

Изменение экспрессии в клубеньках гороха при симбиозе

Куратор: Полина Козюлина

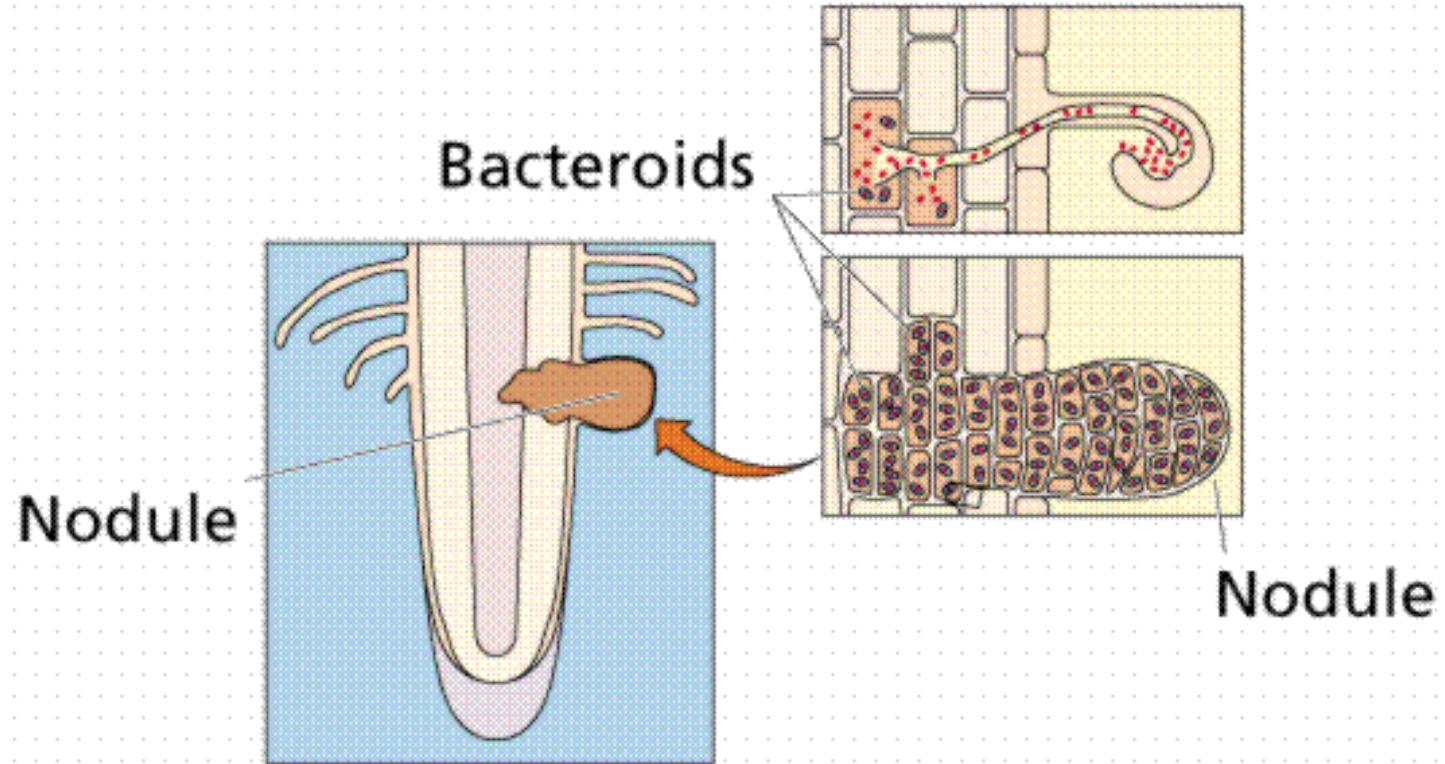
НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д. О. Отта

Исполнитель: Варвара Творогова

Горох (*Pisum sativum*) образует клубеньки



Что такое клубеньки и зачем они нужны?



Как растения узнают, кто хочет с ними взаимодействовать?

Паразитические грибы и насекомые выделяют хитоолигосахариды из 8 мономеров



co8

Полезные клубеньковые бактерии выделяют хитоолигосахариды из 5 мономеров



co5

Как эти вещества влияют на экспрессию генов в корнях?

