



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΠΟΛΥΤΕΧΝΙΚΗ ΣΧΟΛΗ
ΤΜΗΜΑ ΗΛΕΚΤΡΟΛΟΓΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΚΑΙ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΩΝ

ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΓΟΝΙΔΙΩΝ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ:

ΑΛΕΞΑΝΔΡΙΔΟΥ ΚΥΡΙΑΚΗ

ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ:

ΧΑΤΖΗΓΕΩΡΓΙΟΥ ΑΡΤΕΜΗΣ, ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ



ΒΟΛΟΣ 2015

ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΓΟΝΙΔΙΩΝ

COMPUTATIONAL ANALYSIS OF GENE EXPRESSION

Διπλωματική εργασία που υποβλήθηκε στην Πολυτεχνική Σχολή του Πανεπιστημίου ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ σαν μέρος των υποχρεώσεων για την απόκτηση του μεταπτυχιακού διπλώματος «Επιστήμη και τεχνολογία ΗΜΜΥ».

Η ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Η ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ

Χατζηγεωργίου Άρτεμης, Καθηγήτρια

Χατζηγεωργίου Άρτεμης, Καθηγήτρια

Χούστη Αικατερίνη, Καθηγήτρια

Μούντανος Ιωάννης, Αναπληρωτής Καθηγητής

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε από τη μεταπτυχιακή φοιτήτρια Αλεξανδρίδου Κυριακή, του Τμήματος Ηλεκτρολόγων Μηχανικών και Μηχανικών Υπολογιστών του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

Ευχαριστώ την καθηγήτρια Χατζηγεωργίου Άρτεμης για την ανάθεση της εργασίας, για την καθοδήγηση, την υποστήριξη και τη συμπαράστασή της, κατά τη διάρκεια της εκπόνησης της.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω από καρδιάς τους γονείς μου, τα αδέρφια μου, και τον συντροφό μου Ιάκωβο Μιχαηλίδη για την αμέριστη συμπαράσταση σε όλη τη διάρκεια των μεταπτυχιακών σπουδών μου.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Τα microRNAs είναι μικρά μονόκλιωνα μόρια RNA μήκους περίπου 22 νουκλεοτιδίων και ανήκουν στην ευρύτερη κατηγορία των μη κωδικών μεταγράφων. Η ανακάλυψή τους έφερε επανάσταση στα όσα γνωρίζαμε από το κεντρικό δόγμα της Βιολογίας για τη σύνθεση των πρωτεϊνών και τη ρύθμιση της πρωτεϊνικής έκφρασης. Αυτό γιατί τα microRNA γονίδια δεν κωδικοποιούν κάποια πρωτεΐνη αλλά αντί αυτού παράγουν μικρά μόρια μεγέθους περίπου 22 νουκλεοτιδίων. Τα μόρια αυτά αλληλεπιδρούν με το mRNA και συγκεκριμένα βρίσκουν στόχους στις 3' UTR περιοχές άλλων γονιδίων και αλληλεπιδρούν με βάση την αρχή της συμπληρωματικότητας Watson-Crick. Αποτέλεσμα αυτής της πρόσδεσης είναι η καταστολή της πρωτεϊνικής έκφρασης του γονιδίου στόχου μέσω αναστολής της μετάφρασης ή μέσω της υποβάθμισης του mRNA. Μετά την ανακάλυψη των microRNA και του τρόπου αλληλεπίδρασης τους ήταν φυσικό να ακολουθήσουν εκτεταμένες έρευνες για τις κυτταρικές διεργασίες τις οποίες ρυθμίζουν αλλά και σε ποιών γονιδίων τη ρύθμιση λαμβάνουν μέρος. Το ενδιαφέρον κέντρισε η αναζήτηση προβλέψεων στόχων miRNA σε γονίδια, μέσω υπολογιστικών μοντέλων, αλγορίθμων και εφαρμογών.

Στην παρούσα εργασία θα περιγραφούν, παρουσιαστούν αναλυθούν και τεκμηριωθούν ο DIANAmicroT 3.0 αλγόριθμος και ο DIANAmicroT web server που σχεδιάστηκαν, συντέθηκαν και υλοποιήθηκαν από το εργαστήριο Diana Lab. Ο DIANA-microT 3.0 αλγόριθμος αποτελείται από στοίχιση της αλληλουχίας οδηγού miRNA πάνω στην αλληλουχία 3' UTR ενός γονιδίου που εκφράζει πρωτεΐνη, την ταυτοποίηση φερόμενων υποψήφιων MREs βασισμένη σε συγκεκριμένους κανόνες δεσμών, την βαθμολόγηση των επιμέρους MREs σύμφωνα με τον τύπο δεσμού τους και το προφίλ διατήρησης, και τους υπολογισμούς του γενικού βαθμού του γονιδίου στόχου του miRNA (miTG) μέσα από το σταθμισμένο άθροισμα όλων των βαθμολογιών των MRE που αντιστοιχίζονται πάνω στην 3' UTR. Από την άλλη πλευρά ο διακομιστής DIANA-microT παρέχει μία φιλική προς το χρήστη διεπαφή για μια ολοκληρωμένη υπολογιστική ανάλυση των στόχων των miRNA στον άνθρωπο και στο ποντίκι, επιτρέποντας τη σύνδεση των miRNAs με ασθένειες μέσω βιβλιογραφικής ανάλυσης και παρέχοντας ιδέες για την πιθανή συμμετοχή των miRNAs σε βιολογικές διεργασίες.

Η εργασία επιπλέον πραγματεύεται τον σχεδιασμό και την ανάπτυξη μιας ιστοσελίδας τύπου wiki ως υποστηρικτικό εργαλείο στο πλαίσιο της παρουσίασης του αλγορίθμου και του διακομιστή DIANAmicroT. Το documentation αλγορίθμων, διεργασιών, ολοκληρωμένων ιδεών, αποτελεί και αποτελούσε πάντοτε μια απαραίτητη διαδικασία για την ολοκλήρωση του κύκλου εργασιών σε κάθε πεδίο και επίπεδο που σχετίζεται με την ανάπτυξη, έρευνα και διαφήμιση (marketing) και όχι μόνο. Το κομμάτι της περιεχόμενης πληροφορίας ωστόσο, καθώς οι εξελίξεις και τα δεδομένα που μεταβάλλονται με μεγάλες ταχύτητες απαγορεύουν την στατικότητα της. Σε κάθε περίπτωση ο εύκολος δυναμικός εμπλουτισμός/αλλαγή της πληροφορίας διευκολύνει την ενημέρωσή (update) της από κάθε ενδιαφερόμενο χρήστη. Πολλές φορές ακόμη ο διαδραστικός εμπλουτισμός αυτής της πληροφορίας, από ειδικούς με κοινά ή και διαφορετικά επιστημονικά υπόβαθρα αποτελεί βασικό συστατικό για την επίτευξη του βέλτιστου μίγματος πληροφορίας. Μία σύγχρονη και εύκολα διαχειρίσιμη επιλογή για να καταστήσει δυνατή και εύκολη όλη την παραπάνω διαδικασία είναι οι wiki-based ιστοσελίδες καθώς επιτρέπουν την αλλαγή περιεχομένου και μορφής από ενδιαφερόμενους χρήστες του διαδικτύου με ελάχιστες γνώσεις προγραμματισμού.

ABSTRACT

microRNAs (miRNAs) are small endogenous RNA molecules (~22nt) that belong in the wide ncRNA family. Their discovery challenged the view of the Central Dogma of Biology and introduced a new layer of complexity in which RNA is not only a carrier of gene information but also a mediator of gene expression and protein synthesis. Typically, microRNA genes are short noncoding (~20-22 nt) RNAs that do not encode proteins, but instead they produce small RNA molecules. These molecules can regulate mRNA target genes by binding to the 3' UTR of mRNA in accordance to Watson-Crick complementarity for cleavage or translational repression. MicroRNAs have been a major object of study as they have been found to be involved in some basic biological processes. These observations underline the importance of normal microRNA homeostasis on functions such as development, differentiation, apoptosis and proliferation. Dysregulation of miRNA is fundamental to the pathogenesis of many diseases. The main interest was attracted by the goal to search of target miRNAs in genes through computation models, algorithms and applications.

In the current work DIANA-microT 3.0 algorithm and the respective web server implementation, developed by Diana Lab, will be described, presented, analyzed and justified. DIANA-microT 3.0 algorithm consists of alignment of the miRNA driver sequence on the 3'UTR of a protein coding gene, identification of putative MREs based on specific binding rules, scoring of individual MREs according to their binding type and conservation profile, and calculation of an overall miRNA target gene (miTG) score through the weighted sum of all MRE scores lying on the 3'UTR. On the other side, DIANA-microT Web server presented extensive information for predicted miRNA target gene interactions in a user-friendly interface. . It offers links to nomenclature, sequence and protein databases, information for experimentally verified targets. Also, users are facilitated by being able to search for targeted genes using different names or functional features.

The current work deals also with the designing and the development process of a wiki-based website acting as a complementary supporting element within the DIANA-microT algorithm and server presentation framework. For the development of a wiki-based website the choice of the server type that will act as a host, the programming language that will translate and execute the website user preferences and actions, the database for hosting the website content as well as a special software for wiki-based platforms are necessary. For the current work implementation framework an Apache server, PHP programming language and MySQL database were used. The installation and adjustment of all aforementioned elements was integrated within WAMP package. For the design and the support of the developed website MediaWiki CMS was adopted since it is widely used for similar applications. All aforementioned tools and elements are available with open source license policies in the web. Wiki-based websites allow easy and free editing of the website content even from users without any programming background, therefore are considered as an ideal environment for documentation.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

1. Εισαγωγή.....	1
1.1. Γενικά.....	1
1.2. Το DNA	1
1.3. Το RNA	1
1.4. Οι Πρωτεΐνες.....	2
1.5. microRNA	2
1.5.1 Η microRNA έκφραση	4
1.5.2 Οι λειτουργίες των microRNAs.....	5
1.5.3 Σχετιζόμενες Ασθένειες.....	5
1.6. Το πρόβλημα του εντοπισμού των γονιδίων-στό- χων των microRNA από τη Βιβλιογραφία	7
2. Ο αλγόριθμος DIANA-microT 3.0.....	10
2.1. Μέθοδοι.....	12
2.1.1. Αναγνώριση υποψήφιων/δυνητικών τοποθεσιών δεσμών miRNA μέσα από τη στοίχιση αλληλουχίας	12
2.1.2. Φιλτράρισμα υποψήφιων θέσεων δεσμών miRNA με βάση την ενέργεια δεσμού	12
2.1.3. Τεχνητά miRNAs	13
2.1.4. Βαθμολογία στοιχείων αναγνώρισης miRNA (MRE βαθμολογία)	14
2.1.5. Βαθμός miRNA στόχων γονιδίου	15
2.1.6. Αξιολόγηση βαθμολογίας ορίου miTG.....	17
2.1.7. Ακρίβεια	18
2.1.8. Αλληλουχίες miRNAs.....	19
2.1.9. Αλληλουχίες 3'UTR.....	19
2.1.10. Αρχεία πολλαπλής στοίχισης (MAFs)	19
2.2. Αποτελέσματα	19
2.2.1. Αξιολόγηση λόγου σήματος προς θόρυβο(SNR).....	19
2.2.2. Ανάλυση χαρακτηριστικών λειτουργίας αποδέκτη (ROC) σε πρωτεομικά δεδομένα.	21
2.2.3. Συσχέτιση του βαθμού miTG με τον περιορισμό παραγωγής πρωτεϊνών	22
3. Ο διαδικτυακός διακομιστής DIANA-microT.....	24
3.1. Μέθοδοι και αποτελέσματα.....	25
3.1.1 Σχέση των miRNAs με διάφορα λειτουργικά χαρακτηριστικά, τις ασθένειες και ιατρικές περιγραφές.....	25
3.1.2. Εξόρυξη του ιστορικού ενός miRNA από τη miRBase	27
3.1.3. Πρόβλεψη-στόχων και υποστήριξη των miRNAs	28
3.1.4. Εξατομικευμένες συνεδρίες χρήση.....	28

4. Wiki λογισμικά.....	29
4.1. Wiki και πλατφόρμες wiki.....	29
4.1.1. Ορισμοί wiki	29
4.1.2. Ιστορική αναδρομή.....	29
4.2. Οι βασικές πλατφόρμες wiki και οι διαφορές τους.....	30
4.2.1. BlueSpice	30
4.2.2. BrainKeeper	30
4.2.3. Central Desktop	30
4.2.4. Confluence	31
4.2.5. ConnectedText	31
4.2.6. DokuWiki	31
4.2.7. EditMe	32
4.2.8. eXo Platform	32
4.2.9. FlexWiki	32
4.2.10. Foswiki	32
4.2.11. GrokOla	32
4.2.12. Gitit	33
4.2.13. IBM Connections	33
4.2.14. Jive	33
4.2.15. Google Sites	33
4.2.16. Ikiwiki	34
4.2.17. Meta Team	34
4.2.18. Midgard	34
4.2.19. MindTouch	34
4.2.20. MoinMoin	35
4.2.21. MojoMojo	35
4.2.22. PBworks	35
4.2.23. PhpWiki	35
4.2.24. PmWiki	36
4.2.25. Qontext	36
4.2.26. SharePoint	36
4.2.27. SlimWiki	36
4.2.28. Socialtext	37
4.2.29. Swiki	37
4.2.30. ThoughtFarmer	37
4.2.31. TiddlyWiki	37

4.2.32. Tiki wiki CMS Groupware	38
4.2.33. Trac	38
4.2.34. Traction TeamPage	38
4.2.35. Twiki	39
4.2.36. UseModWiki.....	39
4.2.37. WackoWiki.....	39
4.2.38. Wiki Server.....	39
4.2.39. Wikispaces.....	40
4.2.40. Wikiwing.....	40
4.2.41. WikiWikiWeb.....	40
4.2.42. WikkaWiki	40
4.2.43. Xwiki	40
4.2.44. Zwiki.....	41
4.3. MediaWiki	41
4.3.1. Vector skin.....	42
5. DIANAPEDIA	44
5.1. Εγκατάσταση του MediaWiki τοπικά στον υπολογιστή	44
5.1.1. Εγκατάσταση του Wamp server.....	44
5.1.2. Αλλαγή του κωδικού πρόσβασης του server στην MySQL βάση δεδομένων.....	44
5.1.3. Εγκατάσταση του MediaWiki.....	45
5.2. Διαμόρφωση της DIANAPEDIA	45
5.2.1. Εγκατάσταση Vector skin.....	45
5.2.2. Διαμόρφωση CSS.....	46
5.3. Διαμόρφωση σελίδας DIANAmicroT 3.0	47
5.3.1 Δημιουργία νέας σελίδας.....	47
5.3.2 Μορφοποίηση κειμένου.....	48
5.4. Σύνδεσμοι	49
5.4. Εισαγωγή εικόνων pop up	49
6. Συζήτηση και συμπεράσματα	54
6.1. DIANA-microT 3.0	54
6.2. DIANAmicroT web server	56
6.3. Dianapedia	56
Βιβλιογραφία	58

1. Εισαγωγή

1.1. Γενικά

Στο κεφάλαιο αυτό γίνεται μία σύντομη εισαγωγή στους βιολογικούς όρους που χρησιμοποιούνται στο κείμενο. Ταυτόχρονα περιγράφεται το πρόβλημα της εξαγωγής αλληλεπιδράσεων μεταξύ των μορίων microRNA και των γονιδίων.

1.2. Το DNA

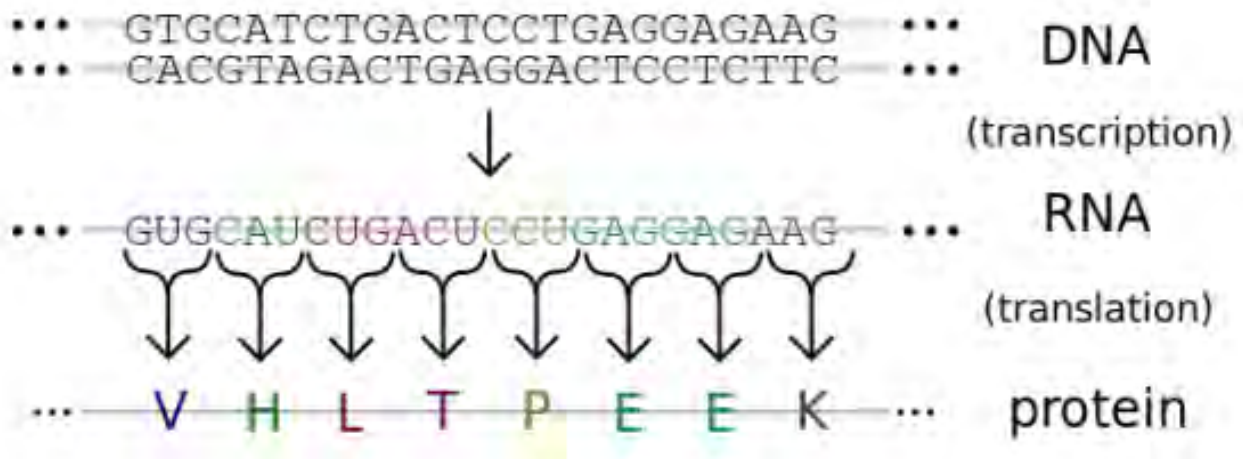
Η γενετική πληροφορία που καθορίζει σε μεγάλο βαθμό τη λειτουργία των κυτταρικών μορφών ζωής και των περισσότερων ιών βρίσκεται αποθηκευμένη σε ένα μόριο, το δεοξυριβονουκλεϊκό οξύ ή DNA με τη μορφή ακολουθίας νουκλεοτιδίων, των δεοξυριβονουκλεοτιδίων. Τα δεοξυριβονουκλεοτίδια εμφανίζονται με τέσσερις τύπους, ανάλογα με την αζωτούχο βάση που περιέχουν, η οποία μπορεί να είναι η θυμίνη (T), η αδενίνη (A), η γουανίνη (G), ή η κυτοσίνη (C). Οι τέσσερις βάσεις συνδέονται με 3'-5' φωσφοδιεστερικούς δεσμούς ανά δύο, η γουανίνη με την κυτοσίνη και η αδενίνη με τη θυμίνη. Αυτός ο τρόπος σύνδεσης που παρουσιάζουν τα νουκλεοτίδια του DNA λέγεται συμπληρωματικότητα.

Το μόριο του DNA θεωρείται ως το κύριο μέσο μεταβίβασης χαρακτηριστικών από κάθε οργανισμό στους απογόνους του.

1.3. Το RNA

Το DNA είναι ένα μακρομόριο μεγάλου μήκους. Τμήματα του, τα γονίδια, αποτελούν περιοχές που κωδικοποιούν γενετική πληροφορία. Τα γονίδια μεταγράφονται και παράγουν ένα άλλο μακρομόριο, το ριβονουκλεϊκό οξύ ή RNA. Τα δομικά στοιχεία του είναι τα ριβονουκλεοτίδια που περιέχουν το σάκχαρο ριβόζη αντί της δεοξυριβόζης που περιέχει το DNA. Το RNA, αναπαριστά την γενετική πληροφορία με τρόπο ανάλογο με το DNA, με τη διαφορά ότι στη θέση της θυμίνης υπάρχει η ουρακίλη (U) η οποία είναι συμπληρωματική με την αδενίνη. Παράλληλα, το RNA παίζει συχνά ρυθμιστικό ή ενζυμικό ρόλο στις διεργασίες του κυττάρου.

Η διαδικασία σχηματισμού του RNA από κάποιο γονίδιο του DNA ονομάζεται μεταγραφή. Η μεταγραφή πραγματοποιείται μέσω της αντιστοίχισης των δεοξυριβονουκλεοτιδίων της μίας αλυσίδας του DNA με τα αντίστοιχα ριβονουκλεοτίδια. Η αντιστοίχιση αυτή γίνεται με βάση την συμπληρωματικότητα των αζωτούχων βάσεων (C->G, G->C, A->U, T->A) λέγεται μεταγραφή. Τα προϊόντα από τη διαδικασία της μεταγραφής παίζουν διαφορετικό ρόλο στη λειτουργία του κυττάρου και μπορεί να μεταφέρουν τη γενετική πληροφορία, να λειτουργούν ως ένζυμα ή να έχουν κάποια άλλη λειτουργία. Πολλά από αυτά συμμετέχουν στην σύνθεση των πρωτεϊνών.



Εικόνα 1.1: Διαδικασία Μετάφρασης της Γενετικής Πληροφορίας σε Πρωτεΐνη.

1.4. Οι Πρωτεΐνες

Οι πρωτεΐνες αποτελούνται από μία αλυσίδα δομικών μονάδων, τα αμινοξέα που συνδέονται μεταξύ τους με πεπτιδικούς δεσμούς. Οι πρωτεΐνες είναι πολύ σημαντικά βιομόρια και συμμετέχουν στις περισσότερες διεργασίες του κυττάρου. Λειτουργούν ως ένζυμα για την κατάλυση άλλων χημικών αντιδράσεων, συμμετέχουν στην διακυτταρική επικοινωνία, ή αποτελούν δομικά στοιχεία των κυττάρων.

Η διαδικασία σύνθεσης μιας πρωτεΐνης σε ένα κύτταρο, με βάση την γενετική πληροφορία που έχει μεταβιβαστεί από το DNA σε κάποιο RNA, λέγεται μετάφραση. Το RNA αυτό λέγεται mRNA και περιλαμβάνει την πληροφορία κάποιου γονιδίου σε μορφή ακολουθίας αζωτούχων βάσεων. Κάθε τριπλέτα βάσεων του mRNA, αντιστοιχεί σε ένα αμινοξύ και η αλληλουχία όλων των τριπλετών αντιστοιχεί στο μακρομόριο της πρωτεΐνης. Η αντιστοίχιση των αμινοξέων με τις τριπλέτες των βάσεων του mRNA γίνεται μέσω του tRNA, ενός άλλου είδους RNA, το οποίο περιέχει μία αντικωδική τριπλέτα, συμπληρωματική με την κωδική τριπλέτα του mRNA και την αντιστοιχίζει με ένα αμινοξύ. Όλη η διαδικασία γίνεται με τη βοήθεια των ριβοσωμάτων, σωματιδίων του κυττάρου τα οποία αποτελούνται κατά 60% από RNA (rRNA) και κατά 30% από ένζυμα.

Η διαδικασία της μετάφρασης της γενετικής πληροφορίας σε πρωτεΐνη φαίνεται στο Σχήμα 1.1

1.5. microRNA

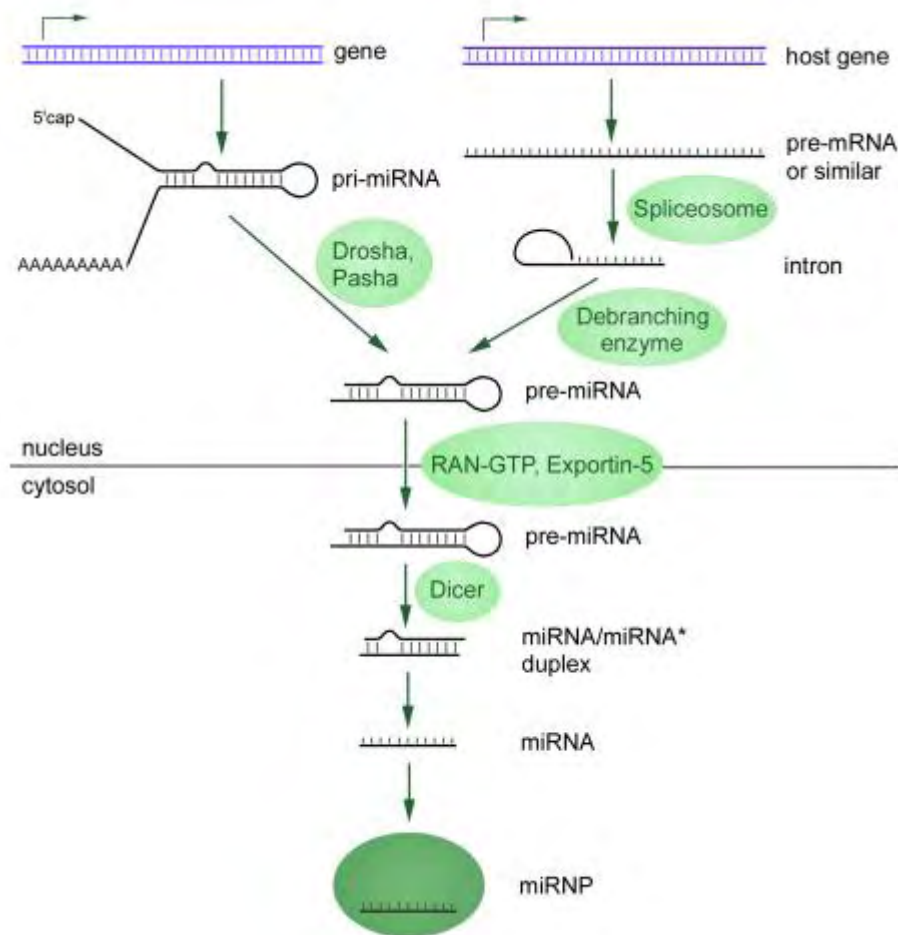
Η ανακάλυψη των microRNA γονιδίων μας πηγαίνει στο 1993 όταν ο Victor Ambros και οι συνεργάτες του μελετούσαν τη ρύθμιση του κύκλου ανάπτυξης των νυμφών στον οργανισμό *C.elegans*. Οι μελέτες τους οδήγησαν στην διαπίστωση ότι το γονίδιο *lin-4* δεν παρήγαγε κάποια πρωτεΐνη όπως ήταν το αναμενόμενο σύμφωνα με το Κεντρικό Δόγμα της Βιολογίας¹, αλλά αντί αυτού το συγκεκριμένο γονίδιο παρήγαγε μικρά μόρια RNA μήκους περίπου 22 νουκλεοτιδίων με αδιευκρίνιστο μηχανισμό λειτουργίας^{[1] [2]}. Για αρκετά μεγάλο διάστημα το *lin-4* ήταν το μόνο παράδειγμα ενδογενούς ρυθμιστικού μορίου RNA. Επτά χρόνια αργότερα η

κατάσταση άλλαξε δραματικά όταν διαπιστώθηκε από το εργαστήριο του Ruvkun ότι και ένα άλλο γονίδιο του *C.elegans* το γονίδιο *let-7* είχε παρόμοια συμπεριφορά με το προηγούμενο και παρήγαγε ένα παρόμοιο μικρό μόριο περίπου 22 νουκλεοτιδίων[3]. Μέχρι το 2000 ομόλογα των προηγούμενων γονιδίων είχαν εντοπιστεί στον άνθρωπο, στη *Drosophila* και σε άλλα 11 διμερή ζώα[4]. Εξαιτίας της κοινής τους εμπλοκής στη χρονική ρύθμιση της ανάπτυξης τα γονίδια *lin-4* και *let-7* πήραν την ονομασία μικρής διάρκειας-RNA (small temporal RNA, stRNA).

Τα επόμενα χρόνια η ραγδαία πρόοδος στον τομέα των Βιοεπιστημών οδήγησε στην ανακάλυψη αρκετών νέων γονιδίων τα οποία δεν παρήγαγαν πρωτεΐνες αλλά μικρά μόρια μεγέθους περίπου 22 νουκλεοτιδίων[5]. Οι εκτεταμένες έρευνες έδειξαν ότι υπήρξε συντήρηση αυτών των γονιδίων ανάμεσα στα είδη και ότι πολλά από τα νέα γονίδια που ανακαλύφθηκαν δεν σχετίζονταν με τη ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου και της ανάπτυξης αλλά με άλλες σημαντικές κυτταρικές διεργασίες[6]. Έτσι τη θέση του όρου stRNA πήρε η ονομασία microRNA για να περιγράψει μια νέα ευρύτερη κατηγορία γονιδίων με παρόμοια χαρακτηριστικά αλλά αδιευκρίνιστο μηχανισμό δράσης. Έτσι μπορούμε να δώσουμε έναν πιο τυπικό ορισμό για τα microRNA (miRNA) αναφέροντας ότι πρόκειται για μεγέθους 21-25 νουκλεοτιδικά ενδογενή και μη κωδικά μόρια RNA τα οποία προέρχονται από μεγαλύτερα πρόδρομα μέσω μιας διαδικασίας ωρίμανσης που θα αναλυθεί στις επόμενες σελίδες.

Επειδή ο ακριβής τους αριθμός είναι ακόμα άγνωστος υπολογίζεται ότι αποτελούν το 1-3 % των γονιδίων κάθε οργανισμού[7]. Σε ότι αφορά στη συντήρηση ανάμεσα στα είδη όλα τα γονίδια που έχουν εντοπισθεί στον άνθρωπο συντηρούνται στον ποντικό [5] και το 1/3 περίπου των γονιδίων του *C.elegans* έχει ομόλογα στα σπονδυλωτά.

Μέχρι το 2010 είχαν ταυτοποιηθεί περισσότερα από 800 microRNA στον άνθρωπο και 700 στο ποντίκι με τα περισσότερα να έχουν άγνωστο βιολογικό ρόλο αλλά με την παρουσία τους να εμπλέκεται σε σημαντικές λειτουργίες αποδεικνύοντας ότι η μελέτη των συγκεκριμένων γονιδίων άπτεται των πιο σύγχρονων ζητημάτων Βιοιατρικής έρευνας[8].



Εικόνα 2: Διαδικασία σχηματισμού microRNA.

1.5.1 Η microRNA έκφραση

Για τη μελέτη της έκφρασης των microRNA γονιδίων έχουν πραγματοποιηθεί εκτεταμένες μελέτες. Η κοινώς αποδεκτή άποψη είναι ότι τα microRNA γονίδια έχουν πολύ διαφορετικά και εξαιρετικά ενδιαφέροντα προφίλ έκφρασης[9] [10]. Αυτή η ποικιλία στην έκφραση των συγκεκριμένων γονιδίων είναι και μια πρώτη ένδειξη για τον πολύ σημαντικό ρόλο τους στη «λεπτή» ρύθμιση που προκαλούν στα υπόλοιπα γονίδια. Χαρακτηριστικά παραδείγματα έκφρασης αποτελούν το microRNA γονίδιο miR-1 που εκφράζεται στα κύτταρα της καρδιάς των θηλαστικών[6], το miR-122 που εκφράζεται στο συκώτι, τα γονίδια της ομάδας miR-35 που τα συναντάμε στο έμβryo του *C.elegans* ή τα miR-290 που εντοπίζονται στα βλαστοκύτταρα του εμβρύου του ποντικού[11] [12]. Ένα άλλο σημαντικό χαρακτηριστικό έχει να κάνει και με την ποσοτικοποίηση της έκφρασης. Αυτό γιατί παρατηρήσεις έχουν δείξει ότι συγκεκριμένα microRNA σε συγκεκριμένους κυτταρικούς τύπους μπορούν να εκφράζονται σε πολύ μεγάλο ποσό ενώ αλλιά γονίδια σε πολύ μικρότερο. Για παράδειγμα το γονίδιο miR-58 στο σκουλήκι εκφράζεται σε ποσό της τάξης των 50.000 μορίων ανά ώριμο κύτταρο ενώ το miR-124 του ίδιου οργανισμού σε ποσό των 800 μορίων ανά κύτταρο[13]. Ακόμα δεν έχει καταστεί σαφές το που οφείλονται αυτά τα διαφορετικά υψηλά ή χαμηλά επίπεδα έκφρασης. Επιπλέον παρατηρούνται διαφοροποιημένα προφίλ έκφρασης σε διάφορες παθολογικές καταστάσεις τονίζοντας τη

σημασία της «ασορροπίας» αυτών των προφίλ για διάφορες ασθένειες. Επιπρόσθετα, άγνωστος παραμένει και ο ακριβής μηχανισμός ρύθμισης της έκφρασης των microRNA γονιδίων. Μια επικρατούσα άποψη εμπλέκει φαινόμενα αυτορύθμισης των microRNA γονιδίων ή ρύθμισης μεταγραφικών παραγόντων οι οποίοι με τη σειρά τους επηρεάζουν τη ρύθμιση των ίδιων των γονιδίων δημιουργώντας μοτίβα ανάδρασης[14] [15]. Οι περισσότερες λεπτομέρειες για τη ρύθμιση των microRNA γονιδίων είναι πέρα από το θέμα της παρούσας εργασίας.

