...
3	MitoA1125...	9039...	M	11252	AA	0.2904	0.0310	3.6831	AA	0.2904	0.02...
4	MitoA1146...	9019...	M	11468	AA	0.3070	0.0157	5.8391	AA	0.3070	0.01...
5	MitoA1181...	9047...	M	11813	AA	0.2831	0.0423	5.1321	AA	0.2831	0.04...
6	MitoA1230...	9065...	M	12309	AA	0.3015	0.0251	3.9980	AA	0.3015	0.01...
7	MitoA1310...	9017...	M	13106	BB	0.8763	0.9516	0.9687	AA	0.8763	0.04...
8	MitoA1326...	9014...	M	13264	AA	0.2985	0.0256	6.0810	AA	0.2985	0.02...
9	MitoA1378...	9059...	M	13781	AA	0.3199	0.0427	1.2190	AA	0.3199	0.04...
10	MitoA1423...	9069...	M	14234	AA	0.3273	0.0167	2.1243	AA	0.3273	0.01...

Full Data Table | SNP Table | Paired Sample Table

Index	Name	Chr	Position	ChiTest1 00	Het Excess	AA Freq	AB Freq	BB Freq	Call Freq	Minor Freq	Aux	P-C Errors	P-P-C Errors	Rep Errors	10% GC	50% GC	SNP
1	MitoA1004...	M	10045	1.0000	0.0000	1.0000	0.0000	0.0000	1.0000	0.0000	0	0	0	0	0.3107	0.3107	[T/C]
2	MitoA1055...	M	10551	1.0000	0.0000	1.0000	0.0000	0.0000	1.0000	0.0000	0	0	0	0	0.2904	0.2904	[A/G]
3	MitoA1125...	M	11252	1.0000	0.0000	1.0000	0.0000	0.0000	1.0000	0.0000	0	0	0	0	0.2904	0.2904	[T/C]
4	MitoA1146...	M	11468	1.0000	0.0000	1.0000	0.0000	0.0000	1.0000	0.0000	0	0	0	0	0.3070	0.3070	[T/C]
5	MitoA1181...	M	11813	1.0000	0.0000	1.0000	0.0000	0.0000	1.0000	0.0000	0	0	0	0	0.2831	0.2831	[A/G]
6	MitoA1230...	M	12309	1.0000	0.0000	1.0000	0.0000	0.0000	1.0000	0.0000	0	0	0	0	0.3015	0.3015	[A/G]
7	MitoA1310...	M	13106	0.0000	-1.0000	0.5000	0.0000	0.5000	1.0000	0.5000	0	0	0	0	0.8763	0.8763	[T/C]
8	MitoA1326...	M	13264	1.0000	0.0000	1.0000	0.0000	0.0000	1.0000	0.0000	0	0	0	0	0.2985	0.2985	[A/G]
9	MitoA1378...	M	13781	1.0000	0.0000	1.0000	0.0000	0.0000	1.0000	0.0000	0	0	0	0	0.3199	0.3199	[A/G]
10	MitoA1423...	M	14234	1.0000	0.0000	1.0000	0.0000	0.0000	1.0000	0.0000	0	0	0	0	0.3273	0.3273	[A/G]

Przykłady badań z wykorzystaniem mikromacierzy

Animal Science Journal (2010) **81**, 506–512

doi: 10.1111/j.1740-0929.2010.00766.x

RAPID COMMUNICATION

Development of novel SNP systems for individual and pedigree control in a Japanese Holstein population using whole-genome genotyping

**Animal
Science Journal**

Animal Science Journal (2012)

doi: 10.1111/j.1740-0929.2012.01036.x



Kazuhiro HARA, Yukari KON, Shinji SASAZAKI, Fumio M

Laboratory of Animal Breeding and Genetics, Graduate School of Science, Kobe University, Kobe, Japan

ORIGINAL ARTICLE

Application of highly differentiated SNPs between Japanese Black and Holstein to a breed assignment test between Japanese Black and F₁ (Japanese Black x Holstein) and Holstein

Fine Mapping of a QTL for Fertility on BTA7 and Its Association With a CNV in the Israeli Holsteins

Giora Glick,* Andrey Shirak,[†] Eyal Seroussi,[†] Yoel Zeron,[‡] Efraim Ezra,[§] Joel I. Weller,[†] and Micha Ron^{†,1}

*The Hebrew University of Jerusalem, The Robert H. Smith Faculty of Agriculture, Rehovot, 76100, Israel, [†]Institute of Animal Sciences, ARO, The Volcani Center, Bet Dagan 50250, Israel, [‡]Sion, AI Institute, Shikmim 79800, Israel, and