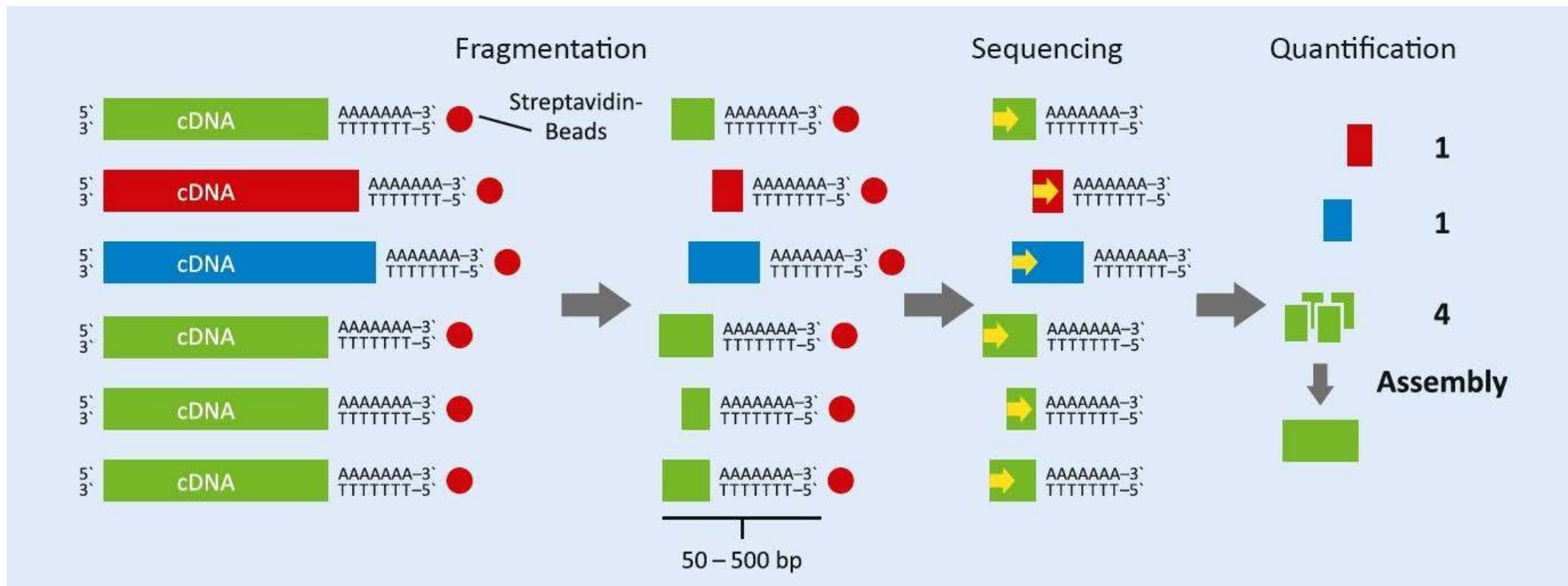
- РНК корней гороха, обработанных **co8** - 3 биологических повторности
- РНК корней гороха, обработанных **co5** - 3 биологических повторности
- РНК корней гороха, обработанных водой (**control**) - 3 биологических повторности



Наша цель - анализ дифференциальной экспрессии!

Как секвенировали РНК корней?

Технология MACE



Задачи проекта

- Найти оптимальный референсный транскриптом и выровнять на него наши риды
- Получить список дифференциально экспрессирующихся генов в пробах control, co5 и co8
- Провести Gene Enrichment Analysis