1.5.2 Οι λειτουργίες των microRNAs

Τα microRNA έχουν την δυνατότητα να ρυθμίζουν την έκφραση άλλων γονιδίων. Οι εκτεταμένες έρευνες έχουν δείξει ότι εν δυνάμει το 30% των γονιδίων ενός οργανισμού ρυθμίζεται μέσω επίδρασης microRNA μορίων[16]. Ακόμα κάθε microRNA μπορεί να ρυθμίζει πολλούς στόχους αλλά και διαφορετικοί στόχοι μπορούν να συνδέονται και να ρυθμίζονται από διαφορετικά microRNA. Γενικά οι στόχοι των microRNAs ποικίλουν. Μπορεί να είναι μεταβολικά ένζυμα, σηματοδοτικές πρωτεΐνες ή και μεταγραφικοί παράγοντες. Επομένως καταλαβαίνουμε ότι τα μικρά αυτά μόρια έχουν τεράστια επίδραση σε διάφορες κυτταρικές διεργασίες.

Πιο αναλυτικά μελέτες σε διάφορους τύπους οργανισμών εμπλέκουν τα microRNA γονίδια σε μονοπάτια ρύθμισης του κυτταρικού κύκλου, την απόπτωση, στην ανάπτυξη του νευρικού και μυϊκού συστήματος, την εμβρυογένεση και τη μορφογένεση[17] [18]. Επιπλέον πειράματα σε ποντίκια έδειξαν εμπλοκή των microRNA στη ρύθμιση των βλαστοκυττάρων (stem cells)[19] [20]. Ένα ακόμα σημαντικό μονοπάτι ρύθμισης εμπλέκει τα microRNA με τις βασικές αρχές λειτουργίας του ανοσοποιητικού συστήματος[21]. Σε όλες τις παραπάνω περιπτώσεις ρύθμισης παρατηρείται ένα συγκεκριμένο προφίλ έκφρασης. Η διατήρηση αυτού του προφίλ ή αλλιώς της miRNA ομοιόστασης κρίνεται ζωτικής σημασίας για τη σωστή λειτουργία του οργανισμού. Πάρα πολλές περιπτώσεις ασθενειών συνοδεύονται από «διαταραγμένο» προφίλ έκφρασης των microRNAs γονιδίων γεγονός που αποκαλύπτει τη σημαντικότητα της λεπτής ρύθμισης που προκαλούν στην πρόγνωση και τη διάγνωση αλλά και τις δυνατότητες για θεραπευτική που θα εξηγήσουμε στην επόμενη ενότητα[22].

Πέρα όμως από τη ρύθμιση βασικών λειτουργιών του οργανισμού ο μηχανισμός δράσης αυτών των μορίων χρησιμοποιείται και από αρκετούς ιούς[23]. Οι ιοί σαν παρασιτικοί οργανισμοί κωδικοποιούν microRNAs για να καταλάβουν τα κύτταρα του ξενιστή και να επιβιώσουν. Είναι γνωστά περισσότερα από 120 virus miRNA συμπεριλαμβανομένων και κάποιων που έχουν συνδεθεί με tumor viruses[24].

1.5.3 Σχετιζόμενες Ασθένειες

Η σημαντικότητα της ρύθμισης από microRNA γίνεται μεγαλύτερη από την εντυπωσιακή λίστα ασθενειών που έχουν συσχετιστεί οι ερευνητές με αυτά. Όπως φάνηκε από την προηγούμενη ενότητα τα microRNAs εμπλέκονται στις περισσότερες κυτταρικές διεργασίες. Και θα ήταν λογικό η απορύθμιση τους, που όπως είπαμε απεικονίζεται με διαταραγμένο προφίλ έκφρασης, να επιφέρει σημαντικές παθολογικές καταστάσεις.

Σε γενικές γραμμές τα microRNAs έχουν συσχετισθεί με τις παρακάτω ασθένειες:

1.5.3.1. Καρκίνος

Η πιο σημαντική συσχετιζόμενη ασθένεια είναι φυσικά ο καρκίνος. Οι υποψίες που οδήγησαν στην έρευνα της συγκεκριμένης ασθένειας ήταν η αρχική σύνδεση των microRNAs με τον κυτταρικό κύκλο και την απόπτωση. Σήμερα γνωρίζουμε με βεβαιότητα ότι σε περιπτώσεις καρκίνου η miRNA έκφραση είναι απορυθμισμένη αλλά και αντίστροφα ότι η απορύθμιση της miRNA έκφρασης μπορεί να προκαλέσει καρκίνο. Έχει πιστοποιηθεί ότι η χρόνια λεμφοκυτταρική λευχαιμία (CLL) έχει διαφοροποιημένη miRNA έκφραση όπως και το 50% των περιπτώσεων των πολλαπλών λεμφωμάτων. Συγκαταλέγεται στη λίστα και ο καρκίνος του προστάτη, ο καρκίνος του μαστού, οι κακοήθειες του παγκρέατος και του ήπατος όπως και το γλοιοβλάστωμα[25] [26].[27] Ακόμα πολλά microRNA γονίδια έχουν πάρει την ονομασία oncogenes καθώς βρέθηκε ότι η δράση τους ενισχύει την δημιουργία και τη μετάσταση του καρκίνου αλλά και tumor suppressors στην αντίθετη περίπτωση όταν δηλαδή η έκφραση τους είναι μειωμένη στις κακοήθειες και καταστέλλουν γονίδια που προκαλούν τον καρκίνο. Στον επόμενο πίνακα φαίνεται μια λίστα με αρκετά miRNA που έχουν διαφοροποιημένη έκφραση σε διάφορες περιπτώσεις καρκίνου. Πέρα από τη συσχέτιση των συγκεκριμένων γονιδίων με την συγκεκριμένη ασθένεια και τη προφανή χρήση τους ως biomarkers το πιο σημαντικό είναι ότι μπορούν να χρησιμοποιηθούν σαν καινοτόμες θεραπευτικές στρατηγικές και να πάρουμε νέα και πραγματικά αποδοτικά γονιδιακά φάρμακα.

1.5.3.2. Καρδιακές παθήσεις

Για την επίδραση των microRNA σε καρδιαγγειακές παθήσεις έχουν γίνει πειράματα σε ποντίκια[28]. Συγκεκριμένα το γονίδιο miR-208 έχει συσχετισθεί με περιπτώσεις καρδιακών παθήσεων κάτω από την επίδραση άγχους. Άλλο παράδειγμα είναι το miR-1 το οποίο συνδέεται με την καρδιακή αρρυθμία[29]. Συνολικά τα αποτελέσματα και άλλων ερευνών έχουν δείξει ότι η συγκριτική μελέτη της επίδραση των miRNA σε καρδιακές παθήσεις θα δώσει ώθηση για καλύτερη διάγνωση.

1.5.3.3. Νευρολογικές παθήσεις

Μια άλλη κατηγορία ασθενειών είναι σχετικές με παθήσεις του νευρικού συστήματος. Έχουν γίνει πάρα πολλές αναφορές για τη σημαντικότητα των miRNA στην ανάπτυξη του νευρικού συστήματος και ως εκ τούτου έχουν μελετηθεί αρκετές ασθένειες. Μια από τις σημαντικότερες είναι η μυϊκή ατροφία (Spinal Muscular Atrophy SMA) μια παιδιατρική νευροεκφυλιστική νόσος που προκαλείται από μειωμένα πρωτεϊνικά επίπεδα των γονιδίων των κινητικών νευρώνων[30]. Μια άλλη σημαντική ασθένεια είναι η X νοητική υστέρηση (fragile mental retardation FXMR) που προέρχεται από απώλεια ή μεταλλάξεις στην πρωτεΐνης FMRP[31]. Το σχετιζόμενο miRNA γονίδιο είναι το miR-224 το οποίο έχει συσχετισθεί και με μια άλλη γνωστή νευρολογική εκφυλιστικό νόσο που είναι η νόσος του Parkinson[31].

1.5.3.4. Ασθένειες του ανοσοποιητικού

Τα microRNA έχουν αναδειχθεί σαν κύριοι ρυθμιστές του ανοσοποιητικού συστήματος για τα θηλαστικά. Πειράματα που εμπεριείχαν απορύθμιση miRNA ή και απώλεια συγκεκριμένων γονιδίων είχαν ως αποτέλεσμα προβλήματα στην ανάπτυξη του ανοσοποιητικού, προβλήματα απόκρισης σε ασθένειες και ανάπτυξη αυτοάνοσων νοσημάτων[33] [34]. Αξιοσημείωτα παραδείγματα είναι τα γονίδια miR-146, miR -155 και miR-181 που έχουν συσχετισθεί με απόκριση του ανοσοποιητικού συστήματος σε μολύνσεις από παθογόνους μικροοργανισμούς (βακτήρια), την προσαρμοστική ανοσία και τον έλεγχο των T κυττάρων[35].

1.5.3.5. Μόλυνση από ιούς

Τέλος δεν είναι και λίγες οι περιπτώσεις μολύνσεων από ιούς μέσω δράσης microRNA γονιδίων. Όπως προαναφέρθηκε έχουν εντοπισθεί πάνω από 120 είδη ιών miRNA με πιο σημαντικό παράδειγμα την κατηγορία ιών herpes virus[36]. Άλλο σημαντικό παράδειγμα είναι ο μεγαλοκυτταροϊός (cytomegalovirus HCMV) που κωδικοποιεί το miR-UL112[37], ο herpes virus με το γονίδιο miR-k12-11, ο simmian virus 40 που εκφράζει ένα πρόδρομο miRNA που παράγει 2 ώριμα και με τη δράση τους καταστέλλει το ανοσοποιητικό σύστημα, όπως και ο Epstein-Barr virus που με τα miRNAs που κωδικοποιεί επηρεάζει τα γονίδια που κυττάρου ξενιστή που σχετίζονται με τη σηματοδότηση και την αντιγραφή[38] [39]. Όλες οι παραπάνω μελέτες όχι μόνο βελτιώνουν τις γνώσεις μας για τη δράση διαφόρων ιών αλλά δίνουν και νέες οπτικές στα ρυθμιστικά και εξελικτικά miRNA μονοπάτια.

Από όλα τα παραπάνω καταλαβαίνουμε ότι τα microRNAs εμπλέκονται στην αρχικοποίηση και την εξέλιξη αρκετών σημαντικών ασθενειών. Για το λόγο αυτό και προκειμένου να βελτιώσουμε υπάρχουσες μεθόδους διάγνωσης και θεραπευτικής είναι αναγκαία η συνεχής μελέτη και έρευνα αυτών των μορίων. Έτσι ενισχύεται η ανάγκη για αποδοτικές υπολογιστικές μεθόδους πρόβλεψης και χαρακτηρισμού της δράσης τους.

1.6. Το πρόβλημα του εντοπισμού των γονιδίων-στόχων των microRNA από τη Βιβλιογραφία

Την τελευταία δεκαετία, έχουν δημιουργηθεί βάσεις δεδομένων που καταχωρούν αλληλεπιδράσεις μεταξύ microRNA και γονιδίων-στόχων που έχουν επιβεβαιωθεί με κάποια πειραματική μέθοδο. Τέτοιες εφαρμογές είναι το TarBase (<http://diana.imis.athena-innovation.gr/DianaTools/index.php?r=tarbase/index>), το miRTarBase (<http://mirtarbase.mbc.nctu.edu.tw/>) και το miRecords (<http://mirecords.umn.edu/miRecords/>). Τα δεδομένα αυτά προέρχονται από κείμενα δημοσιεύσεων ή από συμπληρωματικό υλικό που αναφέρει ή περιγράφει αποτελέσματα πειραμάτων.

Η διαδικασία της συγκέντρωσης των δεδομένων γίνεται συνήθως από ειδικούς που αναλαμβάνουν την ανάγνωση των δημοσιεύσεων, την επιλογή των στοιχείων που έχουν προκύψει ως αποτέλεσμα κάποιου πειράματος και την καταγραφή τους. Καθώς με το πέρασμα

του χρόνου, παρατηρείται σημαντική αύξηση του πλήθους των δημοσιεύσεων που σχετίζονται με τα microRNA, η καταγραφή αυτών των στοιχείων χειρωνακτικά γίνεται όλο και δυσκολότερη. Συγκεκριμένα, στην βιβλιογραφική βάση δεδομένων, PubMed, το πλήθος των δημοσιεύσεων που επιστρέφουν στο ερώτημα "microRNA OR miRNA" ανά χρονιά από το 2000 μέχρι τον Μάιο του 2014 είναι:

Έτος	# δημοσιεύσεων
2000	0
2001	5
2002	43
2003	115
2004	229
2005	429
2006	732
2007	1114
2008	1817
2009	2659
2010	4051
2011	5353
2012	6971
2013	8478
2014*	3575

Πίνακας 1.1: Δημοσιεύσεις από την NCBI που επιστρέφουν στο ερώτημα "mirna or microRNA", Για το 2014 οι δημοσιεύσεις είναι μέχρι 5/2014

Στον πίνακα παρατηρείται, ειδικά στα πρώτα χρόνια μετά την ανακάλυψη της λειτουργίας των microRNA, εκθετική αύξηση των δημοσιεύσεων. Αυτό οφείλεται στο ενδιαφέρον που συγκεντρώνει το αντικείμενο, καθώς η γνώση για τη λειτουργία τους αυξάνεται και οι μεθοδολογίες για τον εντοπισμό των microRNA και των γονιδίων-στόχων τους βελτιώνονται. Η έρευνα για τα microRNA σχετίζεται με διάφορα πεδία, όπως η γενετική, η εξέλιξη των ειδών, η διαδικασία διαφοροποίησης των κυττάρων και η ιατρική. Ειδικά στην ιατρική θεωρείται ότι τα αποτελέσματα αυτά μπορούν να οδηγήσουν στην καλύτερη κατανόηση και πιθανώς στη θεραπεία πολλών ασθενειών.

Η εκτενής βιβλιογραφία καθιστά τη διαδικασία καταγραφής των microRNA και των στόχων τους δυσκολότερη, ενώ ταυτόχρονα γίνεται πιο επιτακτική ως βοηθητικό εργαλείο για την έρευνα. Σε συγκεκριμένα πεδία, όπως για τις δημοσιεύσεις που αφορούν στον καρκίνο, έχουν ήδη αναπτυχθεί συστήματα αυτόματης εξαγωγής αλληλεπιδράσεων (miRCancer)[40].

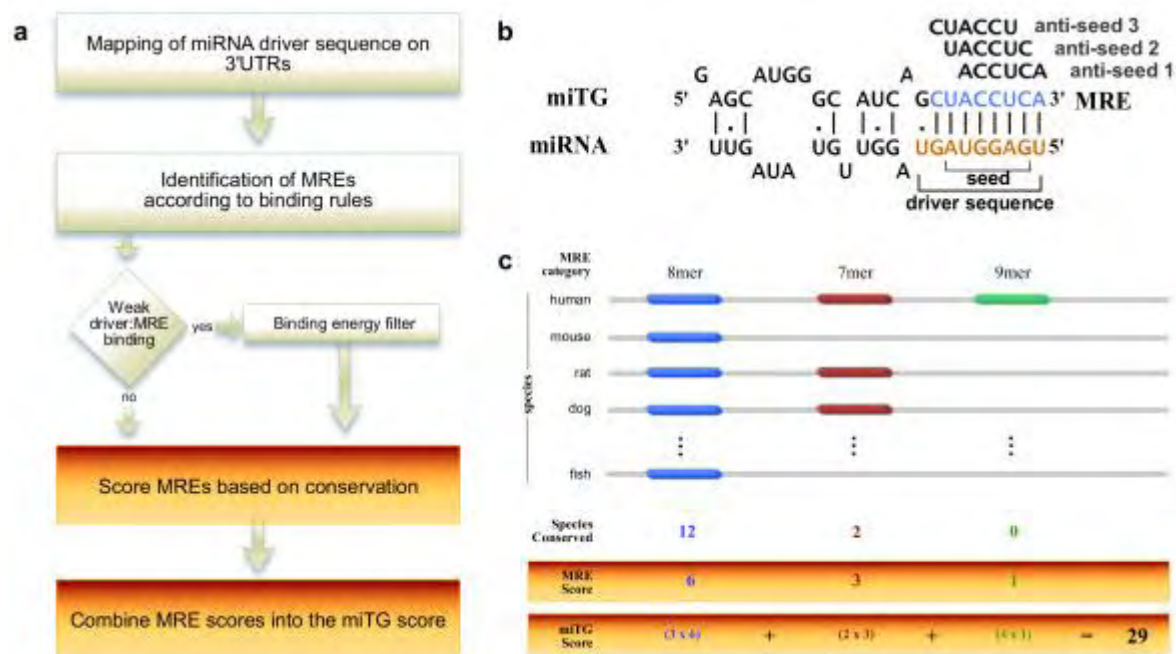
Η συγκεκριμένη μέθοδος που ακολουθείται για την εξαγωγή των αλληλεπιδράσεων στη miRCancer, περιλαμβάνει τον ορισμό κανόνων με βάση τους οποίους γίνεται αναγνώριση των αλληλεπιδράσεων στο κείμενο. Αυτές οι μέθοδοι παρουσιάζουν συνήθως μεγάλη ακρίβεια στα

αποτελέσματα, αλλά απαιτούν συστηματική ενασχόληση από ανθρώπους που γνωρίζουν το αντικείμενο. Επιπλέον, η ευαισθησία είναι συνήθως αρκετά μικρή. Τα αποτελέσματα που προκύπτουν σε άγνωστες δημοσιεύσεις αξιολογούνται από ανθρώπους και δημοσιεύονται στη σελίδα (<http://mircancer.ecu.edu/>).

2. Ο αλγόριθμος DIANA-microT 3.0

Τα τελευταία χρόνια αρκετές ομάδες πρότειναν τα πρώτα νουκλεοτίδια μίας ακολουθίας miRNA να είναι ζωτικής σημασίας για την αναγνώριση και το δέσιμο με τον αγγελιοφόρο μιας πρωτεΐνης. Η Κυριακίδου και άλλοι [41] έδειξαν την ανάγκη για μια σχεδόν συνεχόμενη δέσμευση των πρώτων 9 νουκλεοτιδίων του miRNA (ακολουθία οδηγός) (εικόνα 1β) με την 3'UTR αλληλουχία κωδικοποίησης γονιδίων πρωτεΐνης, για την καταστολή της μετάφρασης. Μια στατιστική προσέγγιση του Lewis και άλλων [42] αποκάλυψε ότι συμπληρωματικά μοτίβα στα νουκλεοτίδια 2-7 της αλληλουχίας οδηγού του miRNA (miRNA-περιοχή σπόρος) παραμένουν επιλεκτικά διατηρημένα σε αρκετά είδη. Τυπικά, πιστεύεται ότι το δέσιμο τουλάχιστον 7 συνεχόμενων Watson-Crick (WC) βάσεων νουκλεοτιδίων ζευγαρώματος μεταξύ της αλληλουχίας οδηγού του miRNA και της αναγνώρισης στοιχείων του miRNA (MRE), απαιτείται για την επαρκή καταστολή της παραγωγής πρωτεΐνης. Ωστόσο, πειραματικά στοιχεία [43] δείχνουν ότι οι πιο αδύναμοι δεσμοί, που περιλαμβάνουν μόνο έξι διαδοχικά συζευγμένα νουκλεοτίδια ή ατελείς δεσμούς, μπορούν επίσης να παρέχουν καταστολή στην πρωτεΐνη, αν και μπορεί γενικά να είναι λιγότερο αποτελεσματικά. Για το λόγο αυτό, προγράμματα πρόβλεψης στόχων miRNA, κυρίως βασίζονται στην στοίχιση της αλληλουχίας της περιοχής σπόρων του miRNA με την 3'UTR αλληλουχία των υποψήφιων γονιδίων στόχων για τον εντοπισμό υποθετικών θέσεων πρόσδεσης miRNA. Η ειδικότητα τους αυξάνεται συνήθως, με την επιπλέον εκτίμηση της εξελικτικής διατήρησης των συνηθέστερα παρατηρούμενων θέσεων πρόσδεσης ή με τη χρήση επιπλέον χαρακτηριστικών, όπως η δομική προσβασιμότητα θέσεων πρόσδεσης [44] [45], η νουκλεοτιδική σύνθεση που πλευρίζει τις θέσεις πρόσδεσης [46] ή με την προσέγγιση μιας θέσης πρόσδεσης στην άλλη μέσα στην ίδια 3'UTR αλληλουχία [46] [47] [48].

Ο DIANA-microT 3.0 αλγόριθμος χρησιμοποιεί τα προαναφερόμενα χαρακτηριστικά και κατηγοριοποιεί σαν υποτιθέμενα/φερόμενα/υποψήφια MREs εκείνες τις περιοχές που έχουν 7, 8 ή 9 νουκλεοτίδια μήκος διαδοχικές WC βάσεις συζευγμένα με την αλληλουχία οδηγό του miRNA, ξεκινώντας από τη θέση 1 ή 2 των 5 τελευταίων του miRNA. Για τα μέρη με επιπλέον σύζευξη βάσεων που περιλαμβάνει τα 3 τελευταία του miRNA, ένας μονός ασταθής ζεύγος G:U, ή ο δεσμός μόνο 6 διαδοχικών νουκλεοτιδίων με την αλληλουχία οδηγό επιτρέπεται. Περιληπτικά, ο DIANA-microT 3.0 αλγόριθμος αποτελείται από (εικ.2.1(α)): (α) στοίχιση της αλληλουχίας οδηγού miRNA πάνω στην αλληλουχία 3'UTR ενός γονιδίου που εκφράζει πρωτεΐνη, (β) ταυτοποίηση φερόμενων υποψήφιων MREs βασισμένη σε συγκεκριμένους κανόνες δεσμών (γ) βαθμολόγηση των επιμέρους MREs σύμφωνα με τον τύπο δεσμού τους και το προφίλ διατήρησης, (δ) υπολογισμός του γενικού βαθμού του γονιδίου στόχου του miRNA (miTG) μέσα από το σταθμισμένο άθροισμα όλων των βαθμολογιών των MRE που αντιστοιχίζονται πάνω στην 3'UTR. Το πρόγραμμα είναι σχεδιασμένο να χρησιμοποιεί έως 27 διαφορετικά είδη έτσι ώστε να εκτιμά τις βαθμολογίες συντήρησης των MRE και να συνδυάζει συντηρημένα και μη MREs σε ένα τελικό βαθμό miTG (εικ.2.1(γ)). Η βαθμολογία miTG συσχετίζεται με αλλαγές πτυχώσεων/διπλωμάτων στην πρωτεϊνική έκφραση. Επιπλέον, καθώς ο αλγόριθμος υπολογίζει όλα τα βάρη και τις βαθμολογίες ανεξάρτητα για κάθε miRNA επιτρέπει τον υπολογισμό τον λόγο σήματος προς θόρυβο (SNR) σε διαφορετικές αποκοπές βαθμολογιών miTG παρέχοντας ακριβείς βαθμολογίες οι οποίες χρησιμοποιούνται σαν μια ένδειξη του ρυθμού θετικών σφαλμάτων (false positive) των προβλεπόμενων αλληλεπιδράσεων.



Εικόνα 2.3: (α) Μια σχηματική περίληψη του αλγορίθμου. Η αλληλουχία οδηγός miRNA χαρτογραφείται πάνω σε ένα πλαίσιο μήκους 9nt, το οποίο κινείται/κυλάει κατά μήκος της 3' UTR αλληλουχίας. Η κατηγορία πρόσδεσης της αλληλεπίδρασης οδηγού-MRE ορίζεται από τον αριθμό των προσδετικών νουκλεοτιδίων μεταξύ των δύο αλληλουχιών. Τα ασταθή ζευγάρια G:U ή λιγότερα από 7 συνεχόμενα WC ζευγαρώματα, επιτρέπονται μόνο εάν η ενέργεια ελεύθερου δεσμού των ετεροδιπλότυπων miRNA - MRE βρίσκεται κάτω από ένα όριο συγκεκριμένης κατηγορίας σύνδεσης (λιγότερη ενέργεια ελεύθερου δεσμού αντιστοιχεί σε δυνατότερους δεσμούς). Τα MREs βαθμολογούνται σύμφωνα με την κατηγορία δεσμού και τον βαθμό της συντήρησης/διατήρησης σε άλλα είδη. Η τελική βαθμολογία miTG είναι το σταθμισμένο άθροισμα όλων των MREs πάνω στα miTG. (β) Η αλληλουχία MRE στην κορυφή είναι μέρος της αλληλουχίας 3' UTR γονιδίου. Η περιοχή του 9^{ου} νουκλεοτιδίου δίπλα στα 5 τελευταία του miRNA καλείται η αλληλουχία οδηγός του miRNA (φαίνεται στην εικόνα). Οι αλληλουχίες πάνω στο MRE, που αντιστοιχούν στις θέσεις 1-6, 2-7, 3-8 από τα 5 τελευταία του miRNA καλούνται antiseed-1, antiseed-2, antiseed-3 αντίστοιχα. (γ) Ένα παράδειγμα υπολογισμού βαθμολογίας το miTG. Η γραμμή στην κορυφή αναπαριστά την 3' UTR αλληλουχία ενός ανθρώπινου γονιδίου που περιέχει 3 MREs με διαφορετικά επίπεδα συντήρησης. Οι ξεχωριστές βαθμολογίες MRE υπολογίζονται ανάλογα με τον βαθμό συντήρησης του MRE και πολλαπλασιάζονται με ένα βάρος ανάλογα με την κατηγορία δεσμού του MRE. Το άθροισμα όλων των σταθμισμένων βαθμολογιών MRE καθορίζει τον τελικό βαθμό του miTG.

Γενικά τα miRNAs μπορούν να περιορίσουν την έκφραση των πρωτεϊνών με δύο τρόπους: μέσω υποβάθμισης m-RNA ή μέσω αποτροπής της μετάφρασης m-RNA. Μέχρι πριν λίγα χρόνια πειράματα μεγάλης ικανότητας διεκπεραίωσης ήταν ικανά να μετρήσουν μόνο τις miRNA ρυθμιζόμενες αλλαγές σε επίπεδο m-RNA (υποβάθμιση), επιτρέποντας το χαρακτηρισμό μόνο ενός υποσυνόλου των άμεσων στόχων miRNA [49] [50]. Ωστόσο πρόσφατα δύο ερευνητικές ομάδες [47] [51] ανέπτυξαν ανεξάρτητα μεθόδους για το χαρακτηρισμό αλλαγών miRNA ρυθμιζόμενης γονιδιακής έκφρασης σε m-RNA και πρωτεϊνικό επίπεδο. Ο Selabash και άλλοι [51] χρησιμοποιούσαν μικροσυστοιχίες και χαρακτηρισμό των παλμικά σταθερών ισότοπων με αμινοξέα σε αναλύσεις κυτταρικών καλλιιεργειών (pSILAC) για να καταλήξει στα γονίδια που στοχεύονται από κάθε ένα από τα 5 υπερεκφραζόμενα miRNAs στα κύτταρα HeLa. Με τη χρήση αυτού του σετ των πειραματικά αποδεδειγμένων στόχων οι συγγραφείς πραγματοποίησαν μια συγκριτική αξιολόγηση διαφόρων προγραμμάτων πρόβλεψης στόχων. Το σημείο αναφοράς αποκάλυψε ότι η απλούστερη μέθοδος πρόβλεψης που συμπεριλαμβάνει την αναζήτηση συμπληρωματικών αλληλουχιών της περιοχής σπόρου του miRNA στην 3' UTR των γονιδίων, απέδωσε ακρίβεια (το κλάσμα των προβλεφθέντων στόχων οι οποίοι τελικά υπορυθμίστηκαν) 44%, ενώ μόνο τρία από τα προγράμματα πρόβλεψης (συμπεριλαμβανομένης μιας αρχικής έκδοσης του DIANA microT 3.0) απέδωσαν σημαντικά υψηλότερη ακρίβεια. Ο

PicTar [52] και ο TargetScanS [42] απέδωσαν περίπου 62% ακρίβεια σε σύγκριση με τον DIANA microT 3.0 που απεδώσε περίπου κατά 66%.

2.1. Μέθοδοι

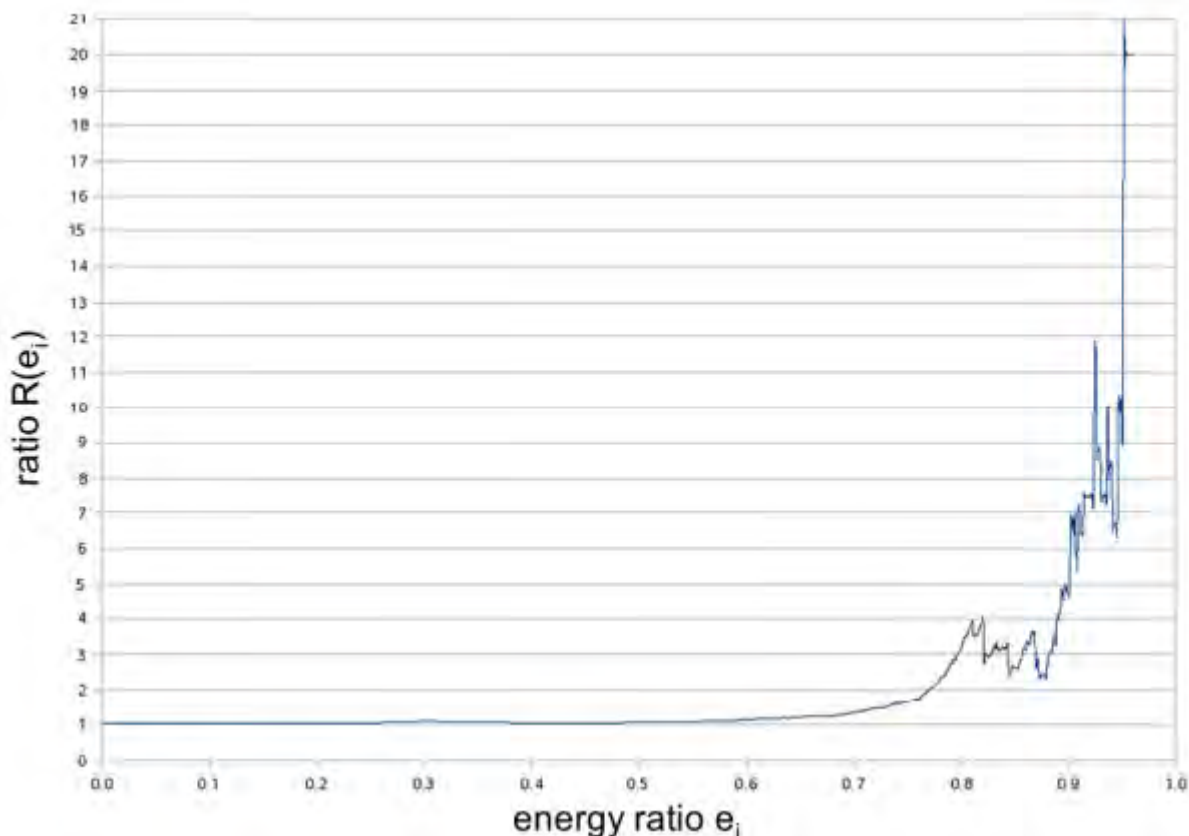
2.1.1. Αναγνώριση υποψήφιων/δυνητικών τοποθεσιών δεσμών miRNA μέσα από τη στοίχιση αλληλουχίας

Το πρόγραμμα ταυτοποιεί/αναγνωρίζει την στοίχιση/ευθυγράμμιση με την υψηλότερη βαθμολογία μεταξύ κάθε πλαισίου μήκους 9 νουκλεοτιδίων της 3' UTR με την αλληλουχία οδηγό του miRNA χρησιμοποιώντας έναν αλγόριθμο δυναμικού προγραμματισμού. Η στοίχιση βασίζεται στους ακόλουθους κανόνες δεσμών: αρχικά, απαιτούνται το ελάχιστο 6 συνεχόμενα ταιριάσματα (Watson-Crick (W-C) ή G:U). Εάν οι 6 αντιστοιχίες είναι W-C και το δέσιμο ξεκινάει στη θέση 1 ή 2 της αλληλουχίας οδηγού miRNA τότε το MRE θεωρείται ένα εξαμερές. Ένα επταμερές (8mer,9mer) έχει επτά (8,9) διαδοχικά W-C ταιριάσματα ξεκινώντας στην θέση 1 ή 2 του οδηγού miRNA. Ένα μονό ασταθές ζεύγος G-U επιτρέπεται με την προϋπόθεση ότι υπάρχουν τουλάχιστον 6 W-C ζεύγη, μετατρέποντας τα 7mer, 8mer, 9mer με ένα ασταθές ζεύγος βάσεων το καθένα.

