

Στη διάθεση μας έχουμε 22 χρωμοσώματα, όπου κάθε χρωμόσωμα έχει ένα αρχείο .bed, .fam και .bim

● **.bim:**

Το αρχείο αυτό περιέχει 6 στήλες. Η πρώτη στήλη περιέχει τον αριθμό του χρωμοσώματος στο οποίο αναφέρεται το αρχείο. Η δεύτερη στήλη περιέχει το κώδικό του **snp**, η τρίτη στήλη περιέχει τη θέση του snp, η τέταρτη στήλη περιέχει το **base-pair**, η πέμπτη στήλη περιέχει το **Allele1** που είναι συνήθως η μειονότητα και η έκτη στήλη περιέχει το **Allele2** που είναι η πλειοψηφία. Περισσότερα μπορείτε να βρείτε στην σελίδα: <https://www.cog-genomics.org/plink2/formats#bim>

● **.fam:**

Το αρχείο αυτό περιέχει 6 στήλες. Η πρώτη στήλη έχει το **Family ID**, η δεύτερη στήλη περιέχει το **ID** του ασθενούς (στην περίπτωση μας επειδή όλοι οι ασθενείς δεν ανήκουν στη ίδια οικογένεια το **Family ID** είναι ίδιο με το **IID**). Η τρίτη στήλη το id του πατέρα και η τέταρτη στήλη το id της μητέρας. Η πέμπτη στήλη μας δίνει την πληροφορία για το φύλλο του ασθενή και η έκτη στήλη έχει πληροφορία για τον φενότυπο (στη δικιά μας περίπτωση πληροφορία για τον φενότυπο αντλούμε από άλλο αρχείο που θα δούμε παρακατω) Περισσότερα μπορείτε να βρείτε στην σελίδα <https://www.cog-genomics.org/plink2/formats#fam>

● **.bed:**

Το αρχείο **.bed** περιέχει όλη τη γενετική πληροφορία του χρωμοσώματος που είναι κωδικοποιημένη στη δεκαεξαδική μορφή. Περισσότερα μπορείτε να βρείτε στις σελίδες <https://www.cog-genomics.org/plink2/formats#bed> και <https://genome.ucsc.edu/FAQ/FAQformat#format1>

Πληροφορία για τους φενότυπους αντλούμε από το αρχείο **phenotype_euro_edit.txt** το οποίο έχει ασθενείς από την ευρώπη. Περιέχει 4980 ασθενείς από τους οποίους οι 1018 έχουν **case = 1** και οι υπόλοιποι 3962 έχουν **control = 0**. Αυτό το αρχείο έχει την εξής μορφή:

- στη πρώτη στήλη έχει το **eid** που είναι το id του ασθενή
- στη δεύτερη στήλη έχει το φύλλο του ασθενή (0 = γυναίκα, 1 = άντρας)
- στη τρίτη στήλη έχει το έτος που γεννήθηκε
- και στη τρίτη στήλη έχει το φενότυπο (0 = control, 1 = case)

Για να κάνουμε την επεξεργασία των αρχείων **.bed**, **.fam** και **.bim**, θα χρησιμοποιήσουμε το πρόγραμμα **plink**. Μπορείτε να το βρείτε εδώ: <https://www.cog-genomics.org/plink2>.

Αρχικά τρέξαμε την εντολή **plink --bfile chrX --allow-no-sex --out chrX --1 --pheno phenotype_edit.txt --assoc**

- **--bfile chrX** με αυτή την εντολή διαλέγεις ποιο χρωμόσωμα θές να επεξεργαστείς
- **--allow-no-sex** αυτή την επιλογή την βάζουμε για να μην λάβει υπόψη το φύλλο
- **--out chrX** σε ποιο αρχείο θα αποθηκευτούν τα δεδομένα της επεξεργασίας
- **--1** επειδή οι φενότυποι που έχουμε είναι κωδικοποιημένοι σε 0 και 1 βάζουμε αυτήν την παράμετρο για να την καταλάβει το plink
- **--pheno phenotype_edit.txt** το αρχείο όπου διαβάσει το φενότυπο. Προσοχή πρέπει να είναι της μορφής (**FID, IID, CASE/CONTROL**) όπου στη περίπτωση μας το **FID** είναι ίδιο με το **IID**.
- **--assoc** είναι ο τύπος του πειράματος που τρέχουμε

Το **assoc** αρχείο είναι της μορφής:

CHR	Chromosome code
SNP	Variant identifier
BP	Base-pair coordinate
A1	Allele 1 (usually minor)
F_A	Allele 1 frequency among cases
F_U	Allele 1 frequency among controls
A2	Allele 2
CHISQ	Allelic test chi-square statistic. <i>Not present with 'fisher'/'fisher-midp' modifier.</i>
P	Allelic test p-value
OR	odds(allele 1 case) / odds(allele 1 control)

Επίσης τρέξαμε την εντολή **plink --recode lgen --out chrX --keep-fam patient.txt --bfile chrX --1 --allow-no-sex --extract chrXsnpList.txt** για να πάρουμε τα **snps** του κάθε ασθενή με τα **alleles** τους για το κάθε χρωμόσωμα.

- **--bfile chrX** με αυτή την εντολή διαλέγεις ποιο χρωμόσωμα θές να επεξεργαστείς
- **--allow-no-sex** αυτή την επιλογή την βάζουμε για να μην λάβει υπόψη το φύλλο
- **--out chrX** σε ποιο αρχείο θα αποθηκευτούν τα δεδομένα της επεξεργασίας
- **--1** επειδή οι φενότυποι που έχουμε είναι κωδικοποιημένοι σε 0 και 1 βάζουμε αυτήν την παράμετρο για να την καταλάβει το plink
- **--recode lgen** είναι η παραμέτρος για να εξάγουμε το αρχείο που θα έχει τους ασθενείς με τα snps και τα alleles τους για το χρωμόσωμα X
- **--keep-fam patient.txt** με αυτήν την παράμετρο εξετάζουμε τους ασθενείς που βρίσκονται στο αρχείο **patient.txt**
- **--extract chrXsnpList.txt** με αυτήν τη παράμετρο εξετάζουμε τα snps που βρίσκονται στο αρχείο **chrXsnpList.txt**

Από αυτήν την εντολή παράγεται ένα αρχείο **.lgen** το οποίο έχει το **IID** του ασθενή το **snp** του ασθενή με τα **alleles** τους.

Στη συνέχεια κωδικοποιούμε τα snps του κάθε ασθενή από το lgen αρχείο ως εξής. Παιρνουμε το **snp** του ασθενή από το **lgen** αρχείο και κοιτά αν το **minor allele** είναι ίδιο με το **minor allele** και με το **major allele** του ίδιου **snp** που βρίσκεται στο **assoc** αρχείο που εξηγήσαμε πιο πάνω. Αν το **minor allele** του **lgen** αρχείου είναι ίδιο και με το **minor allele** και με το **major allele** του ίδιου **snp** που βρίσκεται στο **assoc** αρχείο τότε **του δίνουμε την τιμή 2, αν είναι μόνο με το ένα από τα δυο ίδια του δίνουμε την τιμή 1 και αν δεν είναι με κανένα ίδιο του δίνουμε την τιμή 0.**