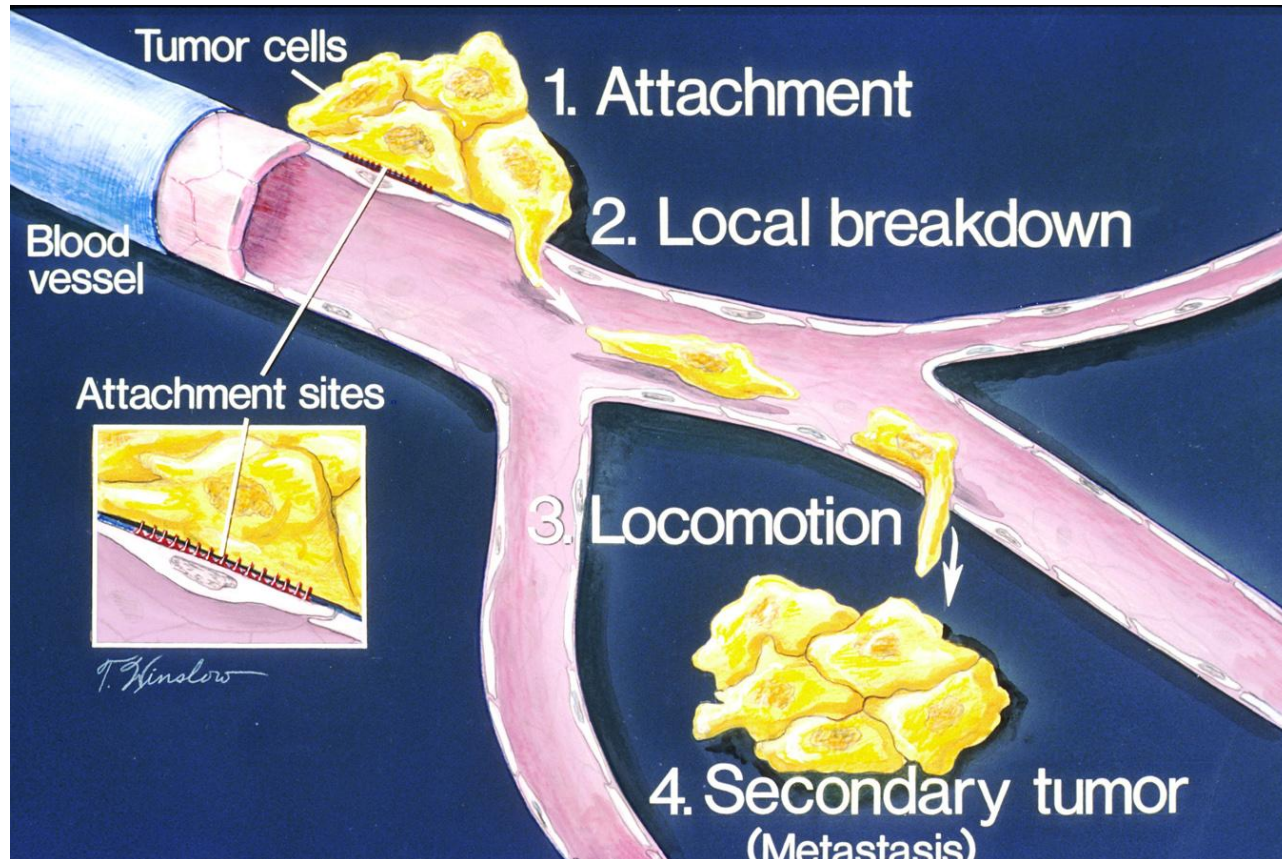


Сравнительный анализ данных РНК-секвенирования раковых клеток с использованием платформы Trinity

Алиса Вершинина

руководители:
Екатерина Черняева,
Ольга Баженова,
лаборатория им. Добжанского

Метастазирование



| NORMAL | CANCER | |
|--------|--------|---|
| | | Large number of dividing cells |
| | | Large, variable shaped nuclei |
| | | Small cytoplasmic volume relative to nuclei |
| | | Variation in cell size and shape |
| | | Loss of normal specialized cell features |
| | | Disorganized arrangement of cells |
| | | Poorly defined tumor boundary |

4 клеточные линии с различной способностью к метастазированию

| клеточная линия | <i>cea</i> | <i>cear</i> | опухоли |
|-------------------|------------|-------------|---------|
| MIP 101-c7 | - | - | - |
| MIP 101 clone 8-7 | + | - | + |
| MIP 101 | - | + | ++ |
| MIP 101 clone 8 | + | + | +++ |

↑
онкомаркер
наличия
метастазов

↑
белок,
связывающий *cea*