2.1.2. Φιλτράρισμα υποψήφιων θέσεων δεσμών miRNA με βάση την ενέργεια δεσμού

Για τοποθεσίες με λιγότερο διαδοχικά ταιριάσματα W-C(6mer,7mer με ασταθές ζεύγος, 8mer με ασταθές ζεύγος,9mer με ασταθές ζεύγος) εφαρμόζεται ένα πρόσθετο φίλτρο ενέργειας. Με τη χρήση RNA hybrid [53] ο αλγόριθμος εκτιμά την ενέργεια ελεύθερου δεσμού μεταξύ της αλληλουχίας miRNA και της 3'UTR αλληλουχίας που γειτνιάζει τις ταυτοποιημένες υποψήφιες θέσεις πρόσδεσης και την συγκρίνει με την τέλεια συμπληρωματική ενέργεια του miRNA. Ως 'τέλεια συμπληρωματικά ενέργεια' εννοείται η υποθετική ενέργεια του τέλει δεσμού μεταξύ της miRNA αλληλουχίας και της αντίστροφης συμπληρωματικής αλληλουχίας. Έτσι μία ατελής θέση, με όρους στοίχισης, θεωρείται MRE μόνο εάν ο λόγος της ενέργειας ελεύθερου δεσμού με την τέλεια συμπληρωματική ενέργεια είναι μεγαλύτερος από συγκεκριμένο όριο κατηγορίας δεσμού. Ένα όριο της τάξεως του 0,6 χρησιμοποιείται για τα 9mers και 8mers που περιέχουν ένα ασταθές ζεύγος G-U, και ένα όριο 0,74 χρησιμοποιείται για τα 7mers με ασταθές ζεύγος G-U και τα 6mers. Τα όρια ενέργειας έχουν υπολογιστεί συγκρίνοντας τις εκτιμώμενες θέσεις δεσμών της πραγματικής αλληλουχίας miRNA ενάντια στις εκτιμώμενες θέσεις δεσμών διαφόρων ανακατεμένων αλληλουχιών miRNA. Οι ανάμεικτες αλληλουχίες miRNA είναι σχεδιασμένες να έχουν την ίδια αλληλουχία οδηγό με το πραγματικό miRNA με τη διαφορά ότι υπάρχει μια ανάμεικτη αλληλουχία των 3 τελευταίων με την ίδια νουκλεοτιδική σύσταση με το πραγματικό miRNA. Ο λόγος ενέργειας ελεύθερου δεσμού e_i ορίζεται ως ο λόγος της ενέργειας ελεύθερου δεσμού μεταξύ της αλληλουχίας miRNA και της αλληλουχίας 3'UTR που πλευρίζει τις ταυτοποιημένες υποψήφιες θέσεις δεσμών και της τέλει συμπληρωματικής ενέργειας miRNA. Επιπλέον $N_r(e_i)$ ορίζεται ως ο αριθμός των θέσεων δεσμών των πραγματικών miRNAs

που έχουν λόγους ενέργειας μεγαλύτερους από e_i και $N_s(e_i)$ ορίζεται ο αριθμός των θέσεων δεσμών των ανάμεικτων miRNAs που έχουν λόγους ενέργειας μεγαλύτερους από e_i . Ο λόγος $R_{e_i} = N_r(e_i) / N_s(e_i)$ δείχνει το επίπεδο επικράτησης της ενέργειας ελεύθερων δεσμών e_i για τις πραγματικές θέσεις δεσμών σε σχέση με την ενέργεια των ανάμεικτων/τυχαίων. Ένα παράδειγμα του πως αυτός ο λόγος R_{e_i} κυμαίνεται φαίνεται στο γράφημα 2.1. Για κάθε κατηγορία δεσμών τα όρια ενέργειας έχουν επιλεγεί στο σημείο όπου ο λόγος R_{e_i} γίνεται μεγαλύτερος από 2. Δείχνοντας πως σε αυτήν την τιμή της ενέργειας μπορεί κάποιος γενικά να βρει δύο φορές περισσότερες πραγματικές θέσεις δεσμών από ότι τυχαίες θέσεις δεσμών.



Γράφημα 2.1: Λόγος ενέργειας υβριδοποίησης. Ο λόγος R_{e_i} (κάθετος άξονας) σχεδιάζεται ενάντια στον λόγο ενέργειας e_i (οριζόντιος άξονας). Η καμπύλη αντιστοιχεί στην κατηγορία δεσμού που αποτελείται από επτά ζεύγη WC και ένα μόνο ασταθές ζεύγος G:U.

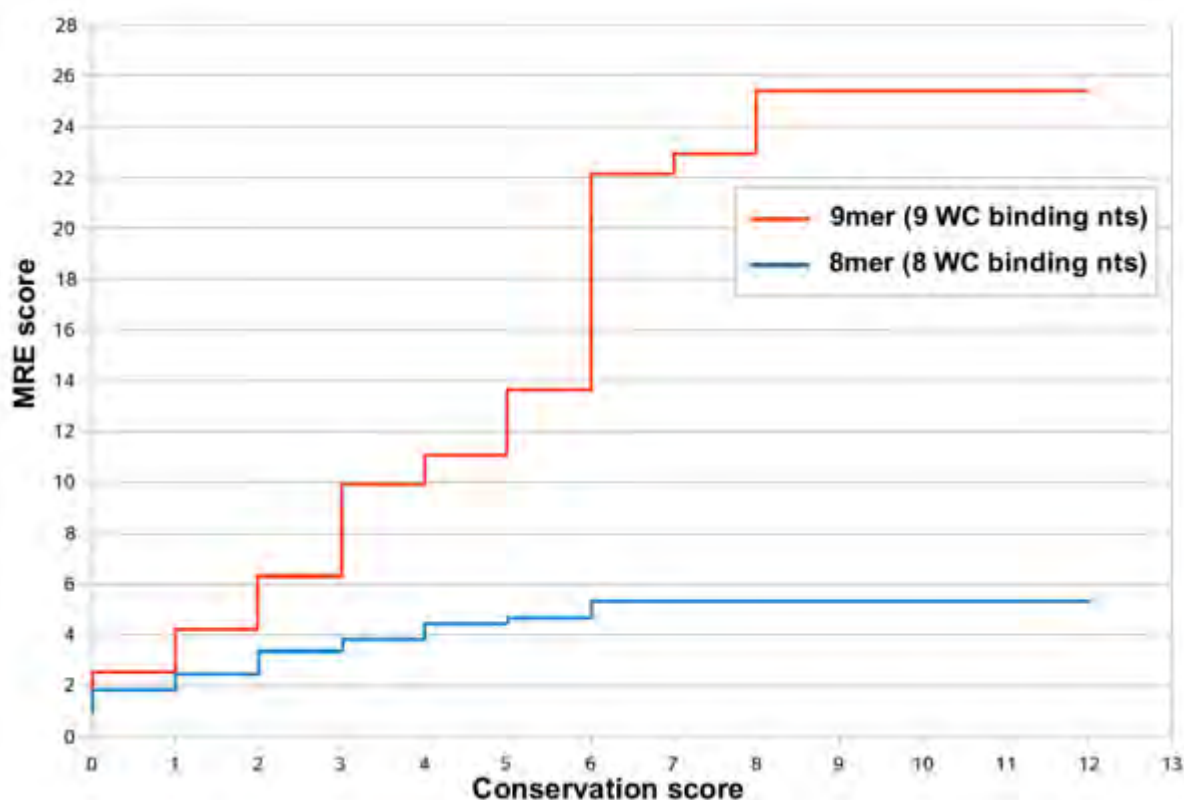
2.1.3. Τεχνητά miRNAs

Τα τεχνητά miRNAs είναι τεχνητά παραγόμενες αλληλουχίες miRNA οι οποίες δημιουργούνται ανεξάρτητα για κάθε πραγματικό miRNA. Οι τεχνητές αυτές miRNA αλληλουχίες είναι σχεδιασμένες να έχουν περίπου τον ίδιο αριθμό προβλεπθέντων MREs με το αντίστοιχο πραγματικό miRNA και γεννώνται από την ακόλουθη διαδικασία. Αρχικά όλες οι αλληλουχίες 3' UTR σαρώνονται για την εύρεση θέσεων τέλεια συμπληρωματικών με κάθε πιθανό μοτίβο μήκους 6 νουκλεοτιδίων (hexamer) αγνοώντας τα μοτίβα που αντιστοιχούν στις θέσεις 1-6, 2-7, 3-8 των πραγματικών miRNAs. Επιλέγονται τα 60 εξαμερή που έχουν τον πλησιέστερο αριθμό συμπληρωματικών θέσεων με τον σπόρο του πραγματικού miRNA. Έπειτα

χρησιμοποιούνται ως ο γόνος για κάθε δημιουργούμενο τεχνητό miRNA. Η υπολειπόμενη αλληλουχία των τεχνητών miRNAs παράγεται από την τυχαία ανάμειξη των υπόλοιπων νουκλεοτιδίων του πραγματικού miRNA.

2.1.4. Βαθμολογία στοιχείων αναγνώρισης miRNA (MRE βαθμολογία)

Τα αναγνωρισμένα MREs ελέγχονται για την συντήρηση της αλληλουχίας σε διάφορα είδη βασισμένα στην στοίχιση αλληλουχίας των ορθολογικών UTRs. Το MREx θεωρείται συντηρημένο σε είδη A εάν το x μπορεί επίσης να ταυτοποιηθεί στην ίδια ακριβώς θέση πάνω στην ορθολογική αλληλουχία 3'UTR των ειδών A. Η βαθμολογία συντήρησης c ενός MRE ορίζεται ως ο αριθμός των ειδών που το MRE συντηρείται. Η βαθμολογία του MRE υπολογίζεται ξεχωριστά για κάθε πραγματικό miRNA r, κάθε κατηγορία δεσμού b και κάθε βαθμός συντήρησης c. Αναλυτικά για κάθε κατηγορία δεσμού ο αριθμός των MREs $N_{r,b}(c)$ των πραγματικών miRNA και ο αριθμός των MREs $M_{r,m,b}(c)$ των αντίστοιχων τεχνητών miRNAs με βαθμό συντήρησης μεγαλύτερο ίσο από c μετρώνται και ο λόγος των 2 καθορίζει τον βαθμό του MRE(της κατηγορίας δεσμού b και του βαθμού συντήρησης c). Η εξίσωση που ορίζει τη διαδικασία είναι : $R_{r,b}(c) = 60 * N_{r,b}(c) / \sum_{m=1}^{60} M_{r,m,b}(c)$ όπου το r είναι ο δείκτης των πραγματικών miRNAs, το b αντιστοιχεί στην κατηγορία δεσμού, το c ορίζει τον βαθμό συντήρησης και το m ορίζει τον δείκτη των τεχνητών miRNAs από το σύνολο των τεχνητών miRNAs που αντιστοιχούν σε πραγματικά miRNAs r. Στην περιγραφόμενη διαδικασία ο λόγος παραμένει σταθερός εάν το $M_{r,m,b}(c)$ ή το $M_{r,m,b}(c)/60$ γίνει λογότερο από 20. Το γράφημα 2.2 παρουσιάζει ένα παράδειγμα του $R_{r,b}(c)$ για δύο κατηγορίες δεσμών με διαφορετικούς βαθμούς συντήρησης MRE.



Γράφημα 2.2: Βαθμολογία στοιχείων αναγνώρισης miRNA (MRE βαθμολογία). Ο βαθμός MRE (κάθετος άξονας) σχεδιάζεται έναντι του βαθμού συντήρησης MRE (οριζόντιος άξονας) για 2 διαφορετικές κατηγορίες δεσμών..

2.1.5. Βαθμός miRNA στόχων γονιδίου

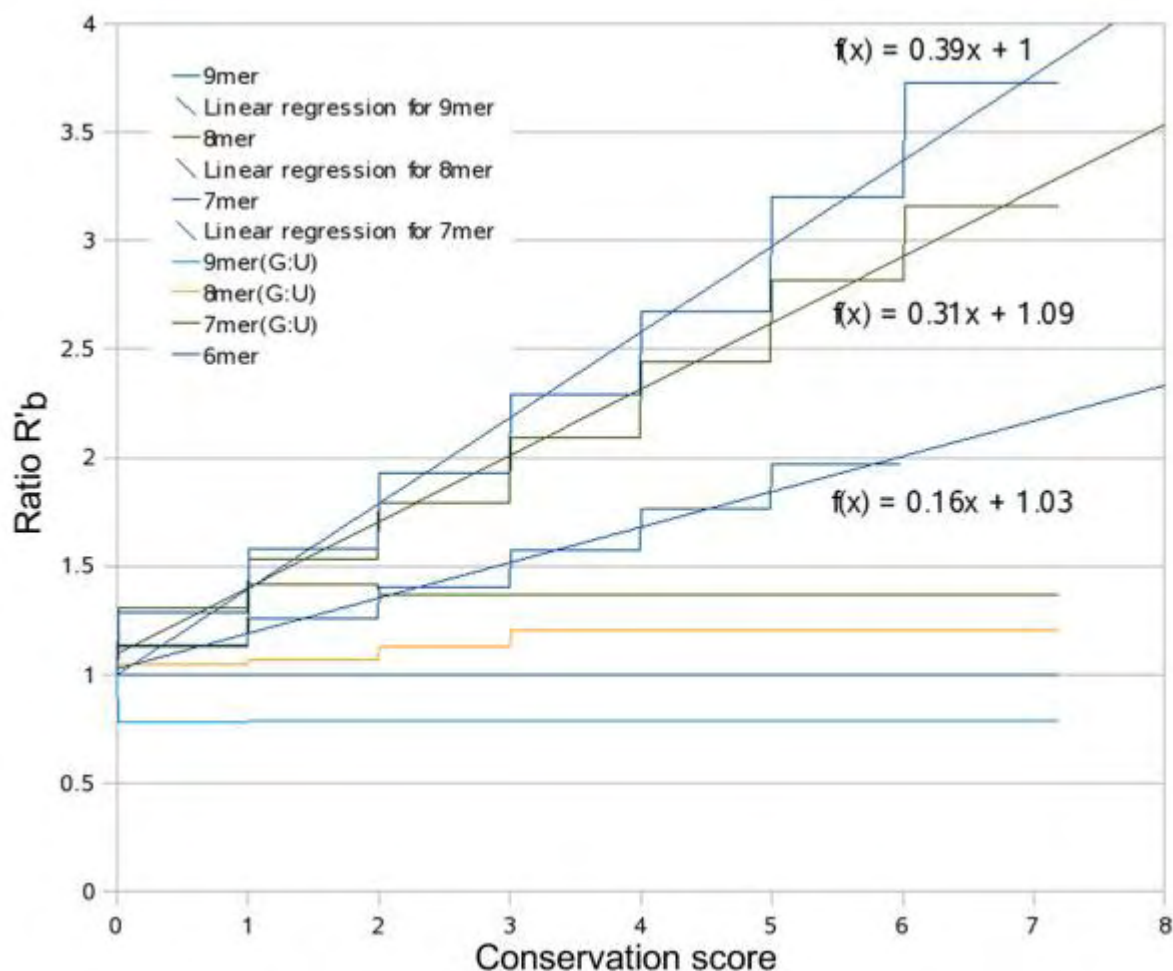
Οι βαθμοί των MREs που αναγνωρίστηκαν πάνω στην ίδια 3'UTR αλληλουχία συνδι;αζονται μέσα από ένα σταθμισμένο άθροισμα για την παραγωγή του τελικού βαθμού miTG. Τα βάρη w_b για κάθε κατηγορία δεσμών b υπολογίζονται χρησιμοποιώντας 75 miRNAs που συντηρούνται στον άνθρωπο, στον χιμπατζή, στο ποντίκι, στον αρουραίο στο σκύλο και στο κοτόπουλο συγκρίνοντας τα με 375 τεχνητές αλληλουχίες (5 τεχνητές αλληλουχίες miRNA για κάθε miRNA). Η ανάλυση είναι παρόμοια με τον υπολογισμό του βαθμού MRE που εξηγήθηκε παραπάνω, μόνο που σε αυτήν την περίπτωση τα 75 MiRNAs δεν αντιμετωπίζονται ξεχωριστά αλλά σαν ένα σύνολο. Ο λόγος $R'_b(c)$ για την κατηγορία δεσμού b και ο βαθμός συντήρησης c υπολογίζονται ως: $R'_b(c) = 5 * \sum_{r=0}^{75} N_{r,b}(c) / \sum_{r=1}^{75} \sum_{m=1}^5 M_{r,m,b}(c)$ όπου $N_{r,b}(c)$ είναι ο αριθμός των MREs των r αληθινών miRNAs κατηγοριοποιημένα σε κατηγορία δεσμού b έχοντας έναν βαθμό συντήρησης μεγαλύτερο από c . Όπου $M_{r,m,b}(c)$ ο αριθμός των MREs των m τεχνητών miRNA κατηγοριοποιημένων σε κατηγορία δεσμού b με βαθμό συντήρησης μεγαλύτερο από c που αντιστοιχούν σε πραγματικά miRNA r . Όπως φαίνεται από το γράφημα 2.3 τα βάρη για κάθε κατηγορία δεσμού εκτιμώνται με βάση την κλίση μιας εφαρμοζόμενης γραμμής. Η εφαρμογή πραγματοποιείται με βάση την γραμμική προσέγγιση ελαχίστων τετραγώνων. Για κάθε κατηγορία δεσμού το βάρος ορίζεται ως: $w(\text{κατηγορία δεσμού}) = \text{κλίση}(\text{κατηγορία δεσμού}) / \text{κλίση}(\text{ενιαμερές})$. Για παράδειγμα το βάρος της κατηγορίας οχταμερές θα είναι: $w_{8mer} = 0.31 / 0.39 = 0.79$. Εκτός από τα εννιαμερή τα οχταμερή και τα επταμερή οι υπόλοιπες κατηγορίες δεν διαφέρουν σημαντικά από το πλαίσιο των τεχνητών και

έτσι σε αυτήν την ανάλυση δεν υπολογίζονται συγκεκριμένα βάρη για αυτές τις κατηγορίες. Για να προσεγγιστούν τα εκτιμώμενα βάρη Dw_b βασιζόμενοι στην προηγούμενη ανάλυση, κάθε βαθμός MRE πολλαπλασιάζεται με ένα συγκεκριμένο βάρος mw_b το οποίο εξαρτάται από την κατηγορία δεσμού του MRE(πίνακας 2.1).

Binding category weights

Category	Estimated Weights (w_b)	Multiplication weights (mw_b)	Overall Diana weights $Dw_b = mw_b/m$
9mer	1	4	1.00 = 4/4
8mer	0.79	3	0.75 = 3/4
7mer	0.41	2	0.50 = 2/4
other	-	1	0.25 = 1/4

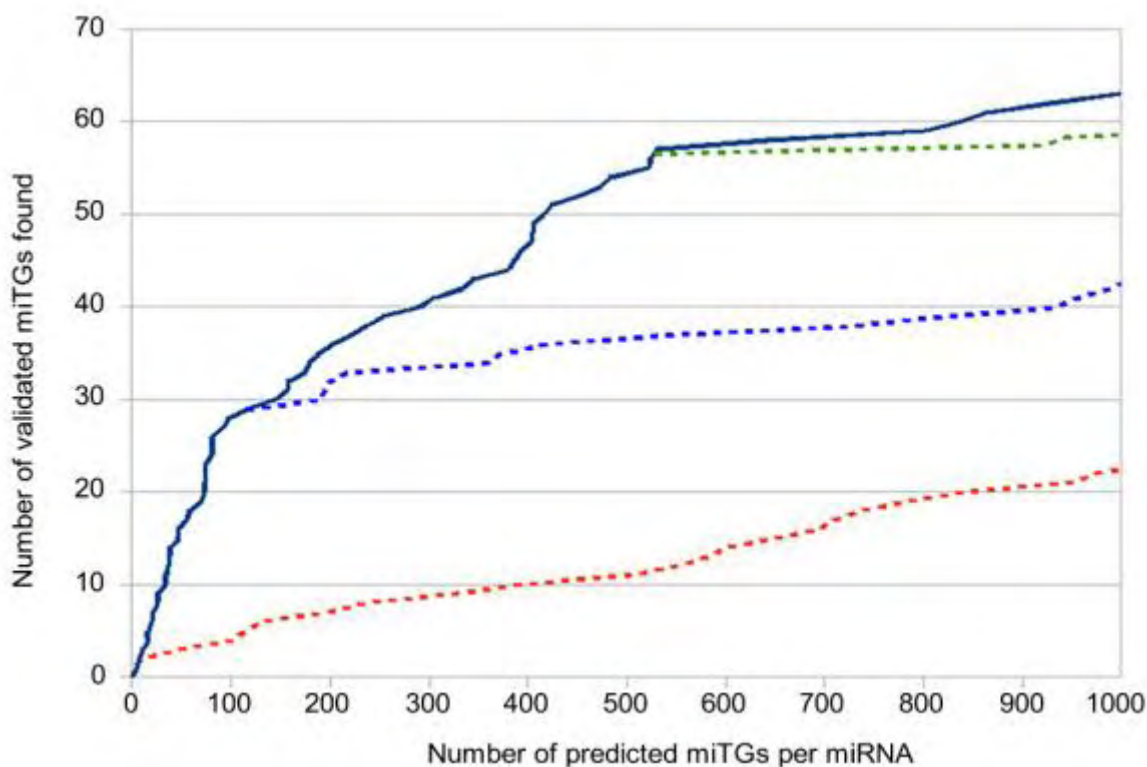
Πίνακας 2.2: Βάρη κατηγορίας δεσμών. Τα βάρη των δεσμών που εκτιμώνται για κάθε κατηγορία δεσμού και τα βάρη που χρησιμοποιούνται στον DIANA-μT 3.0., από τον Μαραγκάκη και άλλους, BMC Βιοπληροφορική 2009:



Γράφημα 2.3: Οι κατηγορίες δεσμών διαφέρουν από το πλαίσιο των τεχνητών. Ο λόγος R'b (κάθετος άξονας) ενάντια στον βαθμό συντήρησης (οριζόντιος άξονας) για το σύνολο που αποτελείται από 75 miRNAs που συντηρούνται στον άνθρωπο, στο χιμπατζή, στο ποντίκι, στον αρουραίο, στον σκύλο και στο κοτόπουλο. Το διάγραμμα αυτό δείχνει πως κάθε κατηγορία δεσμού μπορεί να διαφοροποιείται καθώς ο βαθμός συντήρησης αυξάνεται (περισσότερο συντηρημένα MREs). Φαίνεται ότι τα εννιαμερή τείνουν να διαφοροποιούνται περισσότερο από τα οχταμερή και τα οχταμερή περισσότερο από τα επταμερή. Εκτός από τις κατηγορίες των εννιαμερών, οχταμερών και επταμερών, οι υπόλοιπες κατηγορίες δεν φαίνεται να διαφέρουν σημαντικά από το υπόβαθρο.

2.1.6. Αξιολόγηση βαθμολογίας ορίου miTG

Ένα συνηθισμένο πρόβλημα ανάμεσα στα προγράμματα πρόβλεψης στόχων miRNA είναι η απόφαση της βαθμολογίας των ορίων που θα μειώσει τον αριθμό των μη ταξινομημένων. Εδώ ένα σύνολο από 100 πειραματικά υποστηριζόμενων στόχων για 43 διαφορετικά ανθρώπινα miRNAs (που παρέχεται από το TarBase5.0)[54] χρησιμοποιήθηκε για τον καθορισμό ενός βαθμού ορίου βιολογικής σημασίας/υπόστασης. Με βάση αυτό το σύνολο δεδομένων, έγινε μια ανάλυση ώστε να δοκιμαστεί η ικανότητα του αλγορίθμου να ταυτοποιήσει υποστηριζόμενους στόχους όταν αυξάνεται το όριο βαθμολογίας miTG. Όπως ήταν αναμενόμενο, η ικανότητα του αλγορίθμου μειώνεται όταν ο βαθμός miTG αυξάνεται (γράφημα 2.4). Ωστόσο υπάρχουν δύο διακριτές βαθμολογίες miTG (7.3 και 19.0) με σημαντικά μεγαλύτερη μείωση της απόδοσης. Γιαντό το λόγο αυτές οι τιμές βαθμολογίας miTG επιλέχθηκαν σαν ένα χαλαρό και ένα αυστηρό όριο βαθμολογίας miTG αντίστοιχα. Ωστόσο οι χρήστες έχουν τη δυνατότητα να ρυθμίσουν το όριο κατά προτίμηση ώστε να ανταλλάξουν μεταξύ επιπέδων ακρίβειας και ευαισθησίας.



Γράφημα 2.4: Ορισμός ορίου βαθμολογίας με βιολογική σημασία. Πειραματικά αξιολογημένοι στόχοι που προβλέφθηκαν σωστά από το DIANA microT 3.0 ενάντια στον μέσο αριθμό των προβλεφθέντων miTGs για κάθε miRNA. Η κλίση της καμπύλης αντιστοιχεί στον ρυθμό με τον οποίο σωστά αξιολογημένοι στόχοι ανακαλύπτονται καθώς περισσότερα miTGs προβλέπονται. Υπάρχουν 2 ξεχωριστά σημεία στα οποία η κλίση αλλάζει. Τα σημεία αυτά αντιστοιχούν σε βαθμολογίες miTG 19 και 7,3 τα οποία προτείνονται ως αυστηρό και χαλαρό όριο βαθμολογίας miTG αντίστοιχα. Σαν έλεγχος η σειρά των miTGs με βαθμολογίες μικρότερες από κάθε όριο αναμείχθηκε. Ο ρυθμός ανακάλυψης αυτών των ελέγχων φαίνεται με γραμμή με τη μορφή τελειών. Η κόκκινη γραμμή δείχνει όλα τα miTGs με τυχαία σειρά η μπλε γραμμή τα miTGs με βαθμό κάτω από 19 και η πράσινη γραμμή τα miTGs με βαθμό μικρότερο του 7,3. Η διαφορά της κλίσης μεταξύ της συνεχούς γραμμής και κάθε γραμμής με τελείες, δείχνει τη βελτίωση του ρυθμού ανακάλυψης που επιτυγχάνεται από το σχήμα βαθμονόμησης του DIANA microT 3.0. Δύο άλλα προγράμματα πρόβλεψης στόχων (picTar και 4,2 targetScan) συγκρίθηκαν με το DIANA microT 3.0 στο ίδιο σύνολο δεδομένων επιτυγχάνοντας παρόμοια επίπεδα ακρίβειας (γράφημα 2.8).

2.1.7. Ακρίβεια

Η ακρίβεια της πρόβλεψης ορίζεται ως ο λόγος των ορθών θετικών προβλέψεων με όλες τις θετικές προβλέψεις [ακρίβεια=ορθά θετικά/(ορθά θετικά+ εσφαλμένα θετικά)]. Στην περίπτωση του DIANA microT 3.0 ο μέσος αριθμός των miTGs για τεχνητά miRNAs παρέχει μία εκτίμηση του αριθμού των εσφαλμένα θετικών στόχων που προβλέφθηκαν. Έτσι ο αριθμός των ορθά θετικών προβλέψεων των miTGs μπορεί να υπολογιστεί αφαιρώντας τον μέσο αριθμό των προβλεφθέντων miTGs για τα τεχνητά miRNAs από τον συνολικό αριθμό των προβλεφθέντων miTGs για τα πραγματικά miRNAs. Πιο συγκεκριμένα η ακρίβεια για τα miRNA r σε βαθμολογία miTG s υπολογίζονται ως: $\text{ακρίβεια}_r(s) = [W_r(s) - \bar{W}_{r,m}(s)]/W_r(s)$ όπου W_r είναι ο αριθμός των miTGs των r πραγματικών miRNA που έχουν βαθμολογία miTGs από s έως $s+\Delta s$ και $\bar{W}_{r,m}$ είναι ο μέσος αριθμός των miTGs των τεχνητών miRNAs που αντιστοιχούν σε miRNA r που έχουν miTGs βαθμολογία από s έως $s+\Delta s$ και Δs είναι ένα καθορισμένο πλαίσιο βαθμολογίας miTG ($\Delta s=3$).

2.1.8. Αλληλουχίες miRNAs

Οι αλληλουχίες miRNA από άνθρωπο και ποντίκι που χρησιμοποιούνται από τον DIANA microT 3.0. κατέβηκαν από την miR Base έκδοση 10.0 [55].

2.1.9. Αλληλουχίες 3'UTR

Η γονιδιακές αλληλουχίες 3'UTR κατέβηκαν από Ensembl, διανομή 48[56]. Αυτές οι αλληλουχίες που αντιστοιχούν στο ίδιο γονίδιο αλλά σε διαφορετικά αντίγραφα γονιδίου φιλτραρίστηκαν έτσι ώστε να κρατηθούν μόνο οι μακρύτερες 3'UTR αλληλουχίες.