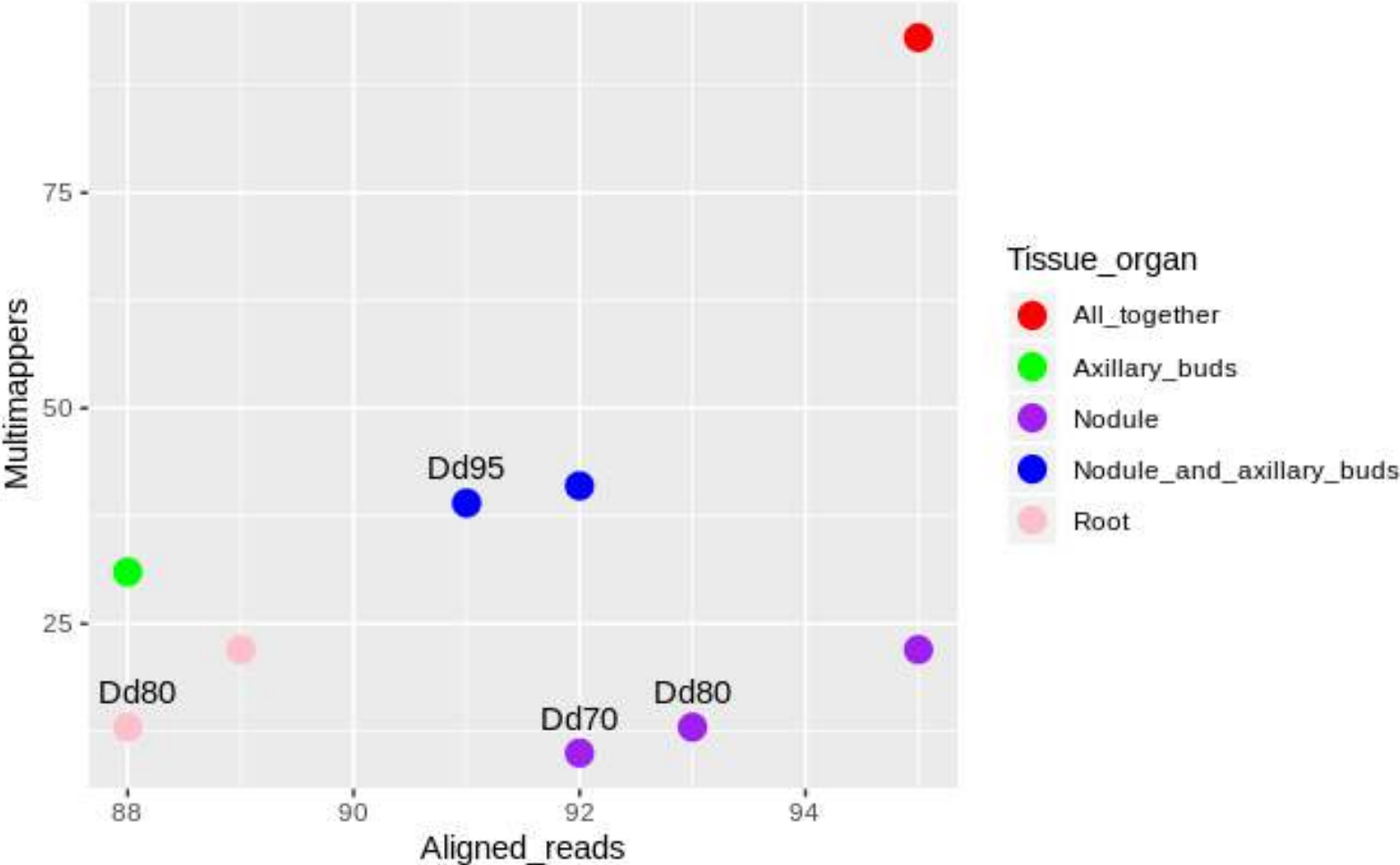
Задачи проекта

- Найти оптимальный референсный транскриптом и выровнять на него наши риды
- Получить список дифференциально экспрессирующихся генов в пробах control, со5 и со8
- Провести Gene Enrichment Analysis

На какой транскриптом выравнивать наши риды?

Статья	Количество последовательностей в транскриптом	N50	Мера центральной тенденции длины транскрипта	Транскриптом чего это был?
Franssen et al., 2011	81,449	?	454 (контиг) 88 и 208 (мода) (синглетон)	Проростки, наземная часть взрослого растения
Kaur et al., 2012	100,078	?	719 (контиг) 301-350 (синглетон)	Проростки, наземная часть взрослого растения
Kerr et al., 2017	81,774	2170	1,285	Пазушная почка
Sudheesh et al., 2015;	126,335 (Kaspa), 145,730 (Parafield)	1106 (Kaspa), 1083 (Parafield)	809 (Kaspa) 797(Parafield)	Наземные и подземные части взрослого растения, а также проросток
Zhukov et al., 2015	58,397 (клубенек) 37,287 (корень)	1282 (клубенек) 1260 (корень)	881 (клубенек) 841 (корень)	Клубеньки и корни

Выравнивание на разные имеющиеся транскриптомы, а также транскриптомы, уменьшенные или объединенные с помощью программы Dedupe