[§]Israel Cattle Breeders Association, Caesaria Industrial Park, Caesaria 38900, Israel

Fitting and validating the genomic evaluation model to Polish Holstein-Friesian cattle

Joanna Szyda · Andrzej Żarnecki · Tomasz Suchocki ·
Stanisław Kamiński



RESEARCH ARTICLE

Whole-genome DNA methylation characteristics in pediatric precursor B cell acute lymphoblastic leukemia (BCP ALL)

Radosław Chaber¹, Artur Gurgul², Grażyna Wróbel³, Olga Haus⁴, Anna Tomoń¹, Jerzy Kowalczyk⁵, Tomasz Szmatola², Igor Jasielczuk², Blanka Rybka³, Renata Ryczan-Krawczyk³, Ewa Duszeńska⁶, Sylwia Stapor⁶, Krzysztof Ciebiera⁷, Sylwia Paszek⁸, Natalia Potocka⁸, Christopher J. Arthur⁹, Izabela Zawlik^{8,10*}



A whole genome association analysis identifies loci associated with *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* infection status in US holstein cattle

M. Settles*, R. Zanella*, S. D. McKay[†], R. D. Schnabel[†], J. F. Taylor[†], R. Whitlock[‡], Y. Schukken[§], J. S. Van Kessel[¶], J. M. Smith^{**} and H. Neibergs*

*Department of Animal Sciences, Washington State University, Pullman, WA 99164, USA. [†]Division of Animal Sciences, University of Missouri, Columbia, MO 65211, USA. [‡]School of Veterinary Medicine, University of Pennsylvania, Kennett Square, PA 19348, USA.

[§]College of Veterinary Medicine, Cornell University, Ithaca, NY 14853, USA. [¶]USDA-ARS, Beltsville, MD 20705, USA. ^{**}Department of Animal Science, University of Vermont, Burlington, VT 05405, USA



J. Dairy Sci. 94:6153–6161

doi:10.3168/jds.2011-4624

© American Dairy Science Association[®], 2011.

Harmful recessive effects on fertility detected by absence of homozygous haplotypes

P. M. VanRaden,^{*1} K. M. Olson,[†] D. J. Null,^{*} and J. L. Hutchison^{*}

^{*}Animal Improvement Programs Laboratory, Agricultural Research Service, USDA, Beltsville, MD 20705-2350

[†]National Association of Animal Breeders, Columbia, MO 66205-1033

Wykorzystanie mikromacierzy DNA w badaniach populacji dzikich zwierząt

Zastosowanie panelu sond opracowanego dla gatunków modelowych lub użytkowych:

- Analiza zmienności genetycznej, określenie struktury populacji
- Wyszukiwanie różnic na poziomie molekularnym między gatunkami lub między populacjami w obrębie jednego gatunku
- Identyfikacja gatunków
- Badania asocjacyjne

Zastosowano mikromacierz OvineSNP50 BeadChip (49 034 SNPs)

muflon kanadyjski (*Ovis canadensis*)



<http://dwrcdc.nr.utah.gov>

- * Pomyślnie zgenotypowano 48 230 markery
- * 570 markerów polimorficznych

muflon Dalla (*Ovis dalli*)



Fot. Lon Lauber

- * Pomyślnie zgenotypowano 48 004 markery
- * 330 markerów polimorficznych

Miller i wsp. 2011

- W obrębie gatunku Muflona kanadyjskiego analizowano dwie populacje:
 - Ram Moutain
 - Wyoming
- Analizy pozwoliły na jednoznaczne rozróżnienie osobników z dwóch populacji, ponadto stwierdzono występowanie podgrup w populacji Ram Moutain

Zastosowano mikromacierz BovineSNP50 BeadChip (54 001 SNPs)

kozica tatrzańska
(*Rupicapra rupicapra tatrlica*)



- * 4 osobniki (3 z obszarów wysokogórskich i 1 z obszarów Niżnych Tatr)

kozica alpejska
(*Rupicapra rupicapra rupicapra*)