2.1.10. Αρχεία πολλαπλής στοίχισης (MAFs)

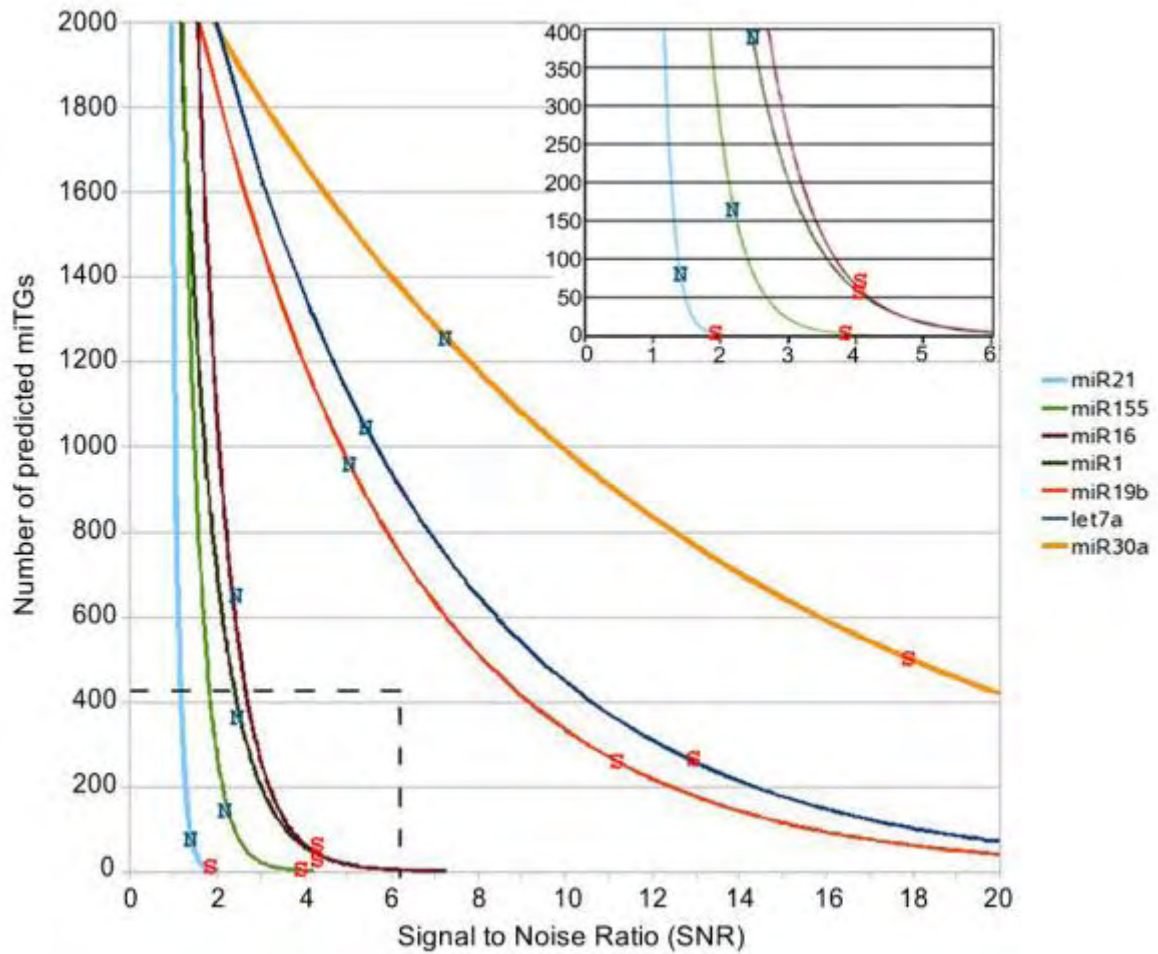
Τα αρχεία πολλαπλής γονιδιωματικής στοίχισης κατέβηκαν από το UCSC genome browser [57]. Το αρχείο που χρησιμοποιήθηκε για τον άνθρωπο (hg18) είναι η στοίχιση σε 16 σπονδυλωτά γονιδιώματα ενώ για το ποντίκι (mm9) 29 σπονδυλωτά γονιδιώματα.

2.2. Αποτελέσματα

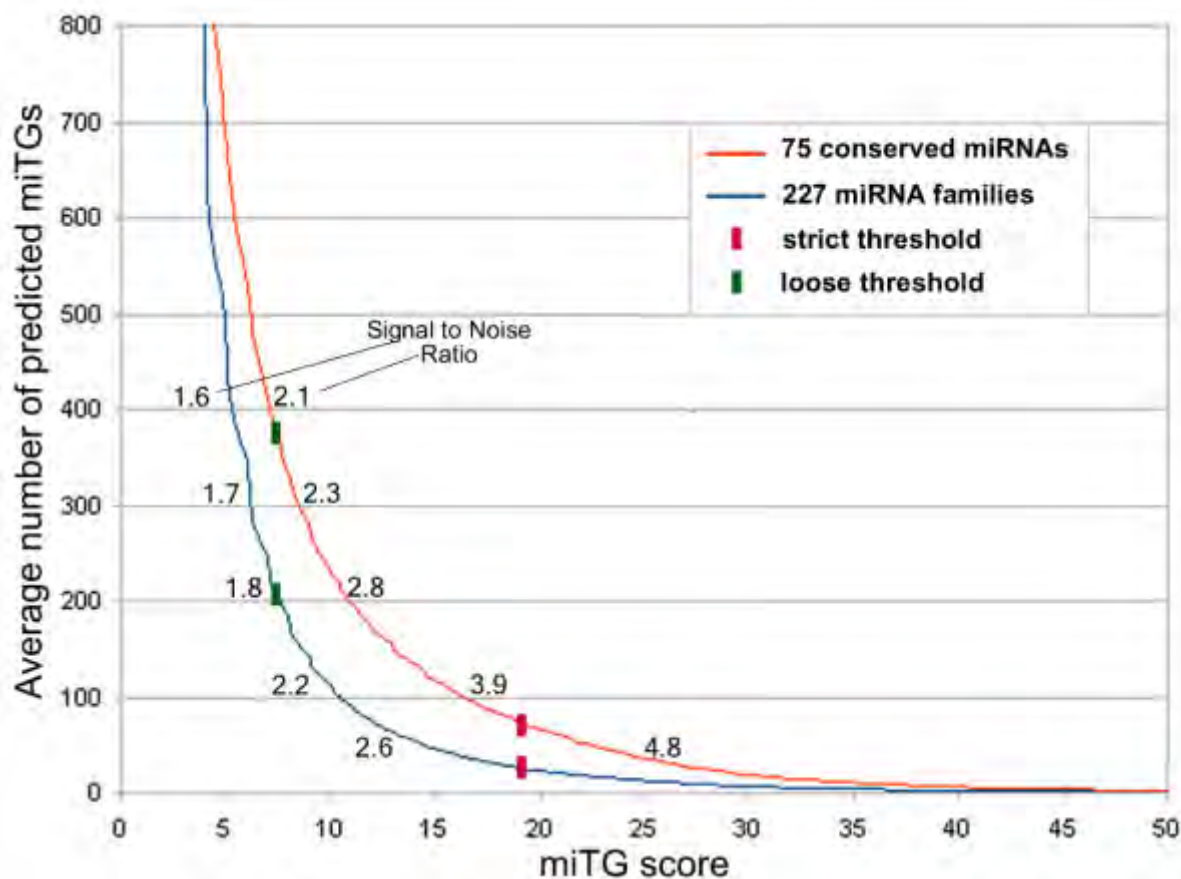
2.2.1. Αξιολόγηση λόγου σήματος προς θόρυβο(SNR)

Ο λόγος σήματος προς θόρυβο για έναν αλγόριθμο πρόβλεψης χρησιμοποιείται συνήθως για την αξιολόγηση της ακρίβειάς του. Για τον DIANA microT 3.0. το συνολικό SNR ορίζεται ως ο μέσος λόγος σήματος προς θόρυβο υπολογισμένος ξεχωριστά για κάθε miRNA. Ο ξεχωριστός υπολογισμός του λόγου σήμα προς θόρυβος γίνεται με την διαίρεση του αριθμού των προβλεφθέντων miTGs ενός πραγματικού miRNA με τον αριθμό των προβλεφθέντων miTGs του συνόλου των αντίστοιχων τεχνητών miRNAs. Υποθέτοντας ότι τα προβλεφθέντα miTGs για τις τεχνητές miRNA αλληλουχίες παρέχουν μια αμερόληπτη εκτίμηση του αριθμού των miTGs που προβλέφθηκαν μόνο από τύχη. Αναλυτικά η τιμή SNR του miRNA r με miTGs βαθμό s υπολογίζεται ως: $SNR_r(s) = 60 * NG_r(s) / \sum_1^{60} MG_{r,m}(s)$. Σε αυτή τη φόρμουλα $NG_r(s)$ αντιστοιχεί στον αριθμό των miTGs των πραγματικών miRNA r που έχουν miTGs βαθμό μεγαλύτερο από s ενώ το $MG_{r,m}(s)$ αντιστοιχεί στον αριθμό των miTGs των τεχνητών miRNA m που αντιστοιχούν στο πραγματικό miRNA r με miTG βαθμό μεγαλύτερο από s . Το γράφημα 2.5 παρουσιάζει ένα γράφημα του SNR για 7 διαφορετικά miRNAs. Ο υπολογισμός του συνολικού SNR για το DIANA microT 3.0 γίνεται σε δύο διαφορετικά σύνολα miRNAs. Το πρώτο σύνολο αποτελείται από 70 miRNAs που συντηρούνται σε έξι σπονδυλωτά είδη ενώ το δεύτερο σύνολο αποτελείται από 227 μοναδικά miRNAs με το καθένα να αναπαριστά μια οικογένεια miRNA με μεταβαλλόμενα επίπεδα συντήρησης. Το γράφημα 2.6 δείχνει το διάγραμμα του αριθμού των προβλεφθέντων miTGs ενάντια στο βαθμό miTG. Για ένα όριο

βαθμού miTG που δίνει σαν αποτέλεσμα μια μέση τιμή περίπου 100 προβλεπθέντων γονιδίων στόχων για κάθε miRNA ο DIANA-microT 3.0 καταφέρνει ένα συνολικό SNR 3,9 για το πρώτο σύνολο δεδομένων και ένα συνολικό SNR 2.2 για το 2^ο σύνολο δεδομένων το οποίο δείχνει ότι τα διατηρημένα miRNAs τείνουν να δίνουν υψηλότερες τιμές SNR.



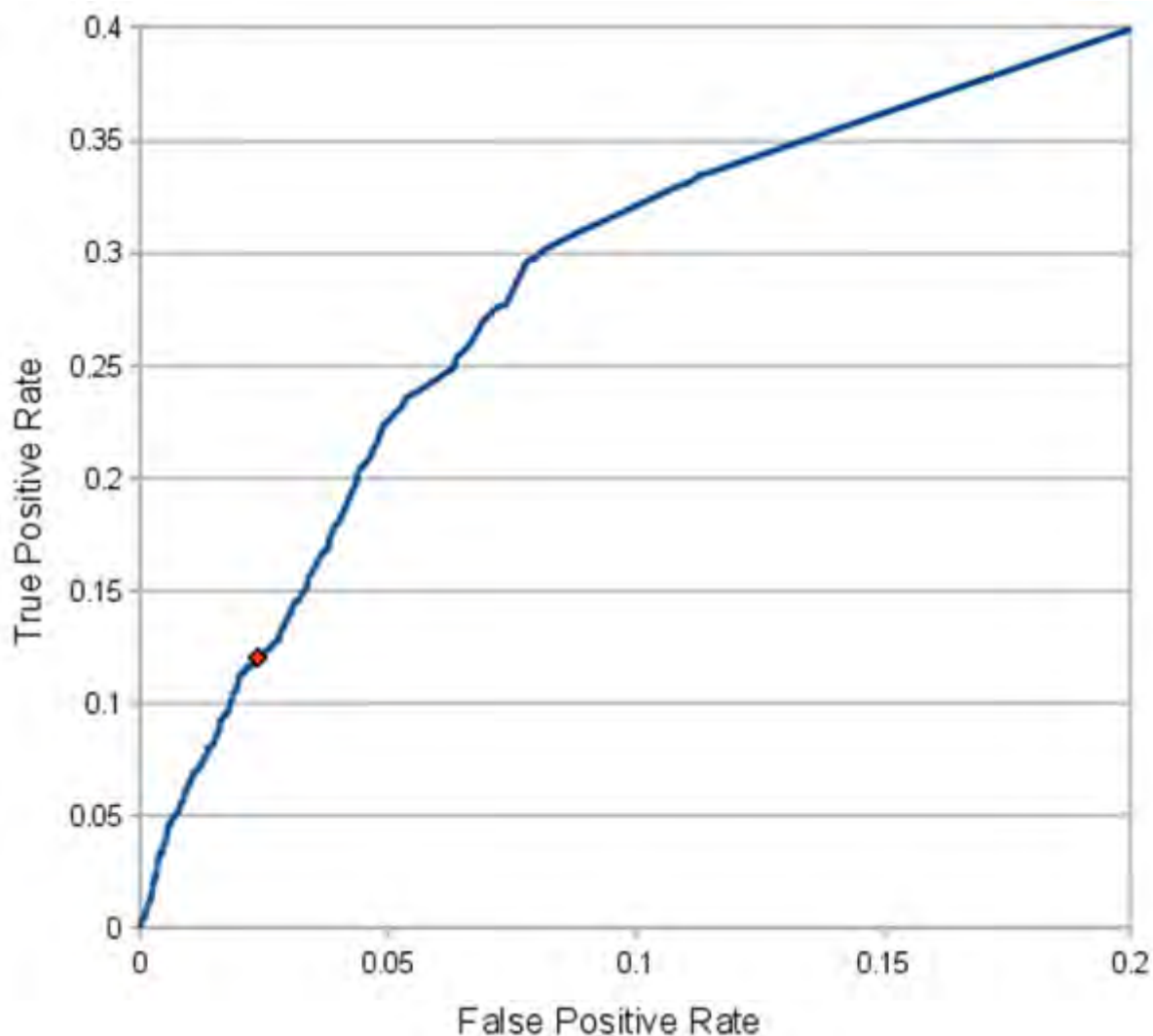
Γράφημα 2.5: Λόγος σήματος προς θόρυβο για 7 miRNAs. Καμπύλες που δείχνουν τον αριθμό των προβλεπθέντων miTGs έναντι του SNR για 7 miRNAs. Το ελαστικό και το αυστηρό όριο έχουν επισημανθεί στην εικόνα με τα σύμβολα «N» και «S» αντίστοιχα



Γράφημα 2.6: Συνολικός λόγος σήματος προς θόρυβο. Ο μέσος αριθμός των προβεβληθέντων miTGs για κάθε miRNA για διαφορετικές βαθμολογίες αποκοπής miTG. Η κόκκινη καμπύλη αμντιστοιχεί σε ένα σύνολο από 75 miRNA που συντηρούνται σε τουλάχιστον 6 είδη (άνθρωπος, χιμπατζής, ποντίκι, αρουραίος, σκύλος, κοτόπουλο) ενώ η μπλε καμπύλη αντιστοιχεί σε ένα σύνολο από 227 miRNA που αναπαριστούν τις οικογένειες miRNA (με μεταβαλλόμενα επίπεδα συντήρησης). Οι τιμές δίπλα στις καμπύλες φανερώνουν το συνολικό SNR. Υψηλότερος βαθμός miTG οδηγεί σε πρόβλεψη λιγότερων miTGs με υψηλότερο συνολικό SNR το οποίο ομολογεί χαμηλότερο αριθμό εσφαλμένα θετικών προβλεπθέντων miTGs. Το προτεινόμενο αυστηρό (κόκκινες μπάρες) και ελαστικό/χαλαρό (πράσινη μπάρα) όριο βαθμού miTG είναι μαρκαρασμένα στις κόκκινες καμπύλες. Για το αυστηρό όριο βαθμού miTG (βαθμός miTG=19) το εκτιμώμενο συνολικό SNR για το σύνολο των 227 miRNAs (μπλε γραμμή) είναι 3, που σημαίνει ότι περίπου ένα στα τρία προβλεπθέντα miTG πιθανών να είναι εσφαλμένα θετικό. Συγκριτικά στο χαλαρό/ελαστικό προτεινόμενο όριο (βαθμός miTG=7.3) περίπου ένα στα δύο προβλεπθέντα miTG μπορεί να είναι εσφαλμένα θετικό

2.2.2. Ανάλυση χαρακτηριστικών λειτουργίας αποδέκτη (ROC) σε πρωτεομικά δεδομένα

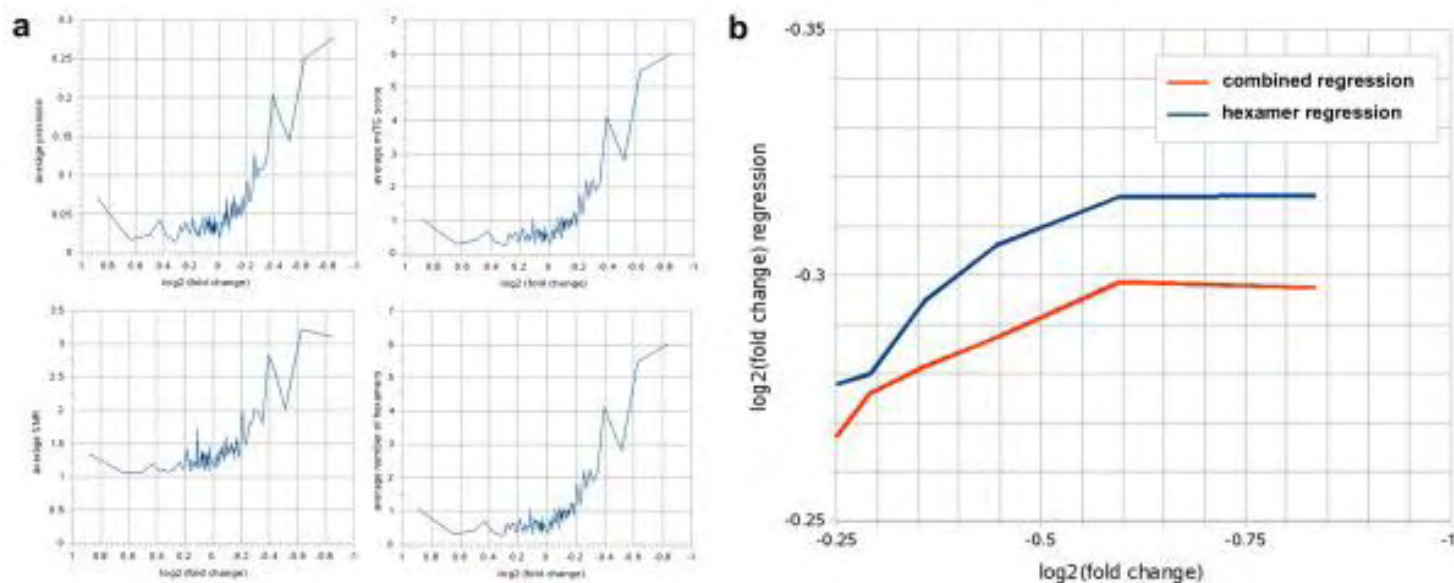
Μέχρι πρότινος μια κοινή δυσκολία στην αξιολόγηση της απόδοσης ενός αλγόριθμου πρόβλεψης ήταν το γεγονός ότι τα διαθέσιμα πειραματικά δεδομένα δεν μπορούσαν εύκολα να διαχωρίσουν ανάμεσα σε ορθούς και εσφαλμένους στόχους. Ωστόσο η πρόσφατη έρευνα του Selbach και άλλων παρέχει και τις δύο κλάσεις των στόχων επιτρέποντας την εκτίμηση του ορθά θετικού ρυθμού καθώς και του εσφαλμένα θετικού ρυθμού μιας πρόβλεψης. Χρησιμοποιώντας μια λογαριθμική κλίμακα του 2 (\log_2) αποκοπή αλλαγής δίπλωσης της τάξης του -0.2 για το διαχωρισμό μεταξύ στοχευμένων και μη γονιδίων η απόδοση του DIANA-microT3.0 αξιολογείται και παρουσιάζεται σαν μία ROC καμπύλη (γράφημα 2.7)



Γράφημα 2.7: Καμπύλη ROC του DIANA-microT3.0. Η καμπύλη ROC του DIANA-microT3.0 Υπολογισμένη στα δεδομένα Psilac[51]. Το προτεινόμενο ελαστικό όριο του DIANA-microT3.0 έχει μαρκαριστεί στο διάγραμμα με μία κόκκινη τελεία.

2.2.3. Συσχέτιση του βαθμού miTG με τον περιορισμό παραγωγής πρωτεϊνών

Στην έρευνα του Selbach και άλλων [51] παρατηρήθηκε πως υπάρχει μια συσχέτιση μεταξύ του \log_2 αλλαγής πτυχών της παραγωγής πρωτεϊνών με τον αριθμό που παρουσιάζεται το εξαμερές που αντιστοιχεί στον σπόρο ενός miRNA στην αλληλουχία 3'UTR των υπορυθμισμένων γονιδίων. Όταν διερευνήθηκαν τα ίδια δεδομένα χρησιμοποιώντας τον DIANA-microT3.0 παρατηρείται ένας παρόμοιος βαθμός συσχέτισης μεταξύ του επιπέδου υπορύθμισης των πρωτεϊνών και των προβλεφθέντων βαθμολογιών miTG, SNR και των τιμών ακρίβειας (γράφημα 2.8(α)). Ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός πως μια ανάλυση γραμμικής αναδρομής δείχνει ότι ο συνδυασμός του βαθμού miTG, της ακρίβειας, του SNR και του αριθμού των αντισπόρων (περιοχές στο γονίδιο 3'UTR συμπληρωματικές με τα γονίδια 1-6, 2-7, 3-8 του miRNA) και του αριθμού των αντισπόρων ως αναδρομές παρέχουν την καλύτερη ακρίβεια στην προσπάθεια πρόβλεψης τέτοιων αλλαγών πτύχωσης της έκφρασης πρωτεϊνών.



Γράφημα 2.8: Συσχέτιση των προβλέψεων του DIANA-microT3.0 με την πρωτεϊνική καταστολή. Αλλαγές στις πτυχώσεις υπολογίζονται για περίπου 5000 πρωτεΐνες μετά την υπερέκφραση του miRNA. Χρησιμοποιούνται τα αποτελέσματα για 5 miRNAs όπως παρέχονται από τον Selbach και τους άλλους. Ο μέσος όρος των αλλαγών στις πτυχώσεις και του βαθμού miTG υπολογίζεται σε ομάδες των 150 πρωτεϊνών ταξινομημένες με βάση στην αλλαγή στις πτυχώσεις. (α) Η συσχέτιση διάφορων μέτρων πρόβλεψης miRNA στόχων με την αλλαγή πτυχώσεων στην παραγωγή πρωτεϊνών εμπεριέχεται από τα ίδια miRNAs. Μπορεί να παρατηρηθεί ότι υπάρχει μία τάση των τιμών όλων των μέτρων να αυξηθούν όσο το επίπεδο υπορύθμισης αυξάνεται. (β) Η κόκκινη γραμμή δείχνει τη συσχέτιση μεταξύ του πλήθους παρουσιών του αντιγόνου 2 πάνω σε αλληλουχίες 3' UTR υπορυθμισμένων γονιδίων με την αλλαγή πτυχώσεων στην παραγωγή πρωτεϊνών των αντίστοιχων γονιδίων χρησιμοποιώντας μια γραμμική αναδομή. Η μπλε γραμμή δείχνει την αντίστοιχη συσχέτιση για μια γραμμική αναδρομή βασισμένη σε ένα συνδυασμό του βαθμού MiTG, της ακρίβειας, του SNR και της συχνότητας του αντιγόνου 2. Η συνδυαστική γραμμική αναδρομή συσχετίζεται καλύτερα με την αλλαγή πτυχώσεων στην παραγωγή πρωτεϊνών σε σχέση με την αναδρομή που βασίζεται μόνο στη συχνότητα του αντιγόνου 2. Η εικόνα 9β παρουσιάζει την αλλαγή πτυχώσεων της πρωτεϊνικής έκφρασης ενάντια στον αριθμό εμφανίσεων του αντιγόνου 2 του miRNA (ρυθμισμένο $R^2=0.12$) καθώς και την αλλαγή πτυχώσεων στην πρωτεϊνική έκφραση έναντι συνδυαστικής αναδρομής (ρυθμισμένο $R^2=0.15$).

3. Ο διαδικτυακός διακομιστής DIANA-microT

Τα microRNAs (miRNAs) είναι μικρά ενδογενή RNA μόρια που εμπλέκονται σε πολλές βιολογικές διαδικασίες μέσω της μετα-μεταγραφικής ρύθμισης της γονιδιακής έκφρασης. Ο διακομιστής DIANA-microT παρέχει μία φιλική προς το χρήστη διεπαφή για μια ολοκληρωμένη υπολογιστική ανάλυση των στόχων των miRNA στον άνθρωπο και στο ποντίκι. Ο διακομιστής έχει πλέον επεκταθεί για να μπορεί να υποστηρίξει προβλέψεις για δύο ευρέως μελετημένα είδη το *Drosophila melanogaster* και το *Caenorhabditis elegans*. Στην ενημερωμένη έκδοση, ο διακομιστής επιτρέπει τη σύνδεση των miRNAs με ασθένειες μέσω βιβλιογραφικής ανάλυσης και παρέχει ιδέες για την πιθανή συμμετοχή των miRNAs σε βιολογικές διεργασίες. Η ονοματολογία που χρησιμοποιείται για την περιγραφή των ώριμων miRNAs κατά μήκος διαφορετικών miRBase εκδοχών έχει αναλυθεί εκτενώς, και η ονοματολογική ιστορία κάθε miRNA έχει εξαχθεί. Αυτό επιτρέπει τον εντοπισμό των δημοσιεύσεων των miRNA, ανεξαρτήτως των πιθανών αλλαγών στην ονοματολογία τους. Η αλληλεπίδραση του χρήστη έχει εξειδικευθεί περαιτέρω, επιτρέποντας στους χρήστες να αποθηκεύουν τα αποτελέσματα που επιθυμούν να αναλύσουν περαιτέρω. Μια σύνδεση με τον περιηγητή του γονιδιώματος UCSC παρέχεται τώρα, επιτρέποντας στους χρήστες να κάνουν εύκολα προεπισκόπηση των προβλεπόμενων θέσεων σύνδεσης, σε σύγκριση με ένα ευρύ φάσμα γονιδιωματικών κομματιών, όπως οι μονοί νουκλεοτιδικοί πολυμορφισμοί [58]. Ο διακομιστής είναι προσβάσιμος στο κοινό μέσω της σελίδας www.microrna.gr/microT-v4.

Μετά τα πρώτα μόρια miRNA και τους miRNA στόχους που εντοπίστηκαν μέσω κλασικών γενετικών τεχνικών υπήρξε μια δραματική αύξηση στον αριθμό των miRNAs που είναι νηολογημένα στην miRBase [59]. Παράλληλα, η ανάπτυξη των πρώτων υπολογιστικών προγραμμάτων πρόβλεψης στόχου οδήγησε στην πειραματική ταυτοποίηση δεκάδων miRNA στόχων, και τόνισε την ανάγκη παροχής ενός αποτελεσματικού τρόπου πρόβλεψης στόχων miRNA [60] για να βοηθήσει τους βιολόγους στον πειραματικό σχεδιασμό. Η προηγούμενη έκδοση του διακομιστή DIANA-microT [61] παρουσίασε εκτενείς πληροφορίες για την πρόβλεψη miRNA που στοχεύουν αλληλεπιδράσεις γονιδίων σε μια φιλική προς το χρήστη διεπαφή. Προσέφερε συνδέσεις με ονοματολογία, με ακολουθίες και με βάσεις δεδομένων πρωτεϊνών, με πληροφορίες για πειραματικά επαληθευμένους στόχους μέσω του TarBase [60] και στόχους που προβλέπονται από το PicTar [62] ή το TargetScan [63]. Επίσης, οι χρήστες διευκολύνονται από τη δυνατότητα αναζήτησης στοχευμένων γονιδίων με διαφορετικά ονόματα ή λειτουργικά χαρακτηριστικά.

Στις σελίδες που ακολουθούν θα περιγράψουμε, μια εκτενή ενημέρωση αυτού του διακομιστή με αρκετές σημαντικές βελτιώσεις: μία προηγμένη βιβλιογραφική ανάλυση η οποία συσχετίζει miRNAs με ασθένειες, την υποστήριξη σε δύο επιπλέον είδη, μια γραφική απεικόνιση με όλες τις σχετικές λειτουργικές πληροφορίες από το πρόγραμμα περιήγησης γονιδιωμάτων UCSC, την παρακολούθηση των αλλαγών στην ονοματολογία των miRNA, καθώς επίσης και εξατομικευμένες συνεδρίες του χρήστη που επιτρέπουν το προσωπικό ερωτηματολόγιο ιστορικού και σελιδοδεικτών.

3.1. Μέθοδοι και αποτελέσματα

3.1.1 Σχέση των miRNAs με διάφορα λειτουργικά χαρακτηριστικά, τις ασθένειες και ιατρικές περιγραφές

Ο διακομιστής DIANA microT παρέχει μια λειτουργική ανάλυση των miRNAs που φτάνει πέρα από μια απλή απαρίθμηση των miRNA στόχων, μέσω της ενσωμάτωσης της γνώσης που προέρχεται από τη βιβλιογραφία και γνωστά βιολογικά μονοπάτια. Στην προηγούμενη έκδοση του διακομιστή, βιβλιογραφική ενσωμάτωση θεωρούνταν οι αυτοματοποιημένες αναζητήσεις στο PubMed που παρείχε δημοσιεύσεις που σχετίζονται με miRNA, με κάθε γονίδιο-στόχο ή τον συνδυασμό των δύο. Τώρα, ένα πρόσθετο χαρακτηριστικό που ονομάζεται «συναφείς νόσοι», έχει προσθέσει ότι συσχετίζει άμεσα τα miRNA με δημοσιεύσεις που συνδέονται με μία ή περισσότερες ασθένειες. Αυτό το χαρακτηριστικό βασίζεται στις πληροφορίες που περιλαμβάνονται στον τίτλο ή στον πρόλογο των δημοσιεύσεων που βρέθηκαν στο PubMed. Όλες οι πρόλογοι που συνδέονται με miRNA ανακτώνται από το PubMed, με βάση την παρουσία του ονόματος του miRNA ή ενός μέλους της οικογένειας του, όπως ορίζεται από το miRBase, στον τίτλο ή τον πρόλογο της δημοσίευσης. Οι δημοσιεύσεις που σχετίζονται ανακτώνται με τις Ιατρικές θεματικές επικεφαλίδες (MeSH), την Εθνική Βιβλιοθήκη του ελεγχόμενου λεξιλογίου θυσαυρού της Ιατρικής, μέσω των μεταδεδομένων (metadata) τους. Όλες οι ασθένειες που σχετίζονται με τους όρους του MeSH για ένα miRNA υπολογίζονται και οπτικοποιούνται μέσω μιας ετικέτας σύννεφο (εικόνα 3.1), όπου οι όροι του MeSH εμφανίζονται σε ένα μέγεθος ανάλογο με τον αριθμό των δημοσιεύσεων που αναφέρουν αυτή την ένωση του miRNA με την ασθένεια.



Εικόνα 3.4: Ένα παράδειγμα μιας ετικέτας σύννεφο για το HSA-miR-1 που δείχνει τις σχετικές ασθένειες που συνδέονται με όρους MeSH.

Οι όροι του MeSH των ετικετών σύννεφο χρησιμεύουν επίσης σαν μια υπερσύνδεση με σχετικές εκδόσεις. Για παράδειγμα, στην εικόνα 3.2, το miR-455-star (miR-455*) έχει συσχετιστεί με μια δημοσίευση που δείχνει ότι οι χαμηλότερες εκφράσεις αυτού του miRNA συσχετίζονται με κακή γενική επιβίωση στο ενδομήτριο ορώδες αδενοκαρκίνωμα[64].

The screenshot displays the DIANA-microT v4 web interface. At the top, a search bar contains 'mmu-miR-455-star' and a threshold of 0.3. Below the search bar, a table lists search results with columns for Ensembl Gene ID, miRNA name, miTG score, SNR, Precision, and Also Predicted. The first result is for ENSMUSG0000017412, miR-455-star, with a miTG score of 0.767 and SNR of 0.9. To the left of the main content is a sidebar with 'Personal info' and 'Queries performed'. Below the search results, there are sections for 'Gene details' (including Ensembl Gene ID, Gene Name, Refseq IDs, and Description) and 'miRNA details' (including Name, Alternative description, Related names, miRNA sequence, and External links). A 'PubMed links' section shows a search for 'miRNA | gene | both' with a 'UCSC graphic' button. A 'Binding site information' section shows a '5mer' binding site with a score of 0.469198 and a '7mer' binding site with a score of 0.274157. A 'Bibliography search' section shows a search for 'miRNA | gene | both' with a 'PubMed links' button. A 'View targets in UCSC browser' section shows a 'UCSC graphic' button. A 'Published papers associated with disease MeSH terms and miRNAs' section shows a search for 'miRNA | gene | both' with a 'PubMed links' button. A 'User personal area statistics, bookmarks, history' section shows 'logged in as guest' and 'Queries performed: 1'. A 'miRNA history' section shows 'Last query on: 2011-02-21 21:02:21' and 'Stored bookmarks: 1'. A 'Binding site information' section shows a '5mer' binding site with a score of 0.469198 and a '7mer' binding site with a score of 0.274157.