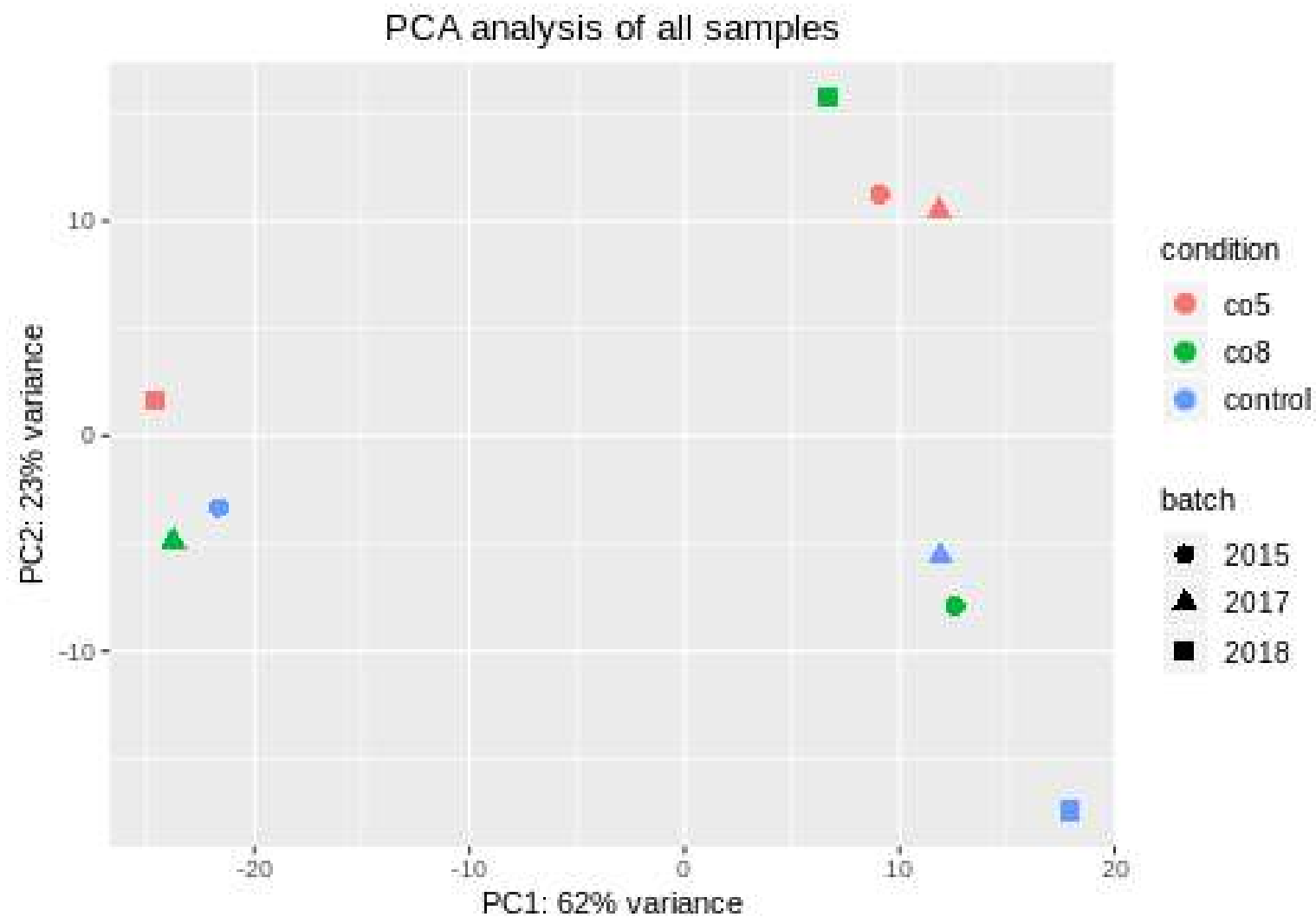


Deep Purple is the best

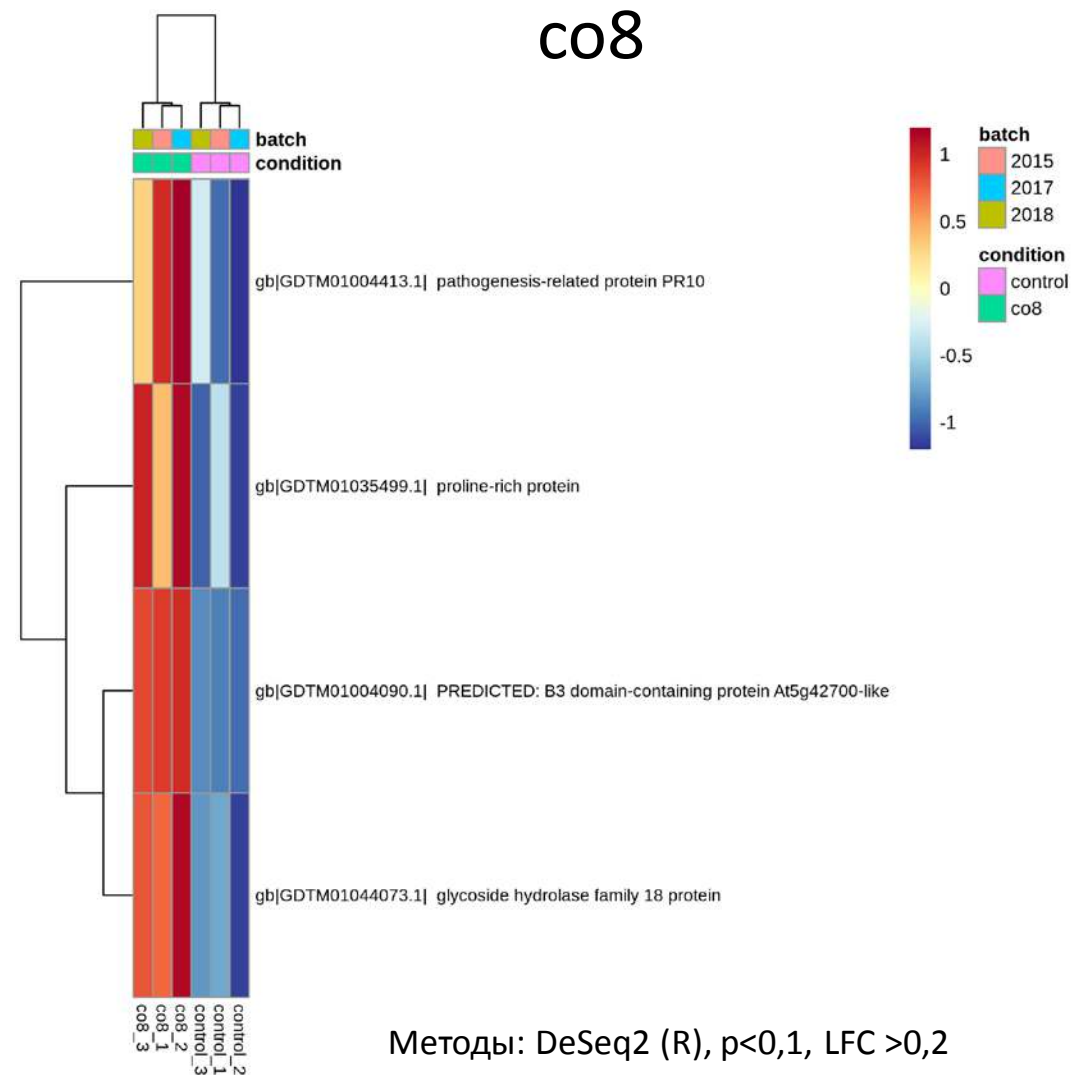
Задачи проекта

- Найти оптимальный референсный транскриптом и выровнять на него наши риды
- Получить список дифференциально экспрессирующихся генов в пробах control, co5 и co8: программа RSEM и пакет DeSeq2
- Провести Gene Enrichment Analysis

Анализ главных компонент