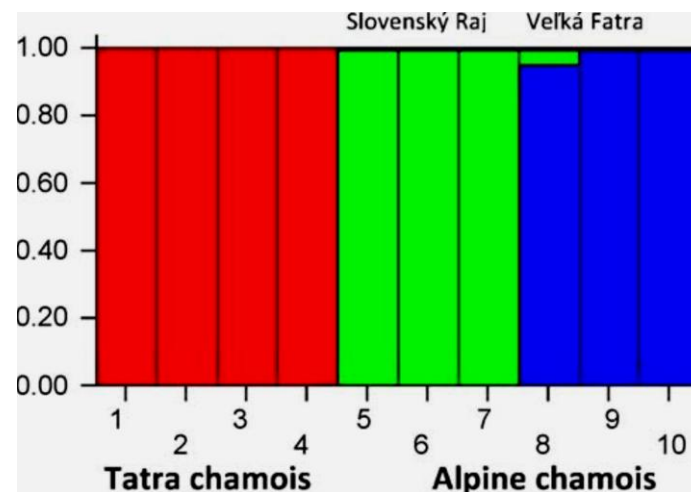


- * 3 osobniki z pasma górskiego Wielka Fatra
- * 3 osobniki z płaskowyżu Słowacki Raj

Tylko **505** markerów okazało się polimorficznych, wytypowano **48 SNPs** do analizy struktury genetycznej badanej grupy zwierząt

Analiza struktury genetycznej wykonana w programie Structure.

Każdy z osobników reprezentowany jest przez pionowy słupek. Kolory odpowiadają oszacowanym proporcjom udziału w konkretnej populacji.



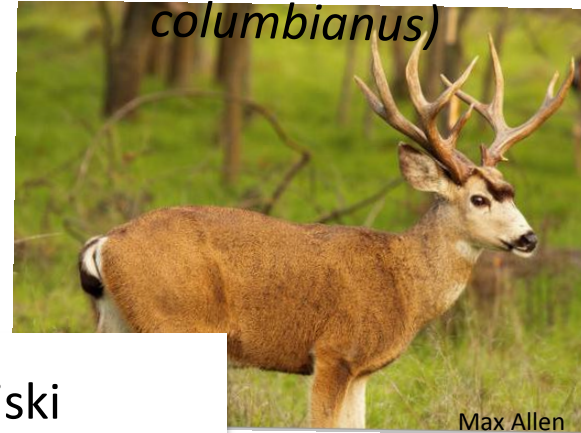
Zastosowano mikromacierz BovineSNP50 BeadChip (54 609 SNPs)

mulak

(*Odocoileus hemionus hemionus*)



jeleń czarnoogonowy
(*Odocoileus hemionus columbianus*)



jeleń wirginijski
(*Odocoileus virginianus*)



D. Busby

Haynes i Latch 2012

- Analizując wspólnie wszystkie zwierzęta otrzymano 1068 polimorficznych markerów:
 - 639 SNPs u mulaka
 - 634 SNPs u jelenia czarnoogonowego
 - 599 SNPs u jelenia wirginijskiego
- W wyniku analizy struktury genetycznej wszystkich zwierząt w programie Structure, otrzymano dwa klastry (mulak i jelenie czarnoogonowe zgrupowane wspólnie, jelenie wirginijskie w oddzielnej grupie)
- Powtórzona analiza z wyłączeniem jelenia wirginijskiego, wykazała różnice między podgatunkami *Odocoileus hemionus*

- Demontis D., Czarnomska S. D., Hajkova P., Zemanova B., Bryja J., Loeschcke V., Pertoldi C.. 2011. Characterization of 151SNPs for population structure analysis of the endangered Tatra chamois (*Rupicapra rupicapra tatica*) and its relative, the Alpine chamois (*R. r. rupicapra*). *Mammalian Biology* 76, 644-645
- Formanowicz Piotr , Radosław Urbaniak, Luiza Handschuh, Dorota Formanowicz, Marek Figlerowicz. Mikromacierze DNA – zasady projektowania sond. *Biotechnologia* 4 (83) 54–67 2008
- Haynes G.D., Latch E. K.. 2012. Identification of Novel Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs) in Deer (*Odocoileus* spp.) Using the BovineSNP50 BeadChip. *PLoS ONE* Volume 7, Issue 5, e36536
- Jaros S. Mikromacierze DNA i ich wykorzystanie w parazytologii i medycynie. *Wiadomooci Parazytologiczne* 2006, 52(1),13–29
- Miller J. M., Poissant J., Kijas J.W., Coltman D.W.. 2011. A genome-wide set of SNPs detects population substructure and long range linkage disequilibrium in wild sheep. *Molecular Ecology Resources* 11, 314–322
- Shipeng Song, Yaou Zhang, Chi-Chun Fong, Chi-Hung Tsang, Zhong Yang, Mengsu Yang, cDNA Microarray Analysis of Gene Expression Profiles in Human Fibroblast Cells Irradiated with Red Light, In *Journal of Investigative Dermatology*, Volume 120, Issue 5, 2003, Pages 849-857