Εικόνα 3.5: Παράδειγμα μιας σελίδας αποτελεσμάτων διακομιστή Web DIANA-μT. Τα συννεφάκια ορίζουν και εξηγούν σημαντικά χαρακτηριστικά της σελίδας αποτελεσμάτων. «Σχετικά Tag Cloud ασθένειες» περιέχουν συνδέσμους προς PubMed και διευκρινίζουν όλα τα έγγραφα τα οποία συνδέουν τη συγκεκριμένη ασθένεια με το αντίστοιχο miRNA. Ο τομέας «PubMed δεσμών» προβλέπει αυτόματη αναζήτηση βιβλιογραφία προς βασίζεται μόνο στο όνομα των miRNAs, των γονιδίων που κωδικοποιούν πρωτεΐνες ή το συνδυασμό και των δύο. Ο σύνδεσμος «UCSC γραφική» παρουσιάζει τις προβλεπόμενες θέσεις πρόσδεσης σε ένα παράθυρο του προγράμματος περιήγησης γονιδιωμάτων UCSC μαζί με σημάδια SNPs και επαναλαμβανόμενα στοιχεία. Η αριστερή πλευρά της σελίδας είναι αφιερωμένη στη διοίκηση του προσωπικού χώρου του χρήστη και αναφέρει πρόσφατες αναζητήσεις του και σελιδοδείκτες.

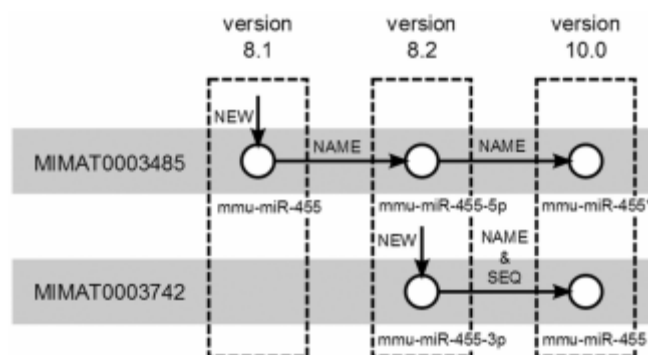
Το χαρακτηριστικό που επιτρέπει στο χρήστη να φιλτράρει τους στόχους ενός miRNA με βάση τα μονοπάτια KEGG[65] ενσωματώνεται τώρα στην αρχική μορφή του ερωτήματος εισόδου. Ο χρήστης έχει τώρα την επιλογή για να εισάγει ένα miRNA μαζί με τα ονόματα των μονοπατιών του ενδιαφέροντος του και παρέχονται αμέσως μόνο τα γονίδια στόχοι του miRNA που βρέθηκαν στα μονοπάτια του ενδιαφέροντος του. Για παράδειγμα, ένα ερώτημα για το HSA-miR-221 θα επιστρέψει 113 προβλέψεις στόχων σε ένα κατώτατο όριο βαθμολογίας του 0,5, ενώ μια συνδυασμένη αναζήτηση του miRNA με τον όρο «MAPKsignaling-pathway» θα φιλτράρει τα αποτελέσματα σε 21 σχετικούς στόχους.

Επιπλέον, οι θέσεις των θέσεων δέσμευσης για το mRNA του γονιδίου στόχου παρουσιάζονται γραφικά, μέσω του προγράμματος περιήγησης γονιδιώματος UCSC. Αυτό το

αυτόματο ανέβασμα μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την παροχή πληροφοριών σε σχέση με άλλα κομμάτια ενδιαφέροντος του χρήστη, όπως μονοί νουκλεοτιδικοί πολυμορφισμοί (SNPs), επαναλαμβανόμενα στοιχεία και 30-UTR εναλλακτικές μορφές σύνδεσης.

3.1.2. Εξόρυξη του ιστορικού ενός miRNA από τη miRBase

Η σχέση των miRNAs σε διάφορες λειτουργίες και ασθένειες που περιγράφηκε παραπάνω, βασίζεται στην ονοματολογία των miRNA. Εφόσον η βιολογία των miRNA αποτελεί ακόμα ένα πεδίο ροής, μπορεί να επηρεάσει στο γεγονός πως ένα miRNA μπορεί να αλλάξει το όνομά του μεταξύ δύο διαδοχικών εκδόσεων της miRBase. Λόγω αυτών των αλλαγών, οι ερευνητές μπορεί να χάσουν τα ίχνη του πλήρους ιστορικού ενός miRNA και συναφείς βιβλιογραφικές έρευνες να παραμείνουν ανολοκλήρωτες. Για να διευθετηθεί αυτό το ζήτημα, μια εκτεταμένη ανάλυση σχετικά με 13 εκδόσεις της miRBase (εκδόσεις 7.1. έως 14) πραγματοποιείται, και η ιστορία της ονοματολογίας κάθε miRNA εξάγεται. Η ανάλυση αυτή, χρησιμοποιεί την έκδοση 13 της miRBase σαν τη βάση δεδομένων αναφοράς. Αυτή η έκδοση περιλαμβάνει 1884 ώριμα miRNAs για τα τέσσερα γένη που υποστηρίζονται στο διακομιστή. Σε κάθε miRNA έχει εκχωρηθεί ένας μοναδικός αναγνωριστικός αριθμός που συμβολίζεται ως "id MIMAT» και ένα συνδεδεμένο συγκεκριμένο miRNA όνομα. Μεταξύ των εκδόσεων, αλλαγές σημειώθηκαν σε 77 MIMAT-id (38 σε ανθρώπινα, 37 στον ποντικό και 2 Drosophila) και σε 151 ονόματα miRNA (76 σε ανθρώπινα, 71 στον ποντικό και 4 Drosophila). Αυτό δείχνει ότι οι αλλαγές στο όνομα είναι πιο συχνές από τις αλλαγές στα MIMAT-id. Για να παρακολουθούνται οι αλλαγές αυτές, ένας δείκτης ιστορικού είναι ενσωματωμένος στο διακομιστή. Αυτός ο δείκτης πληροφορίας διατίθεται στον χρήστη μέσω ενός ειδικού χαρακτηριστικού που ονομάζεται «miRNA history», ο οποίος χρησιμοποιείται επίσης για miRNA αναζητήσεις στη βιβλιογραφία. Για παράδειγμα, το MMU-MIK455 εμφανίστηκε για πρώτη φορά στην miRBase v8.1. Το όνομά του αργότερα άλλαξε σε MMU-miR-455-5 p στην έκδοση 8.2 και αργότερα εμφανίστηκε ως MMU-miR-455 * στην έκδοση 10.0 (εικόνα 3.3). Αυτές οι πληροφορίες μπορούν να ανακτηθούν από το ιστορικό του miRNA, αλλά χρησιμοποιείται επίσης για την επέκταση της ένωσης του MMU-mir-455 * με το ορώδες αδενοκαρκίνωμα του ενδομητρίου στη δημοσίευση, όπου αναφέρεται ως miR-455-5p (εικόνα 3.2).



Εικόνα 3.6: Γραφική παρουσίαση των μεταβολών που εμπλέκονται στο ιστορικό του miRNA MMU-miR-455. Αρχικά το MIMAT0003485 παρουσιάστηκε στην έκδοση 8.1 ως MMU-miR-455, αλλά το όνομά του άλλαξε διαδοχικά σε MMU-miR-45-5p στην έκδοση 8.2 και σε MMU-miR-455-star (MMU-MIK455 *) στην έκδοση 10.0. Ομοίως το, MIMAT0003742 παρουσιάστηκε για πρώτη φορά στην έκδοση 8.2 ως MMU-miR-455-3p, ενώ στην έκδοση 10.0, η αλληλουχία του αλλάζει και μετονομάστηκε σε MMU-miR-455.

3.1.3. Πρόβλεψη-στόχων και υποστήριξη των miRNAs

Η πρώτη έκδοση του διακομιστή DIANA-microT είχε σχεδιαστεί για να υποστηρίζει τη λειτουργική ανάλυση των ανθρώπινων miRNAs και αυτών του ποντικού. Τώρα ο διακομιστής έχει ενημερωθεί με τις προβλέψεις για δύο επιπλέον είδη και τις νεότερες εκδόσεις του miRBase (miRBase 13) και Ensembl(Ensembl 54[66]. Συνολικά προβλέψεις για 723 νέα miRNAs έχουν προστεθεί, εκ των οποίων τα 147 αντιστοιχούν σε *Drosophila melanogaster*, 154 σε *C. elegans* και τα υπόλοιπα είναι νέα *Homo sapiens* και *Mus musculus*. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα περίπου τον διπλασιασμό του αριθμού των προβλεπόμενων στόχων σε σύγκριση με την προηγούμενη έκδοση, συνολικού ύψους περισσότερα από έξι εκατομμύρια προβλεπόμενα γονίδια στόχους. Ο διακομιστής μπορεί να υποστηρίξει διαφορετικούς αλγόριθμους πρόβλεψης και παρέχει αυτήν την περίοδο στους στόχους του μια ενημερωμένη έκδοση του αλγόριθμου που χρησιμοποιήθηκε προηγουμένως [67]. Ενώ ο microT-v3.0 βασίζεται σε χαρακτηριστικά που χωρίζουν πραγματικά και εικονικά miRNAs, στην τρέχουσα έκδοση, microT-v4.0, χρησιμοποιούνται μεγάλα ποσά πειραματικών δεδομένων για τον ίδιο σκοπό [68].

3.1.4. Εξατομικευμένες συνεδρίες χρήστη

Για να επιτραπεί στους χρήστες να επωφεληθούν πλήρως από τις λειτουργίες του διακομιστή, αρκετές λειτουργικές βελτιώσεις έχουν υλοποιηθεί (Σχήμα 2). Το πιο σημαντικό είναι ένας ολοκληρωμένος προσωπικός χώρος των χρηστών στον οποίο οι χρήστες μπορούν εύκολα να αποθηκεύσουν σημαντικές αναζητήσεις και αποτελέσματα που επιθυμούν να διατηρήσουν για μελλοντική ανάλυση. Ειδικότερα, το σύστημα διατηρεί τις πιο πρόσφατες αναζητήσεις των χρηστών, δίνοντας την ευκαιρία να επαναλάβουν τις αναζητήσεις. Ένας bookmarking μηχανισμός προβλέπει την δυνατότητα να σώσει ενδιαφέροντα αποτελέσματα, μαζί με τα σχόλια του χρήστη. Ο προσωπικός χώρος που παρέχει στατιστικά στοιχεία χρήσης σχετικά με τις πιο πρόσφατες έρευνες, δίνοντάς τους έτσι τη δυνατότητα για την παρακολούθηση των τελευταίων πορισμάτων τους. Σημειώνεται ότι οι ερευνητές μπορούν να χρησιμοποιούν οποιαδήποτε λειτουργία του διακομιστή ανεξάρτητα από την προσωπικό χαρακτηριστικό χώρο του χρήστη. Τέλος, ιδιαίτερη προσοχή έχει δοθεί στο διακομιστή για τεκμηρίωση και εισαγωγή σημειώσεων και βοηθητικές σημειώσεις σε σημαντικούς τομείς.

4. Wiki λογισμικά

4.1. Wiki και πλατφόρμες wiki

4.1.1. Ορισμοί wiki

Η έκφραση «wiki wiki» στην τοπική διάλεκτο της Χαβάης σημαίνει «πολύ γρήγορος». Η πρώτη πλατφόρμα wiki ονομάστηκε από το δημιουργό της «WikiWikiWeb» δηλαδή « πολύ γρήγορος ιστός». Ένα wiki είναι ένα εργαλείο για την προαγωγή της συνεργατικότητας μεταξύ των ανθρώπων, του διαμοιρασμού της πληροφορίας και επιτυχημένης διαχείρισης της γνώσης. Ένα wiki είναι ένας ιστότοπος που επιτρέπει στον οποιοδήποτε την εύκολη δημιουργία και αλλαγή αλληλένδετων μεταξύ τους ιστοσελίδων, με τη χρήση ενός 26 φυλλομετρητή ιστού (web browser). Μία πλατφόρμα wiki είναι ένα λογισμικό που υλοποιεί των παραπάνω ιστότοπο.

Τα wiki αποτελούν ιστοχώρους οι οποίοι είναι δημιούργημα πολλών, και όχι ενός συντάκτη. Αυτό προκύπτει από το γεγονός ότι πολλοί χρήστες έχουν την δυνατότητα να προσθέσουν πληροφορίες σε ήδη υπάρχοντα άρθρα και να επανεκδώσουν τα άρθρα αυτά στον ιστό. Ο τρόπος σύνταξης των σελίδων είναι τέτοιος ώστε οποιοσδήποτε χρήστης, ακόμα και κάποιος που δεν έχει πλήρη εξοικείωση με το διαδίκτυο, να μπορεί να προσθέσει τη δική του εγγραφή και να συνεισφέρει έτσι στον εμπλουτισμό της γνώσης που διατίθεται στον παγκόσμιο ιστό.

Τα βασικά χαρακτηριστικά ενός wiki είναι η δυνατότητα δημιουργίας και τροποποίησης μια σελίδας (EDIT), ο απλοποιημένος τρόπος σύνταξης των σελίδων, χωρίς τη χρήση σύνθετων μορφοποιήσεων π.χ. HTML, η ύπαρξη χώρου συζήτησης, είτε σχετικά με μια συγκεκριμένη σελίδα, είτε σχετικά με ολόκληρο τον ιστότοπο, η καταγραφή κάθε αλλαγής που έχει γίνει στη σελίδα (versioning/history), η δυνατότητα σύγκρισης όλων των διαφορετικών εκδόσεων της σελίδας (recent changes) και η δυνατότητα αναιρέσης των αλλαγών και επιστροφή σε προηγούμενη έκδοση της σελίδας.

4.1.2. Ιστορική αναδρομή

Το 1995, ο Ward Cunningham δημιούργησε την πρώτη πλατφόρμα wiki, το «WikiWikiWeb». Αρχικά το λογισμικό είχε σαν στόχο τη διευκόλυνση της ανταλλαγής ιδεών μεταξύ των προγραμματιστών. Πολύ σύντομα όμως η χρήση του γενικεύτηκε στην ανταλλαγής περιεχομένου και ιδεών. Δεν άργησαν να εμφανιστούν πολλές παραλλαγές wiki πλατφόρμων όπως το UseMod, το PhpWiki, το MoinMoin, το Twiki κτλ. Μέχρι τα τέλη της δεκαετίας του 1990, αναπτύχθηκε μια μεγάλη κοινότητα ανθρώπων που πίστεψαν ότι τα wiki θα μπορούσαν να χρησιμεύσουν στην υλοποίηση ιδιωτικών και δημόσιων βάσεων γνώσεων. Στις αρχές του 2001 ξεκίνησε τη λειτουργία της η «Wikipedia», μια ηλεκτρονική εγκυκλοπαίδεια που αποτελεί στις μέρες μας ίσως την πιο διαδεδομένη και παράλληλα επιτυχημένη χρήση την τεχνολογία των wikis. Η ευρεία εφαρμογή των wiki σε επιχειρήσεις αλλά και σε εκπαιδευτικά ιδρύματα, οδήγησε στην δημιουργία πολλών διαφορετικών wiki πλατφόρμων. Οι δημοφιλέστερες πλατφόρμες wiki είναι τα TWiki, MoinMoin, PmWiki, DokuWiki και MediaWiki.

4.2. Οι βασικές πλατφόρμες wiki και οι διαφορές τους

Βασικές διαφοροποιήσεις μεταξύ των πλατφόρμων wiki αποτελεί η γλώσσα προγραμματισμού στην οποία έχουν υλοποιηθεί π.χ. Java, PHP, C# κ.τ.λ., το σύστημα βάσεων δεδομένων που χρησιμοποιείται για την αποθήκευση του περιεχομένου, η άδεια χρήσης λογισμικού με την οποία παρέχετε η πλατφόρμα και η διαθεσιμότητα του κώδικα υλοποίησης, δηλαδή αν η πλατφόρμα είναι ανοιχτού κώδικα ή όχι.

4.2.1. BlueSpice

Το BlueSpice for MediaWiki είναι ένα ελεύθερο λογισμικό wiki που βασίζεται στην MediaWiki και έχει αδειοδοτηθεί από το GNU General Public License. Είναι γραμμένο σε γλώσσα προγραμματισμού PHP και χρησιμοποιεί MySQL, Apache / IIS, Tomcat (προαιρετικά). Το BlueSpice μπορεί να εγκατασταθεί πάνω από μια υπάρχουσα εγκατάσταση MediaWiki ή σαν μία αυτόνομη εγκατάσταση που περιλαμβάνει τη MediaWiki. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί σαν κεντρική wiki μιας εταιρείας, σαν πλατφόρμα τεχνικής τεκμηρίωσης (π.χ. σε IT γραφείο βοήθειας ή για τις προδιαγραφές ενός προϊόντος), σαν εγχειρίδιο ποιότητας (περιγραφές των μεθόδων και διαδικασιών), για τη διαχείριση της γνώσης (διδάγματα, απολογισμό των εμπειρογνομώνων) και για τεκμηρίωση για την έρευνα και την ανάπτυξη.

4.2.2. BrainKeeper

Το BrainKeeper Inc είναι ένα ιδιωτικό λογισμικό εταιρίας. Είναι γραμμένο σε java και χρησιμοποιεί MySQL. Η εταιρία παρέχει ένα λογισμικό σαν υπηρεσία, ένα εργαλείο συνεργασίας που στοχεύει σε εταιρείες και οργανισμούς. Το προϊόν έχει αναφερθεί ειδικά για χρήση από δικηγорικά γραφεία.

4.2.3. Central Desktop

Το Central Desktop είναι ένα λογισμικό συνεργασίας που ανήκει στην εταιρία PGI. Πρωταρχικός στόχος της εταιρείας είναι να παρέχει ένα λογισμικό σαν υπηρεσία, ένα εργαλείο συνεργασίας για τις μικρές και μεσαίες επιχειρήσεις. Είναι γραμμένο σε PHP και χρησιμοποιεί PostgreSQL. Η εταιρεία και τα προϊόντα της είναι πιο συχνά σε σύγκριση με άλλες βασισμένα σε wiki και με σχεδιοκεντρικές λύσεις. Η εταιρία εξυπηρετεί περισσότερους από 650.000 χρήστες σε όλο τον κόσμο με πελάτες, όπως Gymboree, Nielsen, το CBS, το The Ritz-Carlton, Netflix και το Πανεπιστήμιο του Χάρβαρντ. Το προϊόν προσφέρεται σε τρεις εκδόσεις, Workgroup, Επιχειρήσεων και Κοινότητας. Στις νέες δυνατότητες του περιλαμβάνονται ένα online πρόγραμμα προβολής αρχείων που υποστηρίζει περισσότερους από 200 διαφορετικούς τύπους αρχείων, βελτιωμένη πλοήγηση wiki και την ικανότητα να μετατρέπει οποιοδήποτε τύπο αρχείου σε ένα downloadable αρχείο PDF.

4.2.4. Confluence

Το Confluence είναι λογισμικό συνεργασίας μιας ομάδας. Είναι γραμμένο σε Java και χρησιμοποιείται κυρίως σε εταιρικά περιβάλλοντα, αναπτύχθηκε και διατίθεται στο εμπόριο από την Atlassian. Το Confluence πωλείται είτε ως λογισμικό ή ως φιλοξενούμενη λύση.

4.2.5. ConnectedText

Το ConnectedText είναι μια προσωπική wiki, το οποίο τρέχει σε Windows, ή στα Mac OS χρησιμοποιώντας έναν εξομοιωτή των Windows. Τα άρθρα γράφονται σε μορφή απλού κειμένου στη γλώσσα σήμανσης του CT. Όταν προβάλλονται τα άρθρα αυτά, είναι διακοσμημένα από ένα πρότυπο HTML CSS αρχείο. Η γλώσσα σήμανσης περιέχει πολλές οδηγίες για την ταξινόμηση και την σύνδεση και μπορεί επίσης να προγραμματιστεί χρησιμοποιώντας γλώσσα προγραμματισμού Python. Το ConnectedText είναι πολύ ισχυρό, αλλά δεν είναι πολύ έξυπνο και διαδραστικό. Έχει μια ξεχωριστή λειτουργία προβολής και την επεξεργασία, ώστε αυτό που φαίνεται κατά την επεξεργασία, δεν είναι αυτό που φαίνεται τελικά κατά την προβολή. Το πρόγραμμα απαιτεί εκπαίδευση για να είναι κανείς σε θέση να το χρησιμοποιήσει με ευχέρεια. Αποθηκεύει τα θέματα σε μια βάση δεδομένων SQL, διατηρώντας ένα πλήρες ιστορικό αναθεώρησης. Είναι δυνατόν να ανοίξει πολλούς χώρους εργασίας την ίδια στιγμή. Περιλαμβάνει αναζήτηση πλήρους κειμένου και ένα γράφημα πλοηγού που δείχνει το θέμα των συνδέσμων.

4.2.6. DokuWiki

Το DokuWiki είναι μια εφαρμογή wiki σύμφωνα με την άδεια GPL 2 και γραμμένο σε γλώσσα προγραμματισμού PHP. Λειτουργεί σε αρχεία απλού κειμένου και ως εκ τούτου δεν χρειάζεται μια βάση δεδομένων. Η σύνταξή του είναι παρόμοια με αυτή που χρησιμοποιείται από το MediaWiki. Το DokuWiki αποθηκεύει όλες τις εκδόσεις της κάθε σελίδας του wiki, επιτρέποντας στο χρήστη να συγκρίνει την τρέχουσα έκδοση με οποιαδήποτε παλαιότερη έκδοση. Παράλληλη επεξεργασία μιας σελίδας από πολλαπλούς χρήστες εμποδίζεται από ένα μηχανισμό κλειδώματος. Ελέγχος πρόσβασης μπορεί να ασκείται από έναν χρήστη admin, ο οποίος επιτρέπει στους χρήστες και στις ομάδες χρηστών να καθοριστούν, και μια λίστα ελέγχου πρόσβασης όπου ένας χρήστης διαχειριστής μπορεί να καθορίσει τα δικαιώματα στη σελίδα και το επίπεδο ονομάτων, δίνοντας έτσι πολύ καλύτερο έλεγχο πρόσβασης από το Mediawiki. Το DokuWiki έχει μια γενική διεπαφή plugin η οποία απλοποιεί τη διαδικασία της εγκατάστασης και τη διατήρησης των plugins. Υπάρχουν ~ 1000 plugins διαθέσιμα τα οποία μπορούν εύκολα να ενσωματωθούν και να διαχειρίζονται από ένα διαχειριστή, με τη βοήθεια του plugin διαχείρισης. Η εμφάνιση του wiki μπορεί να ορίζεται από ένα πρότυπο. Υπάρχουν διάφορα πρότυπα που παρέχονται από την ανάπτυξη της κοινότητας. Μπορεί να διαμορφωθεί σε περίπου 40 γλώσσες. Αποθηκεύει την έξοδο των παρεχόμενων αναλυμένων σελίδων wiki για να μειωθεί ο φόρτος του διακομιστή. Τέλος είναι συμβατό με HTML5.

4.2.7. EditMe

Το EditMe είναι μια φιλόξενη wiki υπηρεσία. Είναι γραμμένη σε java και χρησιμοποιεί MySQL.

4.2.8. eXo Platform

Το eXo Platform είναι μια πλατφόρμα, ανοιχτού πηγαίου κώδικα, με βάση το πρότυπο, γραμμένη σε Java και διανέμεται υπό την GNU Lesser General Public License. Το βασικό είναι πως είναι μία εφαρμογή που προσαρμόζεται από το χρήστη.

4.2.9. FlexWiki

Το FlexWiki είναι ανοιχτού πηγαίου κώδικα, με άδεια από το πλαίσιο της IBM. Αποτελεί το τρίτο έργο της Microsoft που διανέμονται μέσω SourceForge.net. Χρησιμοποιεί τεχνολογία .NET και έχει μια ολοκληρωμένη γλώσσα προγραμματισμού που ονομάζεται WikiTalk. Βασίζεται στη γλώσσα προγραμματισμού Smalltalk και έχει μια απλή αντικειμενοστραφή γλώσσα που επιτρέπει στους χρήστες να προσθέτουν δυναμικές συμπεριφορές στα θέματά τους. Το περιεχόμενο αποθηκεύεται σε αρχεία κειμένου, μειώνοντας μερικά από τα γενικά διοικητικά έξοδα της διατήρησης ενός τύπου wiki. Με την κυκλοφορία του v1.8.01653, κατέστη δυνατή η αποθήκευση του περιεχομένου FlexWiki σε μια βάση δεδομένων του SQL Server, αλλά το αρχικό σύστημα αποθήκευσης κειμένου είναι ακόμα διαθέσιμο και είναι ο προεπιλεγμένος τύπος αποθήκευσης.

4.2.10. Foswiki

Το Foswiki είναι μια wiki για επιχειρήσεις, συνήθως χρησιμοποιείται για να τρέξει μια πλατφόρμα συνεργασίας, γνωστικής βάσης ή σύστημα διαχείρισης εγγράφων. Οι χρήστες μπορούν να δημιουργήσουν εφαρμογές wiki χρησιμοποιώντας το θέμα Markup Language (TMI), και οι προγραμματιστές μπορούν να επεκτείνουν τη λειτουργικότητα του με plugins. Αποτελεί λογισμικό ανοικτού κώδικα. Ο δικτυακός τύπος Foswiki θεωρείται από κάποιους σαν μια από τις πιο δημοφιλείς Perl ιστοσελίδες.

4.2.11. GrokOla

Το GrokOla είναι ένα wiki λογισμικό συνεργασίας για τη μεταφορά γνώσης και διεπαφή χρήστη wireframing. Το GrokOla χρησιμοποιείται από ομάδες ανάπτυξης λογισμικού σε

εταιρικά περιβάλλοντα, είτε ως εγκαταστημένο λογισμικό ή σαν μια φιλοξενούμενη λύση. Είναι γραμμένο σε java και javascript.

4.2.12. Gitit

Το Gitit (ή darsit) είναι μια μορφή λογισμικού wiki που χρησιμοποιεί ένα κατακευματισμένο σύστημα ελέγχου αναθεώρησης, όπως το Git να διαχειριστεί το ιστορικό του wiki, και το σύστημα μετατροπής εγγράφων Pandoc για τη διαχείριση σήμανσης - αδειοδότησης, και μεταξύ άλλων, ο συνυπολογισμός της μαθηματικής σήμανσης LaTeX.

4.2.13. IBM Connections

Το IBM Connections είναι δικτυακή επιχειρησιακή εφαρμογή κοινωνικού λογισμικού που αναπτύχθηκε από την IBM. Ο στόχος της IBM Connections είναι να ενδυναμώσει τις εταιρείες, να είναι πιο καινοτόμες και να τους βοηθήσει να λειτουργούν πιο γρήγορα με τη χρήση δυναμικών δικτύων με συναδέλφους, συνεργάτες και πελάτες. Παρέχει εργαλεία κοινωνικής δικτύωσης για τις επιχειρήσεις που χρησιμοποιούν για να φέρουν σε επαφή ανθρώπους μέσω online εργαλείων.

4.2.14. Jive

Το Jive (παλαιότερα γνωστό ως Clearspace) είναι ένα εργαλείο Java εμπορικής συνεργασίας, που παράγεται από το Jive Software. Το Jive ενσωματώνει τις λειτουργικότητες της online κοινότητας, του microblogging, της κοινωνικής δικτύωσης, των φόρουμ συζητήσεων, των blogs, των wikis, και των IM κάτω από ένα ενοποιημένο περιβάλλον εργασίας χρήστη. Το περιεχόμενο που βρίσκεται σε οποιοδήποτε από τα συστήματα (blog, wiki, τεκμηρίωση, κ.λπ.) μπορεί να βρεθεί μέσω μιας κοινής διεπαφής αναζήτησης. Το προϊόν είναι μια server-side διαδικτυακή εφαρμογή καθαρής Java και τρέχει σε οποιαδήποτε πλατφόρμα είναι εγκατεστημένη η Java (JDK 1.5 ή νεότερη).

4.2.15. Google Sites

Το Google Sites είναι μία δομημένη Wiki- και Web σελίδα δημιουργίας εργαλείων που προσφέρονται από την Google ως μέρος του Google Apps για τη σουίτα παραγωγικότητας εργασίας. Ο στόχος του είναι ο καθένας να είναι σε θέση να δημιουργήσει μια ιστοσελίδα προσανατολισμένης ομάδας, όπου πολλά άτομα μπορούν να συνεργάζονται και να μοιράζονται αρχεία.

4.2.16. Ikiwiki

Το ikiwiki είναι μια ελεύθερη, ανοιχτού κώδικα εφαρμογή wiki. Είναι υπό τους όρους της GNU General Public License. Το ikiwiki είναι γραμμένο σε Perl, αν και εξωτερικά πρόσθετα μπορούν να εφαρμοστούν σε οποιαδήποτε γλώσσα. Σε αντίθεση με τα συμβατικά λογισμικά wiki, το ikiwiki αποθηκεύει τις σελίδες του σε πρότυπα συστήματα ελέγχου όπως το Git, το Subversion και άλλα. Το ikiwiki υποστηρίζει πολλές ελαφριές γλώσσες σήμανσης, συμπεριλαμβανομένων των Markdown, Creole, reStructuredText και Textile. Στην απλούστερη περίπτωση, μπορεί να λειτουργήσει ως ένας off-line δημιουργός στατικών ιστοσελίδων (ενδεχομένως ακόμα επιτρέποντας σε διάφορους χρήστες να υποβάλουν τις αλλαγές μέσω του VCS), αλλά μπορεί να χρησιμοποιήσει CGI και να λειτουργήσει ως μια κανονική διαδικτυακή διασυνδεδεμένη εφαρμογή wiki. Σύνδεση μέσω OpenID υποστηρίζεται. Το ikiwiki μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη διατήρηση ενός blog, και περιλαμβάνει τις κοινές λειτουργίες blogging όπως σχόλια και RSS feeds. Το πρόγραμμα εγκατάστασης περιλαμβάνει μια επιλογή για να δημιουργηθεί ένα απλό blog κατά την εγκατάσταση. Το ikiwiki περιλαμβάνεται σε διάφορες διανομές Linux, συμπεριλαμβανομένων του Debian και του Ubuntu.

4.2.17. Meta Team

Το MetaTeam είναι μια διαδικτυακή υπηρεσία για τη διαχείριση του έργου, τη συλλογική λήψη αποφάσεων και τη διαχείριση μιας ομάδας. Είναι μια online υπηρεσία, παρά ένα εργαλείο στην επιφάνεια εργασίας, και εφαρμόζεται σε γενικές γραμμές σε ομάδες, αντί να είναι ένα ειδικό εργαλείο του προγραμματιστή. Επιπλέον, είναι χαρακτηριστικό για την ανάμιξη οργανωτικών χαρακτηριστικών λήψης αποφάσεων και την ανάπτυξη μιας ομάδας με τις παραδοσιακές δυνατότητες διαχείρισης έργου. Εισάγεται, εξάγεται και συγχωνεύεται με αρχεία έργων Microsoft.