Гены с изменённым уровнем экспрессии в образцах со5 и со8 по сравнению с контролем



Методы: DeSeq2 (R), $p < 0,1$, LFC $> 0,2$

Задачи проекта

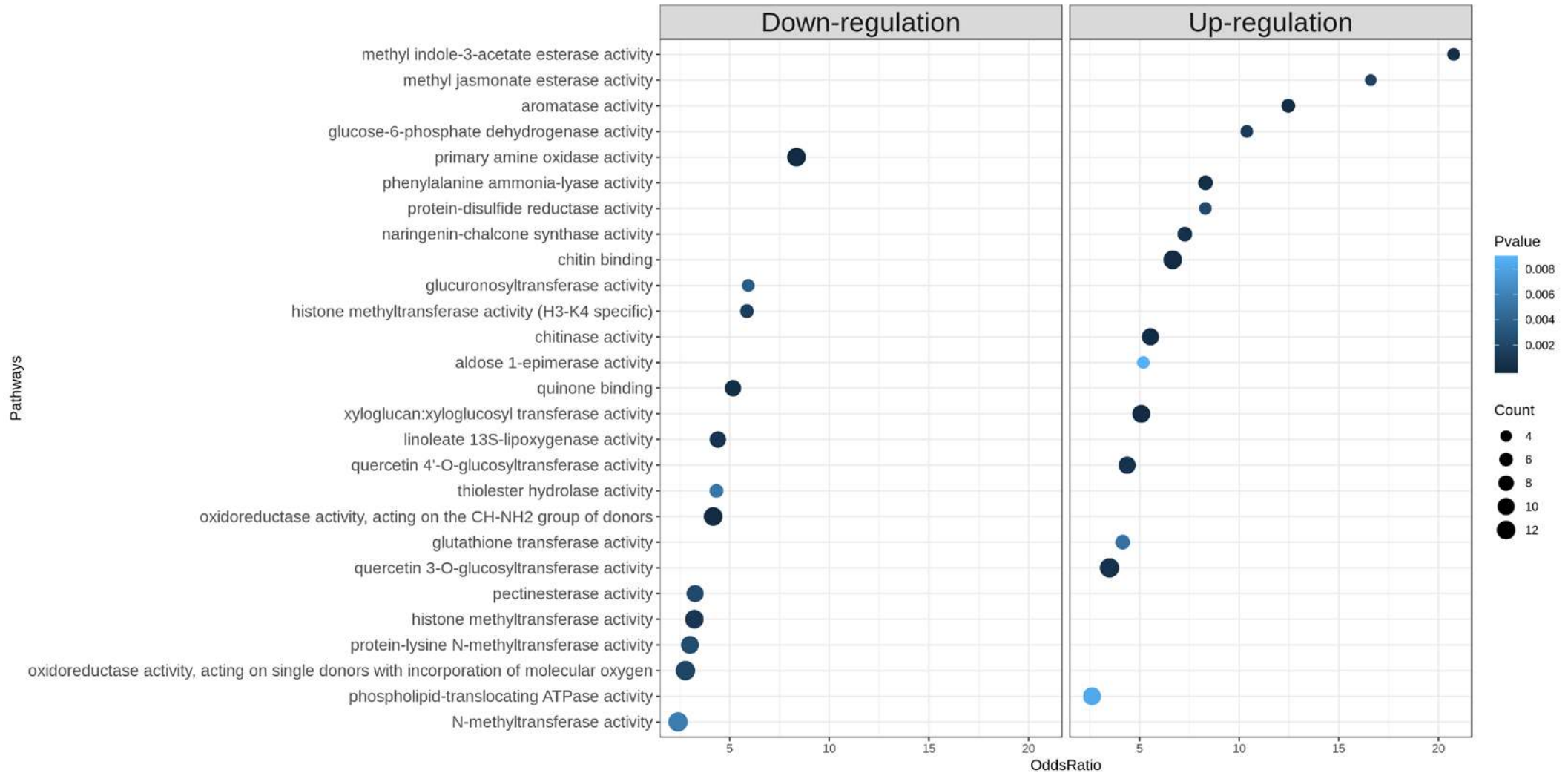
- Найти оптимальный референсный транскриптом и выровнять на него наши риды
- Получить список дифференциально экспрессирующихся генов в пробах control, co5 и co8
- Провести Gene Enrichment Analysis: пакет GSEABase