4.2.18. Midgard

Το Midgard είναι ένα πλαίσιο ανοιχτού πηγαίου κώδικα, μόνιμης αποθήκευσης. Παρέχει ένα αντικειμενοστραφές και αναπαραγωγικό περιβάλλον για τη δημιουργία εφαρμογών εντατικής χρήσης δεδομένων. Το Midgard πηγαίνει μαζί με το σύστημα Διαχείρισης Περιεχομένου (CMS) MidCOM που χτίστηκε στο πλαίσιο Midgard. Περιλαμβάνει διεπαφές συγγραφής WYSIWYG βασισμένες στο διαδίκτυο και μια διασύνδεση στοιχείων για την εγκατάσταση πρόσθετων λειτουργιών στο διαδίκτυο, συμπεριλαμβανομένων των wikis και blogs. Το Midgard είναι χτισμένο στη στοίβα GNOME βιβλιοθηκών, όπως η GLib και libgda, και έχει δυνατότητα σύνδεσης με C, Python, Objective-C και PHP.

4.2.19. MindTouch

Το MindTouch είναι μια εμπορική ηλεκτρονική πλατφόρμα, που διανέμεται μέσω cloud, για τη σύμπραξη γνώσεων και πολλαπλών καναλιών διανομή εγγράφων υποστήριξης πελατών. Ο πυρήνας του αποτελείται από back-end και πολλά front-end που παρέχουν διαφορετικές

λειτουργίες. Το back-end είναι γραμμένο σε C # και μπορεί να αναπτυχθεί στην πλατφόρμα Mono, ή στο .NET Framework. Το διαδικτυακό front-end αλληλεπιδρά με το back-end μέσω REST API. Κάθε σελίδα του wiki αυτόματα εκτίθεται σαν μία XML διαδικτυακή υπηρεσία, η οποία μπορεί να λειτουργήσει με τη χρήση τυποποιημένων HTTP verbs. Η κύρια λειτουργία του πυρήνα του είναι προσβάσιμη με ένα PHP frontend, η οποία παρέχει ένα wiki με ένα πρόγραμμα επεξεργασίας WYSIWYG.

4.2.20. MoinMoin

Το MoinMoin είναι μια μηχανή wiki υλοποιημένη σε Python, που είναι βασισμένη στη μηχανή wiki PikiPiki. Είναι κάτω από την v2 GNU General Public License άδεια. Δεκάδες οργανώσεις χρησιμοποιούν το MoinMoin για να τρέξουν δημόσιες wikis, συμπεριλαμβανομένων και έργα ελεύθερου λογισμικού Ubuntu, Apache, το Debian και το FreeBSD.

4.2.21. MojoMojo

Το MojoMojo είναι μια μηχανή wiki γραμμένη σε Perl και είναι βασισμένη στο Catalyst.

4.2.22. PBworks

Το PBworks είναι ένα εμπορικό πραγματικού χρόνου επεξεργασίας σύστημα(RTCE), που προσφέρει τα βασικά χαρακτηριστικά δωρεάν και πιο προηγμένα έναντι κάποιου τέλους. Το PBworks φιλοξενείται σε ένα σύμπλεγμα Linux και χρησιμοποιεί το δικό του ιδιόκτητο λογισμικό. Στις αρχές του 2007, πρόσθεσε WYSIWYG επεξεργασία, και το 2008, περιορισμένη επεξεργασία κώδικα HTML. Από το 2009, το wiki είναι εξ ολοκλήρου με βάση την HTML, και η πρωτότυπη wiki markup γλώσσα δεν υποστηρίζεται πλέον. Οι χρήστες μπορούν να δημιουργήσουν δωρεάν βασικούς χώρους εργασίας wiki ή να αναβαθμίσουν ένα σχέδιο πριμοδότησης και να αποκτήσουν πρόσβαση σε πρόσθετες λειτουργίες, όπως ενισχυμένα χαρακτηριστικά ασφαλείας, παραμετροποίηση μέσω CSS, και περισσότερο χώρο αποθήκευσης. Οι χώροι εργασίας μπορούν να ρυθμιστούν είτε ως δημόσιοι ή ως ιδιωτικοί. Το λογισμικό είναι διαθέσιμο μόνο στα Αγγλικά.

4.2.23. PhpWiki

Το PhpWiki είναι μια εφαρμογή λογισμικού wiki βασισμένη στο διαδίκτυο. Ξεκίνησε ως κλώνος του WikiWikiWeb και ήταν η πρώτη wiki γραμμένη σε PHP. Έχει χρησιμοποιηθεί για να επεξεργαστούν και έντυπες μορφές βιβλίων για δημοσίευση. Η πρώτη έκδοση έτρεχε κάτω από PHP 3.x και έτρεχε μόνο DBM αρχεία.

4.2.24. PmWiki

Το PmWiki είναι ένα wiki λογισμικό γραμμένο σε PHP. Είναι ελεύθερο λογισμικό, αδειοδοτημένο σύμφωνα με τους όρους της GNU General Public License. Το PmWiki χρησιμοποιεί κανονικά αρχεία για να αποθηκεύσει περιεχόμενο. Κάθε σελίδα wiki είναι αποθηκευμένη στο δικό της αρχείο στο διακομιστή. Επίσης οι σελίδες wiki περιέχονται σε ομάδες wiki. Κάθε ομάδα wiki μπορεί να έχει τις δικές της επιλογές διαμόρφωσης, plugins, ελέγχου πρόσβασης, θέμα, sidebar, γλώσσα περιεχομένου και διεπαφής. Το PmWiki διαθέτει ένα σύστημα πρότυπο που καθιστά δυνατή την αλλαγή της εμφάνισης και της αισθητικής του wiki, ή της ιστοσελίδας, με υψηλό βαθμό ευελιξίας όσον αφορά τη λειτουργικότητα και την εμφάνιση. Το PmWiki επιτρέπει στους χρήστες και διαχειριστές να καθιερώσουν προστασία με κωδικό πρόσβασης για μεμονωμένες σελίδες, ομάδες σελίδων ή ολόκληρη την ιστοσελίδα. Ακολουθεί μια σχεδιαστική φιλοσοφία με κύριο στόχο την ευκολία εγκατάστασης, συντήρησης και διατήρησης μη απαιτούμενων χαρακτηριστικών έξω από τον πυρήνα της διανομής του λογισμικού.

4.2.25. Qontext

Το Qontext είναι μια εφαρμογή γραμμένη σε java. Αποτελεί ένα κοινωνικό λογισμικό για μικρές και μεγάλες πολυεθνικές εταιρείες που επιδιώκουν να προσθέσουν κοινωνικά χαρακτηριστικά στις web-based εφαρμογές τους. Η διανομή γίνεται μέσω cloud υπηρεσίας.

4.2.26. SharePoint

Το SharePoint είναι μια πλατφόρμα διαδικτυακών εφαρμογών στη σουίτα του διακομιστή Microsoft Office. Συνδυάζει διάφορες λειτουργίες που είναι παραδοσιακά ξεχωριστές εφαρμογές: intranet, extranet, διαχείριση περιεχομένου, διαχείριση εγγράφων, προσωπικό cloud, επιχειρήσεις κοινωνικής δικτύωσης, αναζήτηση επιχειρήσεων, επιχειρηματική ευφυΐα, διαχείριση ροής εργασιών, και διαχείριση περιεχομένου ιστοσελίδων. Είναι γραμμένο σε ASP.NET και C#.

4.2.27. SlimWiki

Το SlimWiki είναι μια εμπορική εφαρμογή SaaS για την διαχείριση της γνώσης μέσα σε μικρές ομάδες. Σε αντίθεση με άλλες υπηρεσίες wiki, προσφέρει μια ενσωματωμένη εμπειρία επεξεργασίας παρόμοιων σε στυλ με μεσαίες και αξιοποιεί τη σύγχρονη τεχνολογία του προγράμματος περιήγησης για να βελτιώσει την εμπειρία της επεξεργασίας. Η πλατφόρμα προσφέρει μια πλήρη εμπειρία στην WYSIWYG επεξεργασία και την ικανότητα να σέρνεις και να αφήνεις τα μέσα ενημέρωσης και τα αρχεία απευθείας στο πρόγραμμα περιήγησης.

4.2.28. Socialtext

Το Socialtext είναι μια βασισμένη στο διαδίκτυο εφαρμογή γραμμένη σε JavaScript. Τα τεχνικά χαρακτηριστικά του Socialtext περιλαμβάνουν το LDAP και ολοκλήρωση Active Directory, Single Sign-On, REST API, και συνδέσεις σε Salesforce.com και Sharepoint.

4.2.29. Swiki

Το Swiki (τρίξιμο wiki) είναι λογισμικό wiki γραμμένο σε Squeak. Το Swiki έρχεται πακέτο με το δικό του διακομιστή. Μια εγκατάσταση swiki αποτελείται από το Virtual Machine (VM) αρχείο (συνήθως squeak.exe), ένα αρχείο εικόνας (συνήθως squeak.image), και μια σειρά από αρχεία και φακέλους με τα πρότυπα και εικονικές wikis. Μία swiki εγκατάσταση επιτρέπει ένα μεγάλο αριθμό εικονικών wikis που θα δημιουργηθούν μέσω της διεπαφής του διαχειριστή χρησιμοποιώντας ένα web browser. Το αρχείο εικόνας και των συναφών προτύπων και εικονικών wikis μπορεί να τρέξει σε οποιοδήποτε λειτουργικό σύστημα για όσο διάστημα χρησιμοποιείται η εικονική μηχανή για το συγκεκριμένο λειτουργικό σύστημα. Όλα τα πρότυπα swiki και οι σελίδες αποθηκεύονται ως αρχεία κειμένου με τη χρήση ετικετών XML. Κάθε νέο εικονικό swiki πηγαίνει στο δικό του φάκελο, και σε κάθε σελίδα στην εικονική swiki είναι ένα αριθμημένο αρχείο XML.

4.2.30. ThoughtFarmer

Το ThoughtFarmer είναι ένα εμπορικό κοινωνικού λογισμικού intranet προϊόν. Είναι ένα λογισμικό συνεργασίας των επιχειρήσεων χτισμένο σε ASP.NET. Περιλαμβάνει λειτουργίες όπως διαφορετικά προφίλ, σχολιασμό, ετικέτες, αναζήτηση, tracker πρόσφατης δραστηριότητας, ροή ειδήσεων στην αρχική σελίδα, διαχείριση εγγράφων, επεξεργασία περιεχομένου σε wiki-ύφος και αναθεώρηση του ελέγχου, ενσωμάτωση της Microsoft, οργανόγραμμα, επεξεργαστή εμπλουτισμένου κειμένου, και κατάλογο των εργαζομένων. Πιο πρόσφατες κυκλοφορίες περιλαμβάνουν μία ενιαία μίσθωσης ηλεκτρονική έκδοση, με βελτιστοποιημένο περιβάλλον για κινητά, και ιδιαίτερους οπτικούς τύπους σελίδων, όπως φωτογραφικό υλικό και φόρουμ.

4.2.31. TiddlyWiki

Το TiddlyWiki είναι μια ανοιχτού πηγαίου κώδικα εφαρμογή απλής σελίδας wiki. Ένα απλό αρχείο HTML, περιέχει CSS, JavaScript, και το περιεχόμενο. Το περιεχόμενο διαιρείται σε μια σειρά από στοιχεία ή Tiddlers. Ένας χρήστης ενθαρρύνεται να διαβάσει ένα TiddlyWiki ακολουθώντας συνδέσμους παρά με την διαδοχική κύλιση προς τα κάτω στη σελίδα. Το TiddlyWiki είναι ένα εργαλείο δωρεάν για την καταγραφή και την οργάνωση περιεχομένου από το διαδίκτυο, από τα έγγραφά σας ή από τον εγκέφαλό σας. Ένα εργαλείο για την καταγραφή σημειώσεων, bookmarking, pinning, για γραφή, διαχείριση των to-do λιστών και έργων, συνεργασίας, blogging, και δημοσιεύσεων. Στο TiddlyWiki δημιουργείς ή επισυνάπτεις περιεχόμενο σε σημειώσεις με το όνομα tiddlers, έπειτα διασυνδέεις τα tiddlers με

υπερσυνδέσεις και ετικέτες. Μπορείς έπειτα γρήγορα και εύκολα να αναζητήσεις/ανακτήσεις τις σημειώσεις μέσα από δυνατότητες όπως pills ετικέτας, sidebar καρτέλες, και το παράθυρο αναζήτησης TiddlyWiki. Μπορείς ακόμη δυναμικά να συμπεριλάβεις το περιεχόμενο ενός tiddler μέσα σε ένα άλλο για την δημιουργία άρθρων, λιστών, παρουσιάσεων και άλλα.

4.2.32. Tiki wiki CMS Groupware

Το Tiki Wiki CMS Groupware, πιο γνωστό με την ονομασία TikiWiki ή απλά Tiki, είναι ένα δωρεάν λογισμικό ανοιχτού κώδικα, σύστημα διαχείρισης περιεχομένου wiki και σουίτα εφαρμογών γραφείου γραμμένο κυρίως σε PHP, που διανέμεται με άδεια GNU Lesser General Public License (LGPL). Επιπλέον για χρησιμοποιείται για δημιουργία ιστοσελίδων και πυλών στο διαδίκτυο και ενδοδικτύων - intranets, εξωδικτύων – extranets. Το Tiki περιέχει έναν αριθμό από συνεργαζόμενες δυνατότητες επιτρέποντάς του να λειτουργεί και ως σύστημα διεχείρισης περιεχομένου Geospatial Content Management System (GeoCMS) και Groupware διαδικτυακή εφαρμογή. Το Tiki περιέχει όλα τα βασικά χαρακτηριστικά κοινά στα περισσότερα CMS, όπως η ικανότητα καταχώρησης και συντήρησης μεμονομένων λογαριασμών χρηστών μέσα σε ένα ελαστικό και πλούσιο σε προνόμια σύστημα, η ικανότητα δημιουργίας και διαχείρισης menu, RSS-τροφοδοσίας, η ικανότητα προσαρμογής περιβάλλοντος σελίδας, η ικανότητα καταγραφής συμβάντων και διαχείρισης του συνολικού συστήματος. Όλες οι ενέργειες διαχείρισης επιτυγχάνονται μέσα από διεπαφή μέσω λογισμικού περιήγησης. Το Tiki ολοκληρώνει ένα “όλα-σε-ένα” σχεδιασμό, αντίθετα με το μοντέλο επεκτάσεων-πυρήνα που ακολουθείται από άλλα CMS. Αυτό επιτρέπει μελλοντικές αλλαγές/βελτιώσεις (καθώς όλες οι δυνατότητες διατίθενται μαζί), αλλά έχει το μειονέκτημα της αρκετά μεγάλης βάσης κώδικα (πάνω από 1,000,000 γραμμές). Το Tiki μπορεί να τρέξει σε όλες τις υπολογιστικές πλατφόρμες που υποστηρίζουν ταυτόχρονα διαδικτυακό διακομιστή ικανό να τρέξει PHP 5 (συμπεριλαμβανομένου του Apache HTTP διακομιστή, IIS, Lighttpd, Hiawatha, Cherokee και nginx) και μία MySQL βάση δεδομένων για την αποθήκευση περιεχομένου και ρυθμίσεων.

4.2.33. Trac

Το Trac είναι ένα σύστημα, ανοιχτού κώδικα, διαχείρισης διαδικτυακών project και ανεύρεσης σφαλμάτων. Το πρόγραμμα είναι εμπνευσμένο από το CVSTrac, και είχε αρχικά ονομασθεί svntrac εξαιτίας της ικανότητάς του να συνδέεται με το Subversion. Αναπτύσσεται και συντηρείται από την Edgewall Software. Το Trac είναι γραμμένο σε γλώσσα προγραμματισμού Python. Εώς και τα μέσα του 2005, κυκλοφορούσε με άδεια χρήσης GNU (General Public License); από την έκδοση 0.9 και έπειτα κυκλοφορεί με μία παραλλαγμένη BSD άδεια χρήσης.

4.2.34. Traction TeamPage

Το Traction TeamPage είναι μία έκδοση για ομίλους επιχειρήσεων social software που αναπτύχθηκε από την Traction Software Inc της Providence Rhode Island. Το Traction TeamPage είναι μία συνεργατική πλατφόρμα υπερκειμένου φτιαγμένη για να υποστηρίζει την επικοινωνία εντός και μεταξύ ομάδων και είναι μοντελοποιημένο στο σύστημα Douglas Engelbart's On-Line (το πρώτο σύστημα περιοδικών σε υπερκείμενο) και επηρεασμένο από την δουλειά άλλων πρωτοπόρων υπερκειμένου συμπεριλαμβανομένων του συστήματος Andy van

Dam's μορφοποίησης υπερκειμένου και του Ted Nelson's Xanadu.

4.2.35. Twiki

Το TWiki είναι μία δομημένη εφαρμογή βασισμένη σε Perl που συνήθως χρησιμοποιείται για πλατφόρμες συνεργασίας, συστήματα διαχείρισης γνώσης ή εγγράφων, βάσεων γνώσης, ή ομαδικών διαδικτυακών πυλών. Οι χρήστες μπορούν να δημιουργήσουν σελίδες wiki χρησιμοποιώντας την γλώσσα σήμανσης TWiki Markup, και οι προγραμματιστές μπορούν να επεκτείνουν τις λειτουργικές ικανότητες εφαρμογών wiki με πρόσθετα plugins.

4.2.36. UseModWiki

Το UseModWiki είναι μία μηχανή wiki γραμμένη σε γλώσσα προγραμματισμού Perl. Διατίθεται με την άδεια GNU (General Public License). Οι σελίδες στο UseModWiki αποθηκεύονται σε συνηθισμένα αρχεία και όχι σε σχετιζόμενη βάση δεδομένων. Αντίστοιχο περιβάλλον διεπαφής μπορούμε να δούμε στο MediaWiki με το κλασσικό θέμα.

4.2.37. WackoWiki

Το WackoWiki είναι μία ελαφριά, επεκτάσιμη, πολυγλωσσική μηχανή wiki βασισμένη στο WakkaWiki. Το λογισμικό είναι γραμμένο σε PHP και χρησιμοποιεί MySQL για την αποθήκευση σελίδων. Το WackoWiki έχει έναν προηγμένο επεξεργαστή (editor) με υποστήριξη για πολλές γλώσσες, εύκολη εγκατάσταση, πολλές επεκτάσεις τοπικοποίησης (localization), ειδοποιήσεις αλληλογραφίας σε αλλαγές/σχόλια, αρκετά ενδιάμεσα επίπεδα αποθήκευσης (cache), υποστήριξη σε θέματα εμφάνισης/σχεδιασμού (skins), συμβατό με XHTML, δικαιώματα σελίδας (ACLs) και σχόλια σελίδων. Το WackoWiki διαθέτει άδεια BSD. Προς το παρόν υποστηρίζει τις περισσότερες ευρωπαϊκές γλώσσες.

Το WackoWiki επιτρέπει την χρήση δυνατοτήτων HTML σε όλη τους την έκταση, και χρησιμοποιεί το SafeHTML για να εντοπίσει δυνητικά επικίνδυνο περιεχόμενο (JavaScript, κτλ.) το οποίο μπορεί να προκαλέσει τρωτά σημεία μεταξύ σελίδων. Οι δημιουργοί του WackoWiki επίσης δημιούργησαν το WikiEdit, έναν πολυγλωσσικό συντάκτη JavaScript το οποίο δημιουργεί σημάνσεις wiki με την χρήση συντομεύσεων πληκτρολογίου και κουμπιών της μπάρας εργαλείων. Το WikiEdit υποστηρίζει επιπλέον την αυτοματοποιημένη καταχώρηση/επαύξηση δομημένης λίστας. Το WackoWiki χρησιμοποιείται ευρέως στην Ρωσία ως μηχανή wiki και από πολλές εταιρείες IT σαν ένα ελαφρύ σύστημα διαχείρισης γνώσης και CMS. Μοιράζεται διάφορα εξαρτήματα, δημιουργούς λογισμικού, και έναν ανιχνευτή σφαλμάτων με την μηχανή NPJ.

4.2.38. Wiki Server

Το Wiki Server είναι μία συλλογή υπηρεσιών οι οποίες έχουν φορτωθεί με όλες τις εκδόσεις Mac OS X Server 10.5. Το Mac OS X Server περιέχει δικτυακά βασισμένα Wiki, Weblog, Calendaring και Contact υπηρεσίες. Επιπλέον, περιέχει μία εφαρμογή Cocoa με ονομασία Directory η οποία επιτρέπει την εποπτεία διευθύνσεων καθώς και μιάς ομάδας

υπηρεσιών.

4.2.39. Wikispaces

Το Wikispaces είναι μία υπηρεσία διαδικτυακής φιλοξενίας με βάση το San Francisco, California. Ανταγωνίζεται με τα PBworks, Wetpaint, Wikia και Google Sites (πρώην JotSpot). Ήταν ανάμεσα στις μεγαλύτερες χώρους φιλοξενίας wiki. Ιδιωτικά wikis με βελτιωμένες δυνατότητες για επιχειρήσεις, μη-κερδοσκοπικές πράξεις και πράξεις για διδασκαλία είναι διαθέσιμες με μία ετήσια πληρωμή. Το Wikispaces έχει δώσει επίσης παραπάνω από 100,000 προνομιακά wikis. Από το 2010 το Wikispaces συνεργάζεται με την διδακτική πλατφόρμα web 2.0 Glogster EDU.

4.2.40. Wikiwing

Το Wikiwig είναι μία ελεύθερη πλατφόρμα διαδικτυακών εφαρμογών γραμμένη σε PHP, υποστηρίζει MySQL, που διατίθεται με GPL άδεια χρήσης.

4.2.41. WikiWikiWeb

Το WikiWikiWeb είναι το πρώτο wiki που δημιουργήθηκε. Το όνομα WikiWikiWeb αρχικά χρησιμοποιήθηκε και για το λογισμικό τύπου wiki, γραμμένο σε Perl γλώσσα προγραμματισμού στην οποία ήταν γραμμένη και η σελίδα που είχε αρχικά χρησιμοποιηθεί.

4.2.42. WikkaWiki

Το WikkaWiki (συχνά συντομογραφικά ως Wikka) είναι μία ελεύθερη, ελαφριά και συμβατή με standards μηχανή wiki. Είναι γραμμένη σε PHP, χρησιμοποιεί MySQL για την αποθήκευση σελίδων. Το WikkaWiki είναι διακλάδωση του Wakka Wiki στο οποίο ένας αριθμός από καινούρια χαρακτηριστικά έχει προστεθεί. Είναι σχεδιασμένο για ταχύτητα, λεπτομερή έλεγχο πρόσβασης, επεκτασιμότητα και ασφάλεια, ενώ διατίθεται με τη άδεια χρήσης GNU (General Public License).

4.2.43. Xwiki

Το XWiki είναι μία ελεύθερη πλατφόρμα λογισμικού wiki γραμμένη σε Java με σχεδιαστική έμφαση στην επεκτασιμότητα. XWiki Enterprise, η wiki έκδοση για επιχειρήσεις, ενσωματώνει την δυνατότητα επεξεργασίας WYSIWYG, εισαγωγή/εξαγωγή εγγράφων βασισμένων στο πρότυπο OpenDocument, σημασιολογικές σημάνσεις και ετικετοποίηση, αλλά και προηγμένη διαχείριση άδειων χρήσης. Ως εφαρμογή wiki, το XWiki επιτρέπει, για την αποθήκευση δομημένων δεδομένων, την εκτέλεση script στην πλευρά του διακομιστή εντός της διεπαφής wiki. Γλώσσες scripting συμπεριλαμβανομένων των Velocity, Groovy, Python, Ruby και PHP μπορούν να γραφούν απευθείας μέσα σε σελίδες wiki με την χρήση wiki μακροεντολών. Δομές δεδομένων που δημιουργήθηκαν από τον χρήστη μπορούν να οριστούν σε wiki έγγραφα και οντότητες των δομών αυτών μπορούν να επισυναπτούν σε wiki έγγραφα,

να αποθηκευθούν σε βάση δεδομένων (δυνατότητα query με την χρήση είτε Hibernate ή αντίστοιχα της γλώσσας του ίδιου του Xwiki). Η επέκταση XWiki.org για wiki, είναι η έδρα των XWiki επεκτάσεων που ποικίλουν από code snippets, τα οποία μπορούν να μπουν εμβόλιμα σε wiki σελίδες έως κεντρικά εργαλεία προς φόρτωση. Πολλές από τις δυνατότητες του XWiki Enterprise παρέχονται από επεκτάσεις που το συνοδεύουν. Το κείμενο wiki παρέχεται με την χρήση της μηχανής XWiki Rendering η οποία επεκτείνει το WikiModel και τα συστήματα Doxia, επιτρέποντας του να αναλύει τις συντάξεις Confluence, JSPWiki, Creole, MediaWiki και TWiki καθώς και την σύνταξη του ίδιου του Xwiki.

4.2.44. Zwiki

Το Zwiki είναι μία μηχανή wiki γραμμένη σε Python που βασίζεται στην διαδικτυακή εφαρμογή διακομιστή Zope. Είναι ελεύθερο λογισμικό που διατίθεται κάτω από την άδεια GNU (General Public License). Το Zwiki υποστηρίζει έναν αριθμό από wiki στυλ σήμανσης πέρα από τα συνηθισμένα όπως: MoinMoin, Structured text, reStructuredText, αλλά επιτρέπει επίσης την επεξεργασία σελίδων σε LaTeX ή wysiwyg HTML. Το Zwiki μπορεί επίσης να συνυπάρξει με το σύστημα διαχείρισης περιεχομένου Plone. Το Zwiki επιπλέον προσφέρει ολοκληρωμένο περιβάλλον ηλεκτρονικής αλληλογραφίας, ολοκληρωμένο ανιχνευτή προβλημάτων, υποστήριξη διεθνοποίησης, ακριβή έλεγχο πρόσβασης (με την χρήση Zope Application Server's ACL), αλλά και πολλές ακόμη προαιρετικές δυνατότητες όπως fuzzy urls, αυτόματη ιεράρχηση σελίδων, χρήση εξωτερικών μορφοποιητών, ενσωματωμένα DTML scripts και RSS feeds για αλλαγμένες ή καινούριες σελίδες.

4.3. MediaWiki

Για τη παρουσίαση και τεκμηρίωση του αλγορίθμου DIANAmicroT επιλέχθηκε ο σχεδιασμός και η ανάπτυξη ιστοσελίδας τύπου wiki, βασισμένης στο MediaWiki. Από τους βασικούς λόγους που έγινε αυτή η επιλογή είναι πως το MediaWiki είναι μία δωρεάν και ανοιχτού πηγαίου κώδικα εφαρμογή wiki. Είναι γραμμένο σε PHP, επομένως στην ίδια γλώσσα προγραμματισμού στην οποία είναι στημένο και το site όπου θα συνδεθεί, και χρησιμοποιεί μια βάση δεδομένων backend. Η πρώτη έκδοση του λογισμικού αναπτύχθηκε για να εξυπηρετήσει τις ανάγκες της εγκυκλοπαίδειας Wikipedia το 2002. Το λογισμικό του έχει βελτιστοποιηθεί για να μπορεί να χειριστεί αποτελεσματικά μεγάλα έργα, τα οποία μπορεί να έχουν terabytes περιεχομένου και εκατοντάδες χιλιάδες επισκέψεις ανά δευτερόλεπτο. Οι δυνατότητες που διαθέτει καλύπτουν πλήρως το σύνολο των βασικών λειτουργιών μιας μοντέρνας μηχανής αναζήτησης περιεχομένου, για το λόγο αυτό δεν απαιτεί επιπλέον πρόσθετα προγράμματα για τις παραπάνω λειτουργίες. Ωστόσο, το λογισμικό έχει πάνω από 800 ρυθμίσεις και πάνω από 2.000 επεκτάσεις διαθέσιμες για να καταστεί δυνατό να προστίθενται ή να αλλάζουν διάφορα χαρακτηριστικά. Είναι αρκετά εύχρηστη σαν εφαρμογή και είναι διακριτά δομημένη, γεγονός που την καθιστά εύκολα παραμετροποιήσιμη και εύπλαστη ακόμη και από μη εξειδικευμένους δημιουργούς. Ακόμη, διαθέτει ένα δομημένο και λεπτομερή τομέα διαδικτυακής βοήθειας(<https://www.mediawiki.org/wiki/Help:Contents>,<https://www.mediawiki.org/wiki/Manual:FAQ>) και μια ενεργή και διαδραστική κοινότητα από ενεργούς web-developers (<https://www.mediawiki.org/wiki/Communication>).

4.3.1. Vector skin

Το MediaWiki αρκετές επιλογές όσον αφορά το στυλ εμφάνισης (skin) της wiki στη βασική του έκδοση τα Cologne Blue, Modern, MonoBook και Vector. Επίσης διαθέτει μια τεράστια συλλογή από πρόσθετα στυλ εμφάνισης που μπορούν να εγκατασταθούν, όπως τα GoMediaWiki skin, FratMan, Karin και πολλά άλλα. Για την συγκεκριμένη wiki επιλέχθηκε το Vector skin.

Το Vector είναι ένα skin για την MediaWiki το οποίο μετατράπηκε σε προεπιλεγμένο στις 13/05/2010 (MediaWiki 1.17) ξεπερνώντας το προεπιλεγμένο skin μέχρι τότε, [Monobook](#). Η WikiMedia Foundation εφάρμοσε το Vector σε όλες τις σελίδες wiki το 2010, ενώ το είχε δημιουργήσει το 2009 σαν μέρος της δουλειάς που έγινε από την [Wikipedia Usability Initiative](#).

Το Vector παρέχει ένα πλήθος χρηστικών βελτιώσεων σε σχέση με τον προκάτοχό του. Ήταν το πρώτο skin που διαχώριζε τις πράξεις περιεχομένου ενός επιπέδου σε κατηγοριοποιημένη περιήγηση περιεχομένου.

Αρχικά η βασική λειτουργία εμπεριέχονταν στο skin του πυρήνα, ενώ κάποια από τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά του Vector διαχειρίζονταν από μία ξεχωριστή επέκταση (Extension: Vector). Η επέκταση από τότε έχει ενσωματωθεί μέσα στο ίδιο το skin.

Χαρακτηριστικά:

- Βασικά χαρακτηριστικά του Vector skin:
 - Μειωμένη ακαταστασία, κυρίως με την μείωση του αριθμού των γραμμών στην οθόνη
 - Περισσότερο διακεκριμένη τοποθέτηση του portal αναζήτησης
 - Οπτικός διαχωρισμός των υπερσυνδέσεων πράξεων περιεχομένου και του χώρου ονοματολογίας με διαχωρισμό σε καρτέλες και αντικειμένων διαδραστικών μενού.
 - Αυτόματη αύξηση και μείωση των περιθωρίων μέσα από την διεπαφή με τον χρήστη βασισμένη στο μέγεθος του φυλλομετρητή.
 - Χρήση εικονιδίου αστεριού για σημείωση διαβασμένων ή/και μη πράξεων.
- Επιπλέον χαρακτηριστικά της [επέκτασης Vector](#) (κάποια από αυτά τα χαρακτηριστικά ενσωματώθηκαν έπειτα μέσα στο ίδιο το Vector skin μέσα στον πυρήνα της MediaWiki ή αφαιρέθηκαν τελείως):
 - Απλοποιημένο portal αναζήτησης που περιέχει και "προτεινόμενη συμπλήρωση".
 - Πτυσσόμενα portals περιήγησης.
 - Ειδοποίηση όταν εγκαταλείπεται η μορφοποίηση σελίδας χωρίς την αποθήκευσή της.
 - Αυτόματη απόκρυψη καρτελών που δεν χωράνε στην οθόνη.
- Πειραματικά χαρακτηριστικά επέκτασης του Vector:
 - Απλοποίηση περιεχομένου του υποσέλιδου.
 - Ικανότητα επέκτασης του κουτιού αναζήτησης όταν γίνεται focus

- Μετακίνηση συνδέσεων μορφοποίησης τομέων ώστε να βρίσκονται ακριβώς δίπλα στην κεφαλίδα αντί δεξιά και χρήση εικονιδίου αντίστοιχα.

5. DIANAPEDIA

5.1. Εγκατάσταση του MediaWiki τοπικά στον υπολογιστή

Για την ανάπτυξη μιας σελίδας wiki είναι απαραίτητη η επιλογή του τύπου του εξυπηρετητή που θα την φιλοξενήσει, μιας γλώσσας προγραμματισμού που θα «μεταφράζει» και θα εκτελεί τις εντολές του χρήστη της σελίδας, μιας βάσης δεδομένων για τη φιλοξενία του περιεχομένου της σελίδας και ενός ειδικού προγράμματος για εφαρμογές wiki. Στα πλαίσια της εργασίας αυτής Στα πλαίσια της εργασίας αυτής επιλέχθηκε ο Apache server, η γλώσσα προγραμματισμού php και η βάση δεδομένων MySQL. Η εγκατάσταση και η ρύθμιση όλων των παραπάνω υποστηρικτικών τεχνολογιών διευκολύνθηκε με τη χρήση του πακέτου WAMP. Για το σχεδιασμό και την υποστήριξη της ιστοσελίδας wiki επιλέχθηκε το πρόγραμμα MediaWiki το οποίο είναι και το πιο διαδεδομένο σε αντίστοιχες εφαρμογές. Όλα τα παραπάνω προγράμματα και εφαρμογές είναι ανοιχτού κώδικα και ελεύθερης χρήσης.

5.1.1. Εγκατάσταση του Wamp server

Το WAMP είναι μια συνολική/ταυτόχρονη εγκατάσταση PHP / MySQL / Apache για τα Windows. Αρχικά πρέπει να γίνει download του WAMP από την σελίδα <http://www.wampserver.com/en/>. Η εγκατάσταση του WAMP πραγματοποιήθηκε στο φάκελο C:\wamp\ (αν πρέπει να εγκατασταθεί κάπου αλλού, πρέπει ο φάκελος που θα επιλεγεί να μην έχει κενά ή ειδικούς χαρακτήρες στο όνομά του). Έπειτα ακολούθησε ο έλεγχος της λειτουργίας του διακομιστή στη διεύθυνση <http://localhost/> στον web browser τοπικά, για ελεγχθεί εάν δουλεύει η πρώτη σελίδα του νέου web server που δημιουργήθηκε.

5.1.2. Αλλαγή του κωδικού πρόσβασης του server στην MySQL βάση δεδομένων

Ένα τείχος προστασίας τρέχει ήδη, αλλά για να είναι στην ασφαλή πλευρά, θα οριστεί ένας κωδικός πρόσβασης στις βάση δεδομένων του νέου διακομιστή που δημιουργήθηκε. Από την αρχική σελίδα της εγκατάστασης του διακομιστή WAMP (<http://localhost/>), επιλέγεται ο σύνδεσμος στα αριστερά της σελίδας κάτω από τα εργαλεία που λέγεται "phpMyAdmin 2.7.0-PL2". Από εκεί επιλέγεται ο σύνδεσμος «χρήστες». Έπειτα επιλέχθηκαν όλοι οι χρήστες, εκτός από το "root" και διαγράφηκαν. Στη συνέχεια, επιλέχθηκε το κουμπί «Επεξεργασία» δίπλα από χρήστη root, και από εκεί έγινε αλλαγή στον κωδικό πρόσβασης. Επειδή έγινε αυτό, το phpMyAdmin δεν είναι πλέον σε θέση να έχει πρόσβαση στη βάση δεδομένων του διακομιστή, γιατί δεν έχει το νέο κωδικό. Αυτό διορθώνεται από τον κώδικα της εφαρμογής. Σε έναν editor πρέπει να ανοιχθεί το αρχείο:

C:\wamp\phpmyadmin\config.inc.php και να αλλαχθεί η σειρά κώδικα

```
$cfg['Servers'][$i]['password']='';
```

Σε


```
$cfg['Servers'][$i]['password']='yourNewPassword';
```

Όπου “yourNewPassword” είναι ο κωδικός που μόλις ορίστηκε στην "phpMyAdmin 2.7.0-PL2".

5.1.3. Εγκατάσταση του MediaWiki

Αφού γίνει download του MediaWiki από τη σελίδα <https://www.mediawiki.org/wiki/Download> πρέπει να αποσυμπεστεί το πακέτο χρησιμοποιώντας κάποιο βοηθητικό πρόγραμμα. Αφού έγινε αυτό, έπειτα μετονομάστηκε ο φάκελος σε “DIANAPEDIA” που είναι και το όνομα της σελίδας wiki που θα δημιουργηθεί, και μεταφέρθηκε όλος ο φάκελος στην τοποθεσία c:\wamp\www\mywikipedia\.

5.2. Διαμόρφωση της DIANAPEDIA

Η νέα εγκατάσταση του MediaWiki είναι προσβάσιμη τοπικά στη διεύθυνση <http://localhost/dianapedia>. Με ένα κλικ στο κουμπί «set up wiki!» θα εκινήσει η διαμόρφωση της wiki. Η επόμενη οθόνη απαιτεί όλες τις επιλογές διαμόρφωσης του MediaWiki, η επιλογή ονόματος για την ιστοσελίδα και η δημιουργία ενός κωδικού πρόσβασης WikiSysOp. Στη διαμόρφωση της βάσης δεδομένων, στις ρυθμίσεις παραμέτρων, τοποθετήθηκαν ο χρήστης root και ο κωδικός πρόσβασης που επιλέχθηκαν προηγουμένως.

5.2.1. Εγκατάσταση Vector skin

- [Κατεβάστηκε](#) και εγκαταστάθηκε το skin σε μία διαδρομή του δίσκου με όνομα "Vector" εντός του φακέλου "skins/".
- Προστέθηκε το ακόλουθο κομμάτι κώδικα στο τέλος του αρχείου LocalSettings.php:

```
wfLoadSkin( 'Vector' );

$wgVectorUseSimpleSearch = true;

$wgVectorUseIconWatch = true;
```

- Το Special:Version είναι έτοιμο για περιήγηση και επεξεργασία στην τοπική μηχανή wiki ώστε να επιβεβαιωθεί ότι το skin εγκαταστάθηκε με επιτυχία.

Επειδή η έκδοση που χρησιμοποιήθηκε είναι η 1.24 MediaWiki αντί της χρήσης της πρώτης γραμμής κώδικα "wfLoadSkin('Vector');" πρέπει να χρησιμοποιηθεί η εντολή:

```
require_once "$IP/skins/Vector/Vector.php;"
```

Βασικές Επιλογές Διαμόρφωσης:

- Εμφάνιση φόρμας αναζήτησης:
 - true: χρήση εικονιδίου στο κουμπί αναζήτησης

- false: χρήση "Go & Search" κουμπιών
αντίστοιχο κομμάτι κώδικα: `$wgVectorUseSimpleSearch = true;` ή `$wgVectorUseSimpleSearch = false;`
- Παρακολούθηση ή μη ως εικονίδιο και όχι σαν υπερσύνδεσμο:
 - true: χρήση κουμπιού με εικονίδιο διαβασμένο/μη διαβασμένο
 - false: χρήση κειμένου διαβασμένο/μη διαβασμένο σε μορφή υπερσύνδεσης
 αντίστοιχο κομμάτι κώδικα: `$wgVectorUseIconWatch = true;` ή `$wgVectorUseIconWatch = false;`

Στη συνέχεια, με ένα κλικ στο κουμπί "Εγκατάσταση!" η MediaWiki χτίζει μόνη της την εφαρμογή σύμφωνα με τα χαρακτηριστικά που έχουν οριστεί. Τέλος ένα μήνυμα εμφανίστηκε στο κάτω μέρος της οθόνης που λέει, "Μετακίνηση του αρχείου config / LocalSettings.php στον αρχικό κατάλογο, στη συνέχεια, ακολουθήθηκε αυτό το link στο wiki και πραγματοποιήθηκε Αποκοπή και επικόλληση του αρχείου C:\wamp\www\mywikipedia\config\LocalSettings.php στο αρχείο C:\wamp\www\mywikipedia\LocalSettings.php.

Η νέας wiki έχει δημιουργηθεί και «τρέχει» στη διεύθυνση <http://localhost/dianapedia/>.

5.2.2. Διαμόρφωση CSS

Η CSS (*Cascading Style Sheets-Διαδοχικά Φύλλα Στυλ*) ή (αλληλουχία φύλλων στυλ) είναι μια γλώσσα υπολογιστή που ανήκει στην κατηγορία των γλωσσών φύλλων στυλ που χρησιμοποιείται για τον έλεγχο της εμφάνισης ενός εγγράφου που έχει γραφτεί με μια γλώσσα σήμανσης. Χρησιμοποιείται δηλαδή για τον έλεγχο της εμφάνισης ενός εγγράφου που γράφτηκε στις γλώσσες HTML και XHTML, δηλαδή για τον έλεγχο της εμφάνισης μιας ιστοσελίδας και γενικότερα ενός ιστοτόπου. Η CSS είναι μια γλώσσα υπολογιστή προορισμένη να αναπτύσσει στυλιστικά μια ιστοσελίδα δηλαδή να διαμορφώνει περισσότερα χαρακτηριστικά, χρώματα, στοίχιση και δίνει περισσότερες δυνατότητες σε σχέση με την html. Για μια όμορφη και καλοσχεδιασμένη ιστοσελίδα η χρήση της CSS κρίνεται ως απαραίτητη.

Στην προκειμένη περίπτωση η διαμόρφωση και η όσο το δυνατόν ολοκληρωτική αλλαγή του CSS κρίθηκε απαραίτητη. Αφενός για να αλλαχθεί η κλασική μορφή wiki που δίνει η MediaWiki κατά την εγκατάσταση και αφετέρου γιατί η wiki που δημιουργήθηκε είναι απαραίτητο να μοιάζει οπτικά με το site <http://diana.cslab.ece.ntua.gr/>, που είναι και το site στο οποίο θα συνδεθεί. Εκτός όμως από τα χρώματα του φόντου της ιστοσελίδας, της γραμματοσειράς, των πλαισίων, των διάφορων κουμπιών και τις μπάρες περιήγησης κρίθηκε απαραίτητο να αλλαχθούν και κάποια άλλα βασικά εμφανισιακά αντικείμενα του ιστοχώρου.

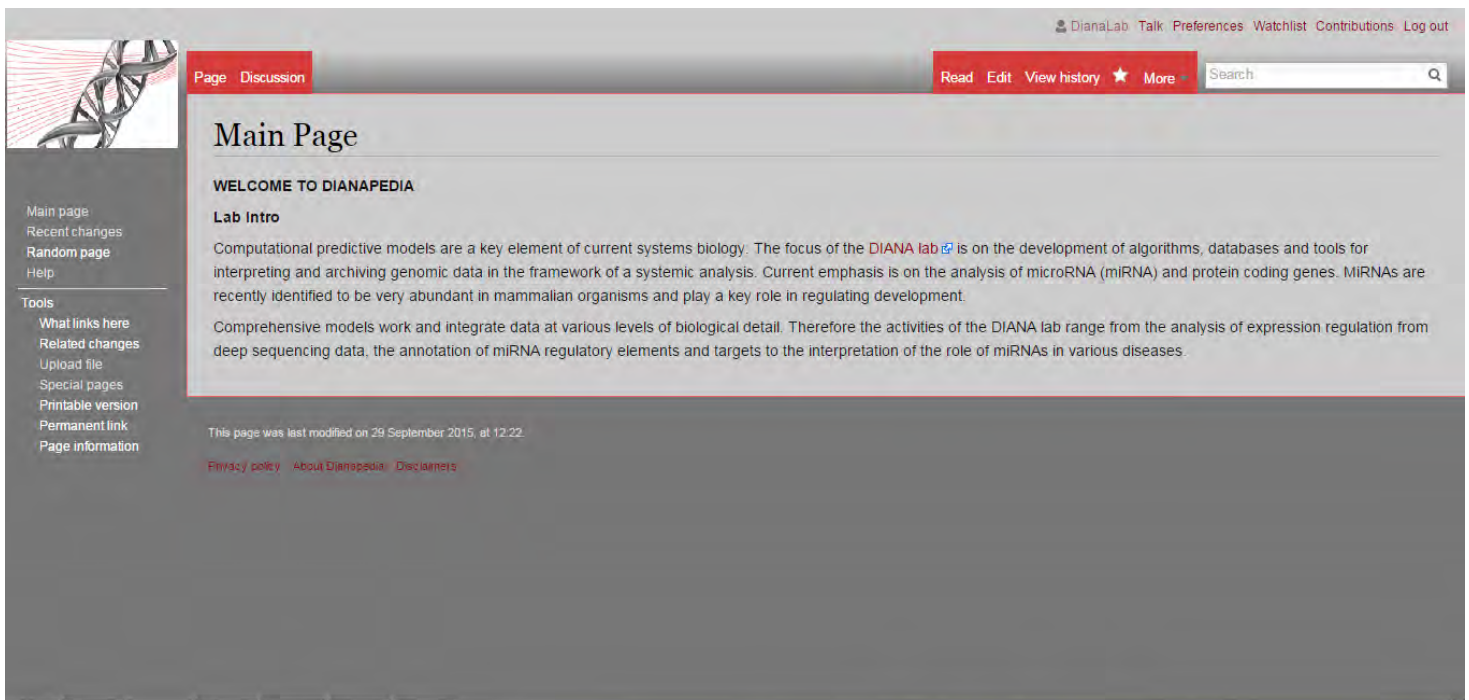
Αρχικά αντικαταστάθηκε η εικόνα λογότυπο με αυτή του site του DianaLab καθώς επίσης και το favicon με μικρές αλλαγές στον κώδικα. Στο αρχείο C:\wamp\www\dianapedia\LocalSettings.php στη γραμμή κώδικα:

```
$wgLogo="$wgResourceBasePath/skin/common/images/wiki.png";
```

Αλλάζουμε το όνομα του αρχείου που φορτώνει η εφαρμογή για εικόνα λογότυπο με το επιθυμητό (“wiki.png”). Επιπλέον για να εισάγουμε favicon στην εφαρμογή μας είναι απαραίτητο στο ίδιο αρχείο να προστεθεί η παρακάτω γραμμή κώδικα:

```
$wgFavicon="$wgScriptPath/skins/common/favicon.ico";
```

Αφού ολοκληρώθηκαν οι αλλαγές στο CSS και η Dianapedia πλέον έχει την επιθυμητή μορφή για την δημιουργία σελίδας.



Εικόνα 5.7: Dianapedia

5.3. Διαμόρφωση σελίδας DIANAmicroT 3.0

5.3.1 Δημιουργία νέας σελίδας

Για την δημιουργία μιας νέας σελίδας αρκεί να πληκτρολογήσουμε στην αναζήτηση, που βρίσκεται δεξιά στην μπάρα περιήγησης, το όνομα της σελίδας που θέλουμε να δημιουργήσουμε. Τότε η wiki μας παραπέμπει σε μία σελίδα όπου αναφέρεται, πως μια τέτοια σελίδα δεν υπάρχει και μπορεί να δημιουργηθεί επιλέγοντας το κουμπί «create». Έπειτα, εμφανίζεται μια σελίδα διαμόρφωσης της καινούργιας σελίδας που δημιουργήσαμε.



Εικόνα 5.8: Δημιουργία νέας σελίδας στην Dianapedia

Η διαδικασία της επεξεργασίας του περιεχόμενου ενός wiki έχει ως εξής:

1. Click the "**Επεξεργασία**" [page tab](#) at the top of the page.
2. Make changes to the text.
3. Click the "**Αποθήκευση σελίδας**" button.

Ο πρώτος κανόνας για την επεξεργασία wiki, είναι ότι αλλαγές και να πραγματοποιηθούν μπορούν να διορθωθούν αργότερα. Υπάρχουν όλα τα είδη συμβάσεων επεξεργασίας, κανόνων και φιλοσοφίες που διέπουν την επεξεργασία των σελίδων wiki. Όταν πρέπει να γίνει κάποια μορφοποίηση, όπως μία νέα επικεφαλίδα ή το έντονο κείμενο, τότε αρκεί να χρησιμοποιηθεί η σύνταξη wiki ή τα κουμπιά στηνμπάρα επεξεργασίας πάνω από το χώρο επεξεργασίας. Πριν αποθηκευθεί μια οποιαδήποτε αλλαγή, υπάρχει η δυνατότητα να εισαχθεί μία σύντομη σημείωση στο πλαίσιο "Σύνοψη:" περιγράφοντας τις αλλαγές που πραγματοποιήθηκαν. Η περίληψη αυτή αποθηκεύεται παράπλευρα με το κείμενό που δημιουργήθηκε και επιτρέπει στον κόσμο να παρακολουθεί τις αλλαγές στο wiki πιο αποτελεσματικά. Τέλος υπάρχει η δυνατότητα να χρησιμοποιηθεί το κουμπί "Εμφάνιση προεπισκόπησης" για να εμφανιστεί το πως θα φαίνεται η αλλαγή που πραγματοποιήθηκε, πριν αποθηκευθεί. Αυτό επίσης σχετίζεται με την παρακολούθηση των αλλαγών επειδή κάθε φορά που αποθηκεύεται κάτι, αυτό παρουσιάζεται στους άλλους ως χωριστή αλλαγή.

5.3.2 Μορφοποίηση κειμένου

Το κείμενο μορφοποιήθηκε με τη χρήση του wiki markup. Η μορφοποίηση αυτή περιλαμβάνει τη δυνατότητα για κανονικούς χαρακτήρες, όπως αστερίσκους, αποστροφους ή το σύμβολο του ίσον, χαρακτήρες που έχουν μια ειδική λειτουργία στο wiki, μερικές φορές ανάλογα με τη θέση τους.

Η σελίδα διαμορφώθηκε με κατηγορίες και επικεφαλίδες με τη χρήση χαρακτηριστικών συμβόλων κατά τη διαμόρφωση του κειμένου όπως :

=DIANAmicroT=

για την επικεφαλίδα την κεντρική και

```
==miRNA targets==
```

για τις κεφαλίδες της τεκμηρίωσης του αλγορίθμου.

5.4. Σύνδεσμοι

Προστέθηκε μια εσωτερική σύνδεση, δηλαδή μία σύνδεση εντός της wiki. Για να γίνει αθό τοποθετήθηκε το όνομα της σελίδας που θα συνδεόταν σε διπλές αγκύλες.

```
[[DIANAmicroT web server]]
```

Όταν αποθηκευθεί η σελίδα, εμφανίζεται το νέο link προς τη σελίδα που ήταν επιθυμητό να κατευθύνονται οι χρήστες κατά την πλοήγησή τους στη wiki. Αν αυτή η σελίδα υπάρχει ήδη, εμφανίζεται σε μπλε χρώμα, αν δεν, με κόκκινο χρώμα. Τα Selflinks στην τρέχουσα σελίδα δεν μετατρέπονται σε διευθύνσεις URL, αλλά εμφανίζονται με έντονους χαρακτήρες. Αν το επιθυμητό είναι να πραγματοποιηθεί μια σύνδεση με την τρέχουσα σελίδα, χρησιμοποιείται μια άγκυρα , η οποία συνδέει πάντα στην κορυφή ή ο κώδικας που ακολουθεί.

```
[[#top|τρέχουσα σελίδα]]
```

Το πρώτο γράμμα της σελίδας παραπομπής γίνεται κεφαλαίο, εκτός αν ορίζεται αλλιώς από τους διαχειριστές και οι χώροι αναπαρίστανται σαν υπογραμμισμένοι. Το να πληκτρολογήσει κανείς ένα χαρακτήρα υπογράμμισης στο σύνδεσμο, θα έχει ανάλογο αποτέλεσμα με την πληκτρολόγηση ενός χώρου, αλλά δεν συνιστάται, δεδομένου ότι ο χαρακτήρας υπογράμμισης θα αναγράφεται επίσης στο κείμενο).

Για να προστεθεί μια εξωτερική σύνδεση, αρκεί να τοποθετηθεί το URL, που ακολουθείται από το χώρο και το όνομα της σελίδας που επιθυμείται να συνδεθεί σε ενιαίες αγκύλες.

```
[http:// mediawiki.org MediaWiki]
```

Όταν αποθηκευθεί τη σελίδα, θα εμφανιστεί το νέο link προς τη σελίδα, με ένα εικονίδιο βέλους στο πλάι, που δείχνει πως αυτό που είναι γραμμένο στηρίζεται καθαρά σε έναν εξωτερικό σύνδεσμο, και, επομένως, μπορεί να οδηγήσει σε μια άλλη περιοχή.

5.4. Εισαγωγή εικόνων pop up

Οι εικόνες που είναι αποθηκευμένες σε ένα διακομιστή Wiki συνήθως αποδίδονται με τη χρήση του αρχείου: namespace prefix (αλλά η κληρονομιά Image: namespace prefix εξακολουθεί να υποστηρίζεται ως συνώνυμο) σαν προορισμό του συνδέσμου Wiki. Ο αναπληρωτής Wiki: namespace prefix μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί για αναφορά στο αρχικό περιεχόμενο αρχείων πολυμέσων (για την παροχή ή λήψη χωριστά, από οποιαδήποτε σελίδα Wiki).

Αρχικά για μπορέσει κανείς να ανεβάσει μία εικόνα στην wiki , θα πρέπει πρώτα να επιτρέπεται από την εφαρμογή να συμβεί αυτή η δράση. Για να γίνει αυτό θα πρέπει να ανοιχθεί το αρχείο C:\wamp\www\dianapedia\LocalSettings.php και εκεί να αλλάζουμε την παρακάτω εντολή από false σε true:

```
&wgEnableUploads=true;
```

Η συγκεκριμένη εντολή σαν προεπιλογή ορίζεται «false» δηλαδή δεν επιτρέπει το ανέβασμα αρχείων στο wiki. Αφού ενεργοποιηθεί αυτό, κάτω από τα εργαλεία που βρίσκονται στα αριστερά της σελίδας εμφανίζεται το κουμπί «Upload Files». Επιλέγοντάς το, μας ανοίγεται μια νέα σελίδα εισαγωγής αρχείου.

Upload file ? Help

Use the form below to upload files. To view or search previously uploaded files go to the [list of uploaded files](#), (re)uploads are also logged in the [upload log](#), deletions in the [deletion log](#).

To include a file in a page, use a link in one of the following forms:

- `[[File:File.jpg]]` to use the full version of the file
- `[[File:File.png|200px|thumb|left|alt text]]` to use a 200 pixel wide rendition in a box in the left margin with "alt text" as description
- `[[Media:File.ogg]]` for directly linking to the file without displaying the file

Source file

Source filename: Δεν επιλέχθηκε κανένα αρχείο.

Maximum file size: 3 MB

Permitted file types: png, gif, jpg, jpeg.

File description

Destination filename:

Summary:

Εικόνα 5.9: Εισαγωγή εικόνας στην Dianapedia

Αφού γίνει το upload στην επιθυμητή εικόνα εισάγεται η εικόνα στο σημείο του κειμένου που επιθυμείται, προσθέτοντας την ακόλουθη σειρά κώδικα.

```
[[File: example.png]]
```

Η εικόνα εμφανίζεται στην σελίδα με το πραγματικό της μέγεθος, με αποτέλεσμα να καταλαμβάνει μεγάλο μέρος του χώρου. Για το λόγο αυτό έγινε η επιλογή της δημιουργίας εικόνων pop up.

Μια εικόνα pop up είναι αυτή που στο κείμενο εμφανίζεται σε ένα κανονικό μέγεθος, αλλά με ένα κλικ πάνω της, γίνεται παραπομπή σε μία άλλη σελίδα όπου η ίδια εικόνα εμφανίζεται στο πραγματικό της μέγεθος και μπορεί να μελετηθεί με μεγαλύτερη λεπτομέρεια. Αυτό γίνεται χρησιμοποιώντας μία πολύ απλή εντολή (thumb) στο κομμάτι του κώδικα που εισάγεται η εικόνα.

```
[[File: example.png | thumb]]
```

Ακολούθως εισήχθησαν δύο ακόμα εντολές για την τοποθεσία της εικόνας, δεξιά ή αριστερά(right ή left αντίστοιχα) και η εντολή εισαγωγής λεζάντας στην εικόνα, μέσω της εντολής caption, όπως φαίνεται παρακάτω.

[[File: example.png |thumb| left caption]]

features and categorizes as putative MREs. The algorithm allows for base pairing with the miRNA driver sequence, including base pairing involving the 3' end of the miRNA, and the miRNA driver sequence are allowed. Briefly, the DIANA-microT 3.0 algorithm maps the miRNA driver sequence on the 3'UTR of a protein coding gene (miTG) score through the weighted sum of 7 different species to estimate MRE scores. The final miTG score is calculated in a final miTG score (figure 1c). The miTG score algorithm calculates all weights and scores for each miRNA-miTG interaction (SNR) at different miTG score cut-offs to estimate the predicted interactions.

miRNA degradation or via repression of mRNA expression. miRNA-mediated changes at the mRNA level are observed in mRNA targets [17,18]. However, recently two studies have shown that miRNA-mediated gene expression changes at both the mRNA and protein level. Using stable isotope labeling with amino acids in cell culture (pSILAC) assays to determine the genes of experimentally supported targets the authors performed a comparative assessment of several

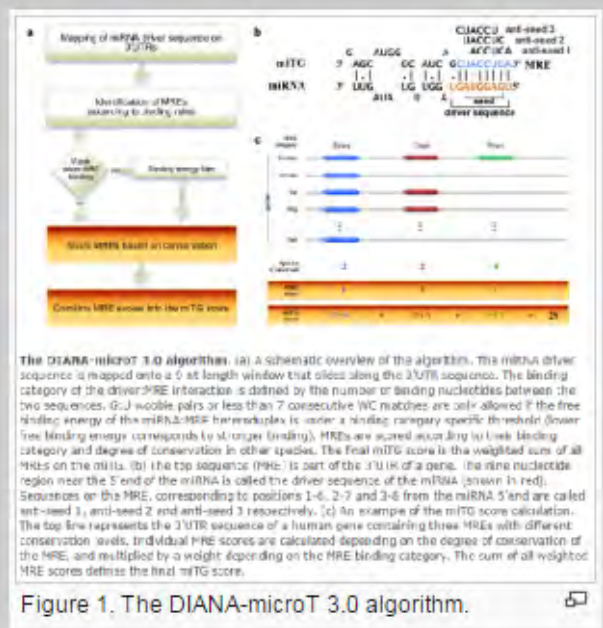


Figure 1. The DIANA-microT 3.0 algorithm.

Εικόνα 5.10: Εικόνα pop up εντός κειμένου

5.4. Δημιουργία λίστας

Υπάρχουν τριών ειδών λίστες που είναι δυνατό να δημιουργηθούν στην wiki και η κάθε μία ξεχωριστά έχει το δικό της τρόπο να χτιστεί.

- ο Οι ταξινομημένες λίστες είναι πολύ απλό να δημιουργηθούν τοποθετώντας ένα αστέρι (*) πριν από κάθε στοιχείο της λίστας. Για να δημιουργηθεί μια υπολίστα εντός της λίστας, αρκεί να τοποθετηθούν δύο αστέρια(**) πριν το στοιχείο. Η λίστα θα έχει τη μορφή που φαίνεται στην εικόνα 5.5

- Lists are easy to do:
 - start every line
- with a star
 - more stars mean
 - deeper levels

Εικόνα 5.11: Ταξινομημένη λίστα

- Οι μη **ταξινομημένες λίστες** όπου μία νέα σειρά στη λίστα αποτελεί και το τέλος αυτής. Για να δημιουργηθεί μία νέα αρκεί να προστεθεί ένα αστέρι στην αρχή των στοιχείων.
- Οι **λίστες ορισμών** όπου σε κάθε στοιχείο παρέχεται και ο ορισμός του. Για μια τέτοια λίστα αρκεί ένα ερωτηματικό(;) πριν από κάθε στοιχείο και μια άνω κάτω τελεία πριν από κάθε ορισμό(:)

Ανάλογα με ποιον ειδικό χαρακτήρα θα ξεκινήσεις την λίστα, εκτός από το είδος της λίστας, μπορείς να ορίσεις αν θα περιέχει αρίθμηση ή bullets ή και άλλα. Με βάση τους παραπάνω κανόνες, δημιουργήθηκε και μια λίστα με όλες τις αναφορές του κειμένου, όπως φαίνεται στην εικόνα 5.6.

References [edit]

1. Bartel DP: MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell* 2004, 116(2):281-297.
2. Liu J, Carmell MA, Rivas FV, Marsden CG, Thomson JM, Song JJ, Hammond SM, Joshua-Tor L, Hannon GJ: Argonaute2 is the catalytic engine of mammalian RNAi. *Science* 2004, 305(5689):1437-1441.
3. Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V: The C. elegans heterochronic gene lin-4 encodes small RNAs with antisense complementarity to lin-14. *Cell* 1993, 75(5):843-854.
4. Lagos-Quintana M, Rauhut R, Lendeckel W, Tuschl T: Identification of novel genes coding for small expressed RNAs. *Science* 2001, 294(5543):853-858.
5. Lau NC, Lim LP, Weinstein EG, Bartel DP: An abundant class of tiny RNAs with probable regulatory roles in *Caenorhabditis elegans*. *Science* 2001, 294(5543):858-862.
6. Lee RC, Ambros V: An extensive class of small RNAs in *Caenorhabditis elegans*. *Science* 2001, 294(5543):862-864.
7. Kiriakidou M, Nelson PT, Kouranov A, Fitziev P, Bouyioukos C, Mourelatos Z, Hatzigeorgiou A: A combined computational-experimental approach predicts human microRNA targets. *Genes Dev* 2004, 18(10):1165-1178.
8. Lewis BP, Shih IH, Jones-Rhoades MW, Bartel DP, Burge CB: Prediction of mammalian microRNA targets. *Cell* 2003, 115(7):787-798.
9. Papadopoulos GL, Reczko M, Simossis VA, Sethupathy P, Hatzigeorgiou AG: The database of experimentally supported targets: a functional update of TarBase. *Nucleic Acids Res* 2009, (37 Database):D155-158.
10. Lewis BP, Burge CB, Bartel DP: Conserved seed pairing, often flanked by adenosines, indicates that thousands of human genes are microRNA targets. *Cell* 2005, 120(1):15-20.

Εικόνα 5.12: Αναφορές αλγορίθμου DIANAmicroT στην Dianapedia

5.4. Δικαιώματα χρηστών

Μία εγκατάσταση της MediaWiki σαν προεπιλογή εκχωρεί κάποια δικαιώματα σε κάποιες προεπιλεγμένες ομάδες χρηστών. Πιο αναλυτικά οποιοσδήποτε χρήστης κάνει μια εγγραφή στη wiki χωρίς κανέναν απολύτως έλεγχο, έχει το δικαίωμα να διαμορφώνει της σελίδες. Είναι λογικό πως στην συγκεκριμένη εφαρμογή και επειδή ο ιστοχώρος περιεχομένου θα εμπεριέχει διάφορα επιστημονικά άρθρα, δημοσιεύσεις καθώς και ορισμούς και documentation αλγορίθμων και εφαρμογών, να είναι επιθυμητή μια μεγαλύτερη ασφάλεια στον τομέα των διορθώσεων και των δικαιωμάτων των χρηστών.