Gene Enrichment Analysis

Аннотация в терминах KEGG: 4951 из 15238 генов,
экспрессирующихся в корнях (ок. **32%**)

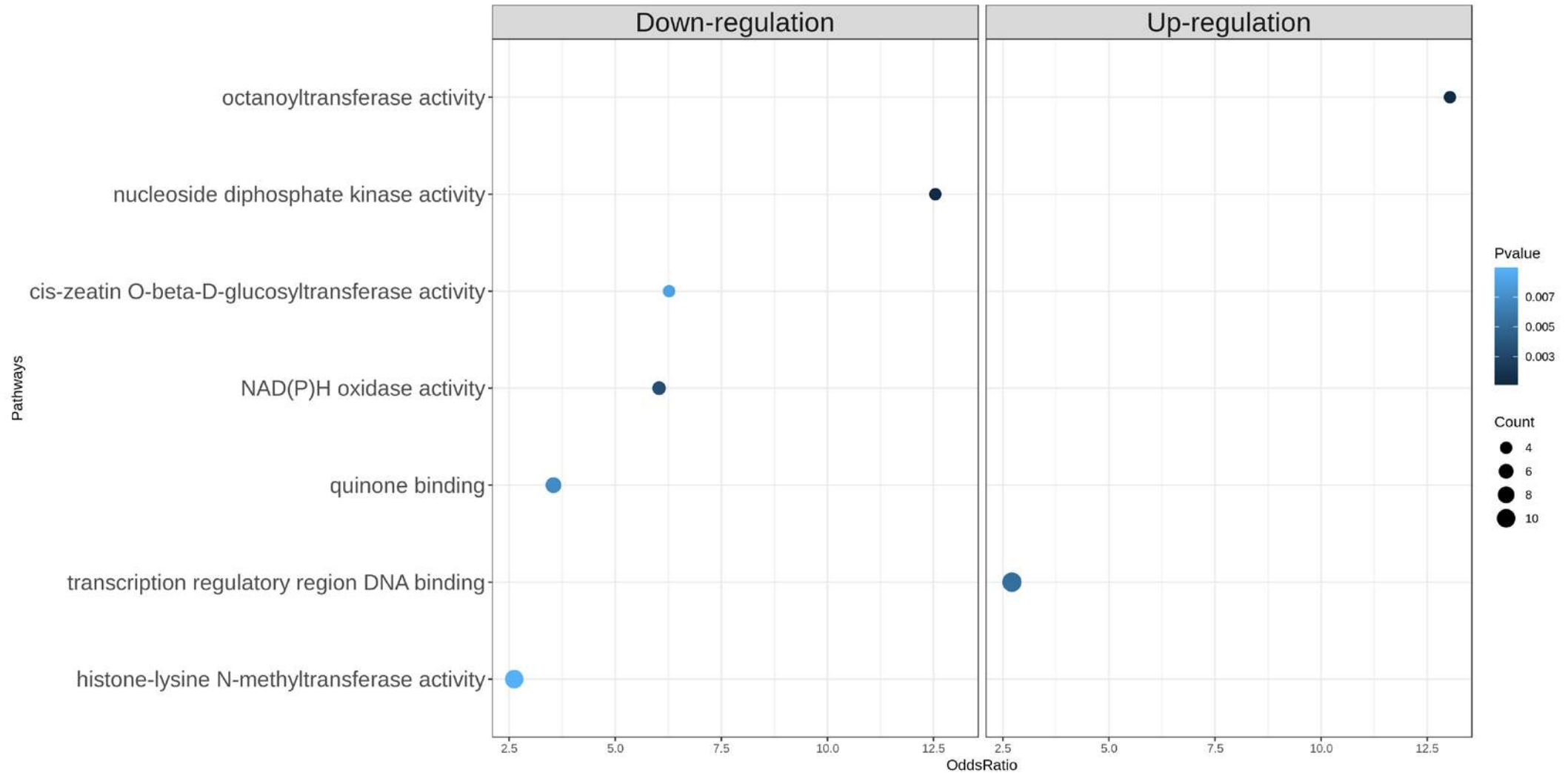
Аннотация в терминах GO: 11963 из 15238 генов,
экспрессирующихся в корнях (ок. **79%**)

GO enrichment: co5 versus control



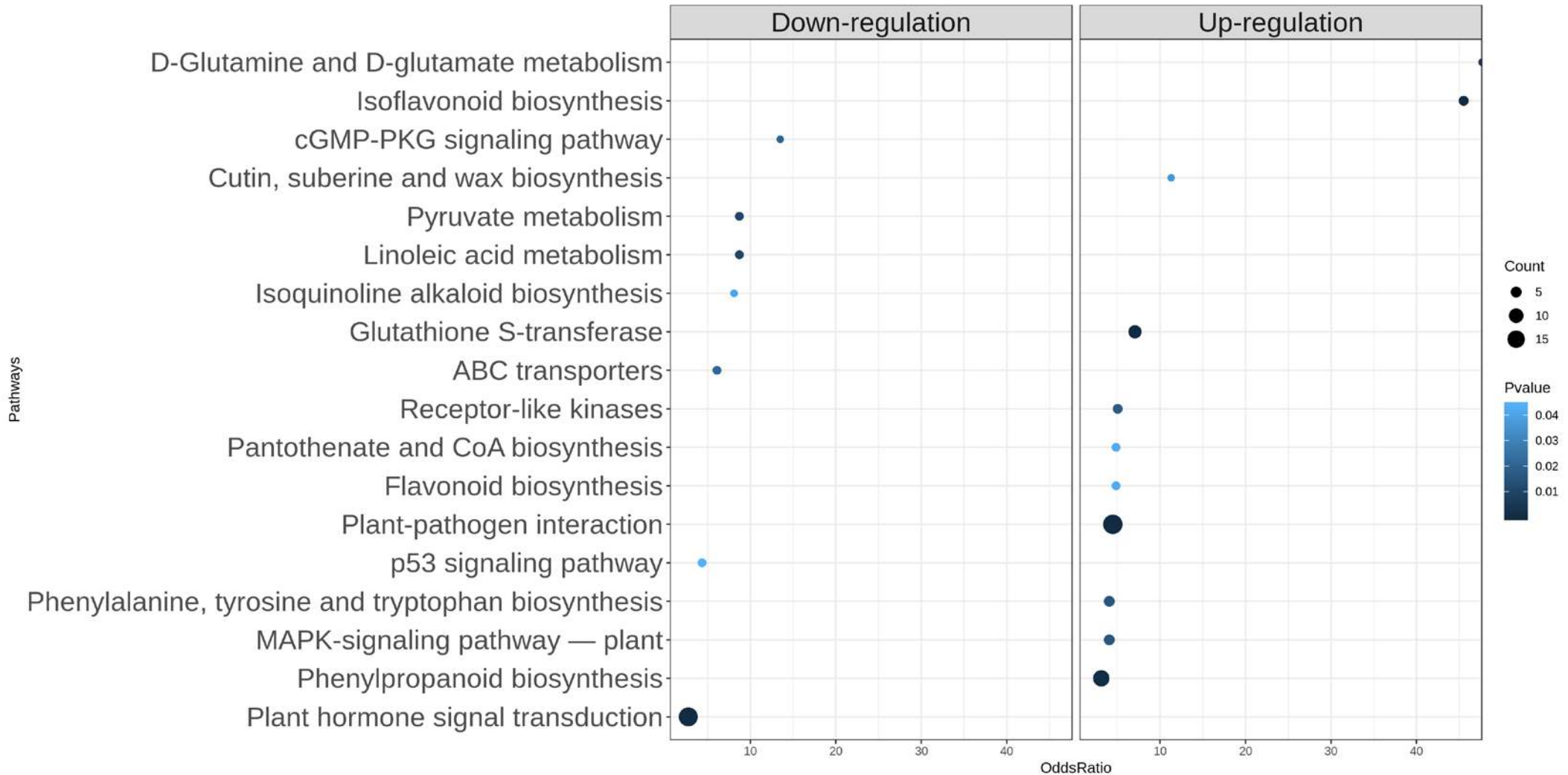
Методы: GSEABase (R), $p < 0,01$, LFC > 1 , OddsRatio > 2