Για το λόγο αυτό στήθηκε ένα τείχος ασφαλείας ανάμεσα στους απλούς επισκέπτες και τους χρήστες του ιστοχώρου. Οποιοσδήποτε θα έχει το δικαίωμα να επισκευθεί τον ιστοχώρο, να μελετήσει όποιο άρθρο τον ενδιαφέρει και να περιηγηθεί. Για να κάνει όμως κάποιος την οποιαδήποτε διαμόρφωση η διόρθωση στα κείμενα του ιστοχώρου, προϋποθέεται η εγγραφή του ως χρήστη. Για να εγγραφεί, θα αποστέλλεται ένα αίτημα στον διαχειριστή του ιστοχώρου και αφού ο ίδιος πραγματοποιεί τον απαραίτητο έλεγχο θα αποδέχεται ή θα απορρίπτει την

αίτηση. Αυτό επιτεύχθηκε με τις παρακάτω γραμμές κώδικα στο αρχείο C:\wamp\www\dianapedia\LocalSettings.php .

```
#Απενεργοποίηση για όλους
$wgGroupPermissions['*']['edit']=false;
#Απενεργοποίηση για τους χρήστες
$wgGroupPermissions['user']['edit']=false;
#Χρήστες με επιβεβαιωμένο email ανήκουν στο νέο group
$wgAutopromote['emailconfirmed']=APCOND_EMAILCONFIRMED;
#Απόκρυψη του group από τη λίστα των χρηστών
$wgImplicitGroups[]='emailconfirmed';
#Εφαρμογή σε true στο επιθυμητό group
$wgGroupPermissions['emailconfirmed']['edit']=true;
```

6. Συζήτηση και συμπεράσματα

6.1. DIANA-microT 3.0

Τα τελευταία 5 χρόνια πάνω από 2 δωδεκάδες προγραμμάτων πρόβλεψης στόχων miRNA για γονιδιώματα θηλαστικών έχουν δημοσιευτεί [25]. Χρησιμοποιώντας δεδομένα από πειραμάτων με υψηλή ικανότητα διαβίβασης δεδομένων σε 5miRNAs [19] ως ένα ορθά θετικό σύνολο στόχων έχει δειχθεί ότι ο DIANA-microT3.0 καταφέρνει συγκρίσιμη ακρίβεια με 2 άλλα προγράμματα πρόβλεψης στόχων, TargetScanS [8] και το PicTar[20]. Επιπλέον το DIANA-microT3.0 παρέχει βαθμολογίες ακρίβειας οι οποίες συσχετίζονται με την αλλαγή πτυχώσεων στην παραγωγή πρωτεϊνών και μπορεί αν χρησιμοποιηθούν σαν ένδειξη των αναμενόμενων αλλαγών πτύχωσης στην παραγωγή πρωτεϊνών. Η απόδοση του αλγορίθμου έχει αναλυθεί εκτενέστερα χρησιμοποιώντας ένα διαφορετικό σύνολο από υποστηριζόμενους στόχους miRNA το οποίο έχει εξαχθεί από τη βάση δεδομένων πειραματικά υποστηριζόμενων στόχων[9]. Τα αποτελέσματα επίσης δείχνουν ότι τα 3 προγράμματα (ο DIANA-microT3.0, το PicTar και το TargetScan 4.2) καταφέρνουν παρόμοια επίπεδα ακρίβειας (Γράφημα 6.1). Ωστόσο όπως φαίνεται από τους πίνακες 6.1 και 6.2 υπάρχουν σημαντικές διαφορές ανάμεσα στα miTGs που προβλέφθηκαν από τον DIANA-microT3.0 και εκείνων που προβλέφθηκαν από το κάθε ένα από τα άλλα προγράμματα. Ο πίνακας 6.2 δείχνει ότι μόνο το 40% των miTGs που προβλέφθηκαν από τον DIANA-microT3.0 προβλέφθηκαν επίσης από το PicTar και μόνο το 48% από το TargetScan 4.2. Αυτό αφήνει σε κάθε περίπτωση περίπου το 50% των στόχων που προβλέφθηκαν μόνο από το DIANA-microT3.0.

Number of miTGs predicted in common by programs

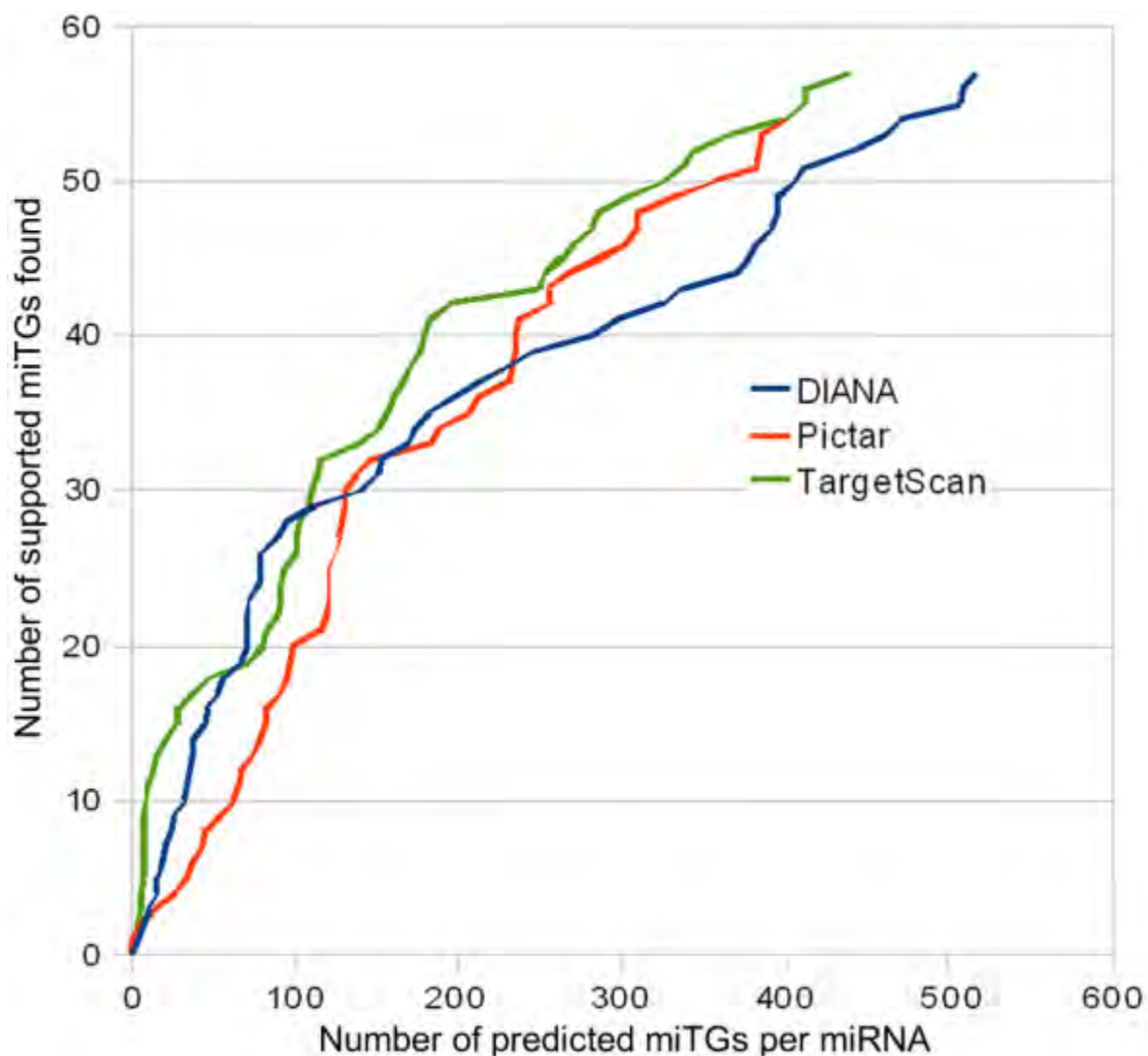
	Diana-microT	PicTar	TargetScan 4.2
Diana-microT	22391	8882	10651
PicTar		17135	12902
TargetScan 4.2			19299

Πίνακας 6.3: Αριθμός των κοινών MiTGs που προβλέφθηκαν από τα προγράμματα

Percentage of common predictions among programs

	Diana-microT	PicTar	TargetScan 4.2
Diana-microT	100%	39.67%	47.57%
PicTar	51.84%	100%	75.30%
TargetScan 4.2	55.19%	66.85%	100%

Πίνακας 6.4: Ποσοστό κοινών προβλέψεων των προγραμμάτων



Γράφημα 6.9: Σύγκριση στόχων πειραματικά στηριγμένων. Σύγκριση 3 προγραμμάτων πρόβλεψης στόχων (DIANAmicroT3.0, PicTar και TargetScan 4.2) σε πειραματικά στηριγμένο σύνολο δεδομένων. Ο μέσος αριθμός των miTGs σε miRNA που προβλέφθηκαν παρουσιάζεται στον οριζόντιο άξονα. Ο συνολικός αριθμός των σωστά προβλεφθέντων και πειραματικά αξιολογημένων στόχων φαίνεται στον κάθετο άξονα. Και τα 3 προγράμματα που δοκιμάστηκαν έχουν παρόμοια απόδοση.

Πρόσφατα η ραγδαία ανάπτυξη στον ρυθμό ανακάλυψης πρωτότυπων ακολουθιών miRNA εξαιτίας της εκτενούς χρήσης τεχνολογίας ανίχνευσης βαθύτερων ακολουθιών [14] και του γεγονότος ότι τα miRNAs έχει δειχθεί ότι επιδέχονται A έως I μορφοποίηση στο RNA [15]

υπογραμμίζει την ανάγκη ενός προγράμματος διαδικτυακά βασισμένου το οποίο θα επιτρέπει προβλέψεις miRNA στόχων βασισμένων σε miRNA αλληλουχίες ορισμένες από τον χρήστη. Το DIANAmicroT3.0 είναι ένα από τα ελάχιστα προγράμματα που προσφέρει τέτοια λειτουργία υποστηρίζοντας την επιστημονική κοινότητα με ένα εργαλείο το οποίο συνολικά μπορεί να χρησιμοποιηθεί εκτενώς για την ανάλυση διεργασιών που εξαρτώνται από miRNA. Το εργαλείο αυτό μπορεί να γίνει προσβάσιμο μέσα από τον διαδικτυακό διακομιστή DIANAmicroT [26] στην διεύθυνση : <http://www.microna.gr/microT> το οποίο περιέχει έναν βελτιωμένο αλγόριθμο πρόβλεψης ο οποίος παρέχει διάφορες λειτουργίες συνδυασμένες με μια φιλική προς τον χρήστη διεπαφή που βοηθά στην αναγνώριση των αλληλεπιδράσεων που ενδιαφέρουν.

Όπως ήδη αναφέρθηκε ο DIANAmicroT3.0 λαμβάνει υπόψη τα συντηρημένα και τα μη συντηρημένα MREs. Αυτό το χαρακτηριστικό παρέχει στον αλγόριθμο μία υψηλής σημασίας ικανότητα να προβλέπει στόχους ιογενών αλληλουχιών miRNA. Γενικά στόχοι ιογενών miRNAs δεν αναμένεται να συντηρούνται και αυτό περιορίζει την ικανότητα αλγορίθμων εξαρτούμενων από τα επίπεδα συντήρησης να τους αναγνωρίζει. Ωστόσο από τη στιγμή που ο DIANAmicroT3.0 δέχεται μη συντηρημένα MREs μπορεί επιτυχώς να ανταπεξέλθει με ιογενείς miRNA αλληλουχίες.

6.2. DIANAmicroT web server

Τα τελευταία χρόνια έχει γίνει φανερό ότι οι διαδικτυακές εφαρμογές αποτελούν ένα απαραίτητο εργαλείο για τους ερευνητές για να μπορούν να αποκρυπτογραφήσουν πολύπλοκες βιολογικές διεργασίες. Ο διακομιστής DIANA microT, έχει ενημερωθεί για την ενσωμάτωση διαφόρων πρόσθετων πόρων προκειμένου να προσφέρει διορατικότητα για θεωρητική συμμετοχή miRNA σε βιολογικές διαδικασίες, και να επιτρέψει στους ερευνητές να συμπληρώσουν τις γνώσεις τους με ήδη δημοσιευμένο επιστημονικό υλικό. Εκτελεί μια εκτεταμένη ανάλυση σχετικά με το μοτίβο των εκδόσεων της miRBase, έχει εξαχθεί το ιστορικό του κάθε miRNA, προσφέροντας ένα μοναδικό χαρακτηριστικό στην υπολογιστική ανάλυση του miRNA. Πιστεύουμε ότι η τωρινή ενημέρωση του διακομιστή παρέχει σημαντικά εργαλεία για την βιολογική ανάλυση και βελτιώνει την αλληλεπίδραση με πολύπλοκες διασυνδέσεις που αφορούν τη λειτουργικότητα του miRNA.

6.3. Dianapedia

Το Dianapedia ουσιαστικά αποτελεί την παραμετροποιημένη έκδοση μιάς διαδραστικής μηχανής wiki βασισμένης στο MediaWiki και συγκεκριμένα στο Vector skin. Η παραμετροποίηση έγινε με στόχο την εξασφάλιση της συμβατότητας και της ομοιομορφίας με την προϋπάρχουσα ιστοσελίδα του εργαστηρίου <http://diana.cslab.ece.ntua.gr>. Όπως αναφέρθηκε και λεπτομερέστερα στο αντίστοιχο κεφάλαιο της υλοποίησης, η διαδικασία βασίστηκε σε εργαλεία και εφαρμογές με ελεύθερη άδεια χρήσης, εύκολα προσβάσιμες μέσω του διαδικτύου. Πέραν της οικονομικής παραμέτρου η ελεύθερη άδεια χρήσης παρέχει ακόμη

ένα θετικό στοιχείο στην Dianapedia που δεν μπορεί να αγνοηθεί: επιτρέπει την διανομή της και την αναπαραγωγή της χωρίς νομικά προβλήματα.

Το Dianapedia είναι ένα εύπλαστο εργαλείο για διάδοση δυναμικού μίγματος πληροφορίας μέσα από ένα διαδικτυακό παράθυρο στο συνεχώς μεταβαλλόμενο και εξελισσόμενο παγκόσμιο περιβάλλον έρευνας και ανάπτυξης. Αποτελεί μία πλήρη πλατφόρμα πληροφοριακού περιεχομένου η οποία έχει αναρίθμητες δυνατότητες επέκτασης. Πολύ περισσότερο μπορεί να αποτελέσει το κοινό αρχικό template για την ανάπτυξη ενός ακόμη πιο πλούσιου, δυναμικού πληροφοριακού portal.

Η ανάπτυξή του μέσα από τους διαθέσιμους διαδικτυακούς οδηγούς και την ενεργή κοινότητα προγραμματιστών web της MediaWiki κατέστη αρκετά ομαλή. Η παραμετροποίηση του μέσα από το επίπεδο και τις δυνατότητες της css και της php επιτρέπουν την ευελιξία στην υλοποίηση και την ελεύθερη επιλογή ανάμεσα σε άπειρους συνδυασμούς μορφοποίησης.

Το χαρακτηριστικό γνώρισμα ωστόσο της πλατφόρμας Dianapedia πέραν της εύκολης πρόσβασης από οποιοδήποτε σημείο υπάρχει σύνδεση στο διαδίκτυο - καθώς είναι κοινοποιημένη σε κάθε χρήστη του διαδικτύου – είναι η δυναμική διαχείριση του περιεχομένου και της μορφής της από τον κάθε εγγεγραμμένο χρήστη. Έτσι αποτελεί το πρώτο βήμα για το εργαστήριο DianaLab προς το διαδίκτυο μη στατικού περιεχομένου, γεγονός που αναβαθμίζει ακόμη περισσότερο την λειτουργία του αντίστοιχου portal. Επιπλέον η συνεργαζόμενη βάση δεδομένων με την συμμετοχή των εγγεγραμμένων χρηστών θα αναβαθμίζει και θα εμπλουτίζει συνεχώς το περιεχόμενό της αποκτώντας ιδιαίτερη πληροφοριακή αξία στο μέλλον. Η δυνατότητα αναζήτησης όρων και δεδομένων και διαδραστική λίστα περιεχομένου στην κορυφή της πλατφόρμας εμπλουτίζει ακόμη περισσότερο την λειτουργικότητα της Dianapedia διευκολύνοντας την πρόσβαση κάθε χρήστη στο επιθυμητό κομμάτι πληροφορίας.

Βιβλιογραφία

- [1]. D.P. Bartel, MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function, *Cell*, vol. 116, Jan. 2004, pp. 281-297.
- [2]. Lee, R.C., Feinbaum, R.L., and Ambros, V. (1993) The *C. Elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *Cell* 75, 843–854.
- [3]. Reinhart, B.J., Slack, F.J., Basson, M., Bettinger, J.C., Pasquinelli, A.E., Rougvie, A.E., Horvitz, H.R., and Ruvkun, G. (2000). The 21 nucleotide *let-7* RNA regulates developmental timing in *Caenorhabditis elegans*. *Nature* 403, 901–906.
- [4]. Pasquinelli, A.E., Reinhart, B.J., Slack, F., Martindale, M.Q., Kuroda, M., Maller, B., Srinivasan, A., Fishman, M., Hayward, D., Ball, E., et al. (2000). Conservation across animal phylogeny of the sequence and temporal regulation of the 21 nucleotide *let-7* heterochronic regulatory RNA. *Nature* 408, 86–89.
- [5]. Lagos-Quintana, M., Rauhut, R., Meyer, J., Borkhardt, A., and Tuschl, T. (2003). New microRNAs from mouse and human. *RNA* 9, 175–179.
- [6]. Lee, R.C., and Ambros, V. (2001). An extensive class of small RNAs in *Caenorhabditis elegans*. *Science* 294, 862–864.
- [7]. Grad, Y., Aach, J., Hayes, G.D., Reinhart, B.J., Church, G.M., Ruvkun, G., and Kim, J. (2003). Computational and experimental identification of *C. elegans* microRNAs. *Mol. Cell* 11, 1253–1263.
- [8]. Jie Dong, Guoqian Jiang, Yan W. Asmann, Sandra Tomaszek, Jin Jen, Thomas, Kislinger, Dennis A. Wigle (2010) MicroRNA Networks in mouse lung organogenesis *Plos One*, Volume 5, Issue 5
- [9]. H. M. Heneghan, N. Miller, A. J. Lowery, K. J. Sweeney, and M. J. Kerin (2009) MicroRNAs as Novel Biomarkers for Breast Cancer *Journal of Oncology* Volume 2010,
- [10]. P. Nelson, M. Kiriakidou, A. Sharma, E. Maniatakis, and Z. Mourelatos, The microRNA world: small is mighty, *Trends in Biochemical Sciences*, vol. 28, Oct. 2003, pp. 534-540.
- [11]. Houbaviy, H.B., Murray, M.F., and Sharp, P.A. (2003). Embryonic stem cell-specific microRNAs. *Dev. Cell* 5, 351–358.
- [12]. L. He and G.J. Hannon, “MicroRNAs: small RNAs with a big role in gene regulation,” *Nature Reviews. Genetics*, vol. 5, Jul. 2004, pp. 522-531.
- [13]. Lim, L.P., Lau, N.C., Weinstein, E.G., Abdelhakim, A., Yekta, S, Rhoades, M.W., Burge, C.B., and Bartel, D.P. (2003a). The micro- RNAs of *Caenorhabditis elegans*. *Genes Dev.* 17, 991–1008.
- [14]. Oliver Hobert (2004) Common logic of transcription factor and microRNA action *TRENDS in Biochemical Sciences* Vol.29 No.9 September 2004
- [15]. Yijun Meng, Chaogang Shao and Ming Chen (2011) Toward microRNA-mediated gene regulatory networks in plants *Briefings in Bioinformatics* published January 23, 2011
- [16]. Chunsheng Li, Yi Feng, George Coukos, and Lin Zhang (2009) Therapeutic MicroRNA Strategies in Human Cancer *The AAPS Journal*, Vol. 11, No. 4, December 2009

- [17]. S. Subramanian and C.J. Steer,(2010) MicroRNAs as gatekeepers of apoptosis, *Journal of Cellular Physiology*, vol. 223, May., pp. 289-298.
- [18]. Wienholds E, Plasterk RH.(2005) MicroRNA function in animal development. *FEBS Lett.* 2005 Oct 31;579(26):5911–22.
- [19]. S. Vasudevan, Y. Tong, and J.A. Steitz,(2008) Cell-cycle control of microRNA-mediated translation regulation, *Cell Cycle (Georgetown, Tex.)*, vol. 7, Jun., pp. 1545-1549.
- [20]. Yangming Wang and Robert Blelloch (2009) Cell Cycle Regulation by MicroRNAs in Embryonic Stem Cells *Cancer Res* 2009; 69: (10). May 15, 2009
- [21]. Petrocca F, Lieberman J.(2009) Micromanagers of immune cell fate and function. *Adv Immunol.* 2009;102:227–44.
- [22]. T Wurdinger, and FF Costa (2007) Molecular therapy in the microRNA era *The Pharmacogenomics Journal* (2007) 7, 297–304
- [23]. Pfeffer S, Zavolan M, Grasser FA, Chien M, Russo JJ, Ju J, et al (2004).Identification of virus-encoded microRNAs. *Science* Apr 30;304(5671):734–6.
- [24]. Gottwein E, Mukherjee N, Sachse C, Frenzel C, Majoros WH, Chi JT, et al.(2007) A viral microRNA functions as an orthologue of cellular miR-155. *Nature* Dec 13;450(7172):1096– 9.
- [25]. Calin GA, Dumitru CD, Shimizu M, Bichi R, Zupo S, Noch E, et al. (2002) Frequent deletions and down-regulation of micro- RNA genes miR15 and miR16 at 13q14 in chronic lymphocytic leukemia. *Proc Natl Acad Sci U S A* Nov 26;99(24):15524–9.
- [26]. Calin GA, Croce CM.(2006) MicroRNA signatures in human cancers. *Nat Rev Cancer.* Nov;6(11):857–66
- [27]. Spizzo R, Nicoloso MS, Croce CM, Calin GA.(2009) SnapShot:MicroRNAs in Cancer. *Cell.* May 1;137(3):586–e1.
- [28]. Y. Zhao, J.F. Ransom, A. Li, V. Vedantham, M. von Drehle, A.N. Muth, T. Tsuchihashi, M.T. McManus, R.J. Schwartz, and D. Srivastava,(2007) Dysregulation of cardiogenesis, cardiac conduction, and cell cycle in mice lacking miRNA-1-2, *Cell*, vol. 129, Apr., pp. 303-317.
- [29]. Yang B, Lin H, Xiao J, Lu Y, Luo X, Li B, Zhang Y, Xu C, Bai Y, Wang H, Chen G, Wang Z.(2007)The muscle-specific microRNA miR-1 regulates cardiac arrhythmogenic potential by targeting GJA1 and KCNJ2 *Nat Med.* Apr;13(4):486-91. Epub 2007 Apr 1.
- [30]. Paushkin S, Gubitza AK, Massenet S, Dreyfuss G.(2002)The SMN complex, an assemblyosome of ribonucleoproteins. *Curr Opin Cell Biol.*Jun;14(3):305-12.
- [31]. Ishizuka A, Siomi MC, Siomi H.(2002) A Drosophila fragile X protein interacts with components of RNAi and ribosomal proteins. *Genes Dev.* Oct 1;16(19):2497-508.
- [32]. O.C. Maes, H.M. Chertkow, E. Wang, and H.M. Schipper, (2009)MicroRNA: Implications for Alzheimer Disease and other Human CNS Disorders, *Current Genomics*, vol. 10, May., pp. 154-168.
- [33]. Rodriguez A, Vigorito E, Clare S, Warren MV et al (2007) Requirement of bic/microRNA- 155 for normal immune function *Science.* Apr 27;316(5824):608-11.
- [34]. Petrocca F, Lieberman J.(2009) Micromanagers of immune cell fate and function. *Adv Immunol;*102:227–44.

- [35]. Taganov KD, Boldin MP, Chang KJ, Baltimore D.(2006)NF-kappaB-dependent induction of microRNA miR-146, an inhibitor targeted to signaling proteins of innate immune responses. *Proc Natl Acad Sci U S A*. Aug 15;103(33):12481-6.
- [36]. Chunsheng Li, Yi Feng, George Coukos, and Lin Zhang(2009)Therapeutic MicroRNA Strategies in Human Cancer *The AAPS Journal*, Vol. 11, No. 4, December 2009
- [37]. Stern-Ginossar N, Elefant N, Zimmermann A, Wolf DG, Saleh N, Biton M, et al.(2007) Host immune system gene targeting by a viral miRNA. *Science*. Jul 20;317(5836):376–81.
- [38]. Grey F, Meyers H, White EA, Spector DH, Nelson J. (2007)A human cytomegalovirus- encoded microRNA regulates expression of multiple viral genes involved in replication. *PLoS Pathog*. Nov;3(11):e163.
- [39]. Barth S, Pfuhl T, Mamiani A, Ehses C, Roemer K, Kremmer E, et al. (2008) Epstein-Barr virus-encoded microRNA miR-BART2 down-regulates the viral DNA polymerase BALF5. *Nucleic Acids Res*. Feb;36(2):666–75.
- [40]. Boya Xie, Qin Ding, Hongjin Han, and Di Wu. mircancer: a microrna- cancer association database constructed by text mining on literature. *Bio- informatics*, 29:638–644, 2013.
- [41]. Kiriakidou M, Nelson PT, Kouranov A, Fitziev P, Bouyioukos C, Mourelatos Z, Hatzigeorgiou A: A combined computational-experimental approach predicts human microRNA targets. *Genes Dev* 2004, **18**(10):1165-1178.
- [42]. Lewis BP, Burge CB, Bartel DP: Conserved seed pairing, often flanked by adenosines, indicates that thousands of human genes are microRNA targets. *Cell* 2005, 120(1):15-20.
- [43]. Brennecke J, Stark A, Russell RB, Cohen SM: Principles of microRNA-target recognition. *PLoS Biol* 2005, 3(3):e85.
- [44]. Kertesz M, Iovino N, Unnerstall U, Gaul U, Segal E: The role of site accessibility in microRNA target recognition. *Nat Genet* 2007, 39(10):1278-1284.
- [45]. Long D, Lee R, Williams P, Chan CY, Ambros V, Ding Y: Potent effect of target structure on microRNA function. *Nat Struct Mol Biol* 2007, 14(4):287-294.
- [46]. Grimson A, Farh KK, Johnston WK, Garrett-Engle P, Lim LP, Bartel DP: MicroRNA targeting specificity in mammals: determinants beyond seed pairing. *Mol Cell* 2007, 27(1):91-105.
- [47]. Baek D, Villen J, Shin C, Camargo FD, Gygi SP, Bartel DP: The impact of microRNAs on protein output. *Nature* 2008, 455(7209):64-71.
- [48]. Gaidatzis D, van Nimwegen E, Hausser J, Zavolan M: Inference of miRNA targets using evolutionary conservation and pathway analysis. *BMC Bioinformatics* 2007, 8:69.
- [49]. Lim LP, Lau NC, Garrett-Engle P, Grimson A, Schelter JM, Castle J, Bartel DP, Linsley PS, Johnson JM: Microarray analysis shows that some microRNAs downregulate large numbers of target mRNAs. *Nature* 2005, 433(7027):769-773.
- [50]. Sood P, Krek A, Zavolan M, Macino G, Rajewsky N: Cell-type-specific signatures of microRNAs on target mRNA expression. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006, 103(8):2746-2751.
- [51]. Selbach M, Schwanhauser B, Thierfelder N, Fang Z, Khanin R, Rajewsky N: Widespread changes in protein synthesis induced by microRNAs. *Nature* 2008, 455(7209):58-63.

- [52]. Lall S, Grun D, Krek A, Chen K, Wang YL, Dewey CN, Sood P, Colombo T, Bray N, Macmenamin P, et al.: A genome-wide map of conserved microRNA targets in *C. elegans*. *Curr Biol* 2006, 16(5):460-471.
- [53]. Rehmsmeier M, Steffen P, Hochsmann M, Giegerich R: Fast and effective prediction of microRNA/target duplexes. *Rna* 2004, 10(10):1507-1517.
- [54]. Papadopoulos GL, Reczko M, Simossis VA, Sethupathy P, Hatzigeorgiou AG: The database of experimentally supported targets: a functional update of TarBase. *Nucleic Acids Res* 2009, (37 Database):D155-158.
- [55]. Griffiths-Jones S, Saini HK, van Dongen S, Enright AJ: miRBase: tools for microRNA genomics. *Nucleic Acids Res* 2008, (36 Database):D154-158.
- [56]. Flicek P, Aken BL, Beal K, Ballester B, Caccamo M, Chen Y, Clarke L, Coates G, Cunningham F, Cutts T, et al.: Ensembl 2008. *Nucleic Acids Res* 2008, (36 Database):D707-714.
- [57]. Karolchik D, Hinrichs AS, Kent WJ: The UCSC Genome Browser. *Curr Protoc Bioinformatics* 2007, Chapter 1(Unit 1):4.
- [58]. Manolis Maragkakis, Artemis G. Hatzigeorgiou, Martin Reczko: DIANA-microT Web server upgrade supports Fly and Worm miRNA target prediction and bibliographic miRNA to disease association. *Nucleic Acids Research*, 2011, Vol. 39, Web Server issue W145–W148.
- [59]. Griffiths-Jones,S. (2010) miRBase: microRNA sequences and annotation. *Current Protocols in Bioinformatics*, Chapter 12, pp. 11–10.
- [60]. Papadopoulos,G.L., Reczko,M., Simossis,V.A., Sethupathy,P. and Hatzigeorgiou,A.G. (2009) The database of experimentally supported targets: a functional update of TarBase. *Nucleic Acids Res.*, 37, D155–D158.
- [61]. Maragkakis,M., Reczko,M., Simossis,V.A., Alexiou,P., Papadopoulos,G.L., Dalamagas,T., Giannopoulos,G., Goumas,G., Koukis,E., Kourtis,K. et al. (2009) DIANA-microT web server: elucidating microRNA functions through target prediction. *Nucleic Acids Res.*, 37, W273–W276.
- [62]. Lall,S., Grun,D., Krek,A., Chen,K., Wang,Y.L., Dewey,C.N., Sood,P., Colombo,T., Bray,N., Macmenamin,P. et al. (2006) A genome-wide map of conserved microRNA targets in *C. elegans*. *Curr. Biol.*, 16, 460–471.
- [63]. Lewis,B.P., Burge,C.B. and Bartel,D.P. (2005) Conserved seed pairing, often flanked by adenosines, indicates that thousands of human genes are microRNA targets. *Cell*, 120, 15–20.
- [64]. Hiroki,E., Akahira,J., Suzuki,F., Nagase,S., Ito,K., Suzuki,T., Sasano,H. and Yaegashi,N. (2010) Changes in microRNA expression levels correlate with clinicopathological features and prognoses in endometrial serous adenocarcinomas. *Cancer Sci.*, 101, 241–249.
- [65]. Kanehisa,M., Goto,S., Furumichi,M., Tanabe,M. and Hirakawa,M. (2010) KEGG for representation and analysis of molecular networks involving diseases and drugs. *Nucleic Acids Res.*, 38, D355–D360.
- [66]. Flicek,P., Amode,M.R., Barrell,D., Beal,K., Brent,S., Chen,Y., Clapham,P., Coates,G., Fairley,S., Fitzgerald,S. et al. (2011) Ensembl 2011. *Nucleic Acids Res.*, 39, D800–D806.
- [67]. Maragkakis,M., Alexiou,P., Papadopoulos,G.L., Reczko,M., Dalamagas,T., Giannopoulos,G., Goumas,G., Koukis,E., Kourtis,K., Simossis,V.A. et al. (2009)

- Accurate microRNA target prediction correlates with protein repression levels. *BMC Bioinformatics*, 10, 295.
- [68]. Selbach,M., Schwanhausser,B., Thierfelder,N., Fang,Z., Khanin,R. and Rajewsky,N. (2008) Widespread changes in protein synthesis induced by microRNAs. *Nature*, 455, 58–63.