GO enrichment: co8 versus control



Методы: GSEABase (R), $p < 0,01$, LFC > 1 , OddsRatio > 2

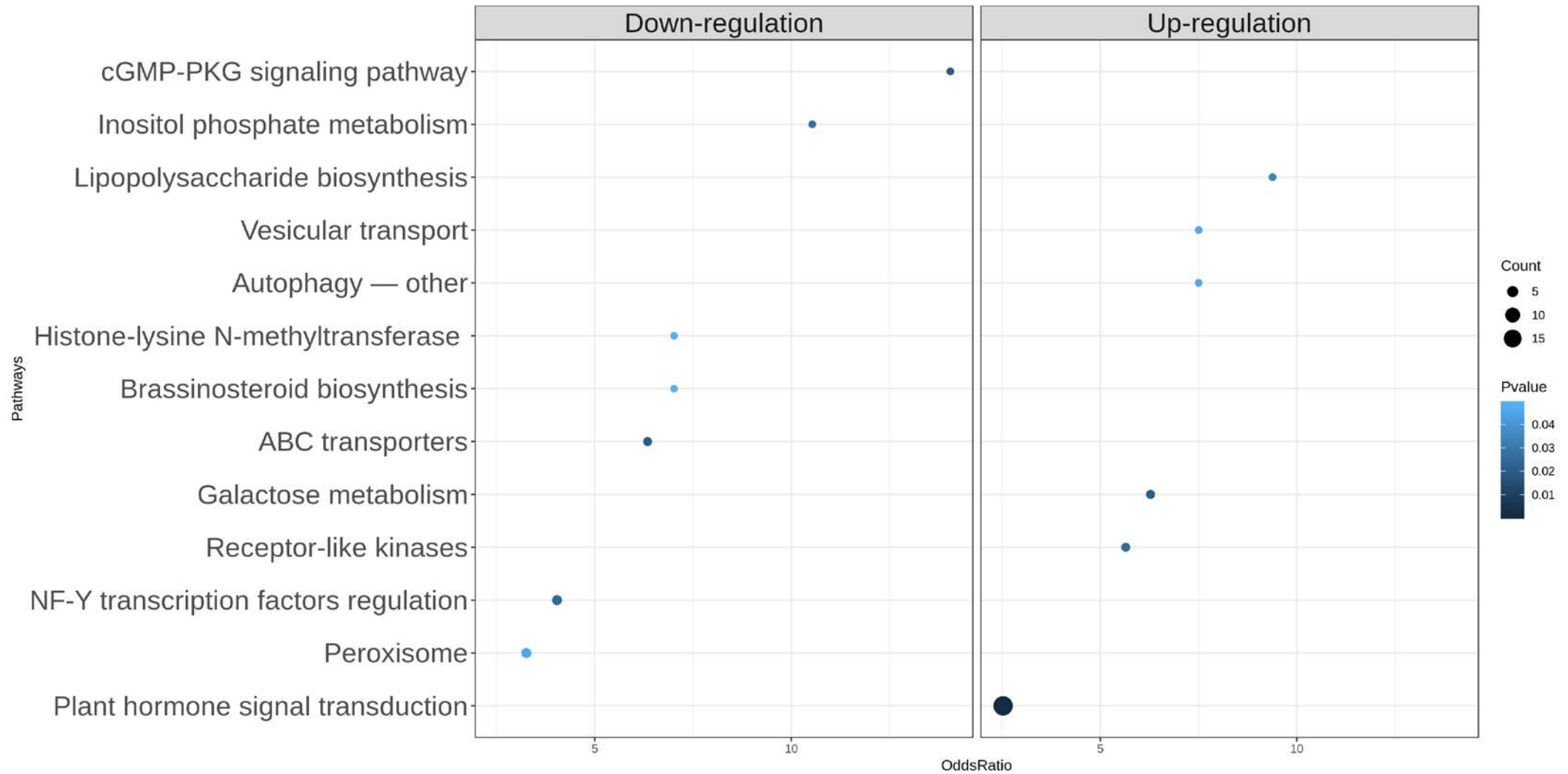
KEGG enrichment: co5 versus control



Методы: GSEABase (R), $p < 0,05$, $LFC > 1$, $OddsRatio > 1,2$

Некоторые названия путей были адаптированы для растений

KEGG enrichment: co8 versus control



Методы: GSEABase (R), $p < 0,05$, $LFC > 1$, $OddsRatio > 1,2$

Некоторые названия путей были адаптированы для растений

Выводы

- Получен референсный транскриптом для выравнивания результатов секвенирования корней *Pisum sativum*
- Согласно результатам анализа дифференциальной экспрессии генов и анализа обогащения наборами генов, под влиянием обработки хитоолигосахаридами со5 и со8 в корнях гороха активируются наборы генов, отвечающих за взаимодействие “паразит-хозяин”, связывание и расщепление хитина, а также многочисленные сигнальные пути, включающие в себя фитогормоны, рецепторные киназы и транскрипционные факторы

GO annotation - запасной слайд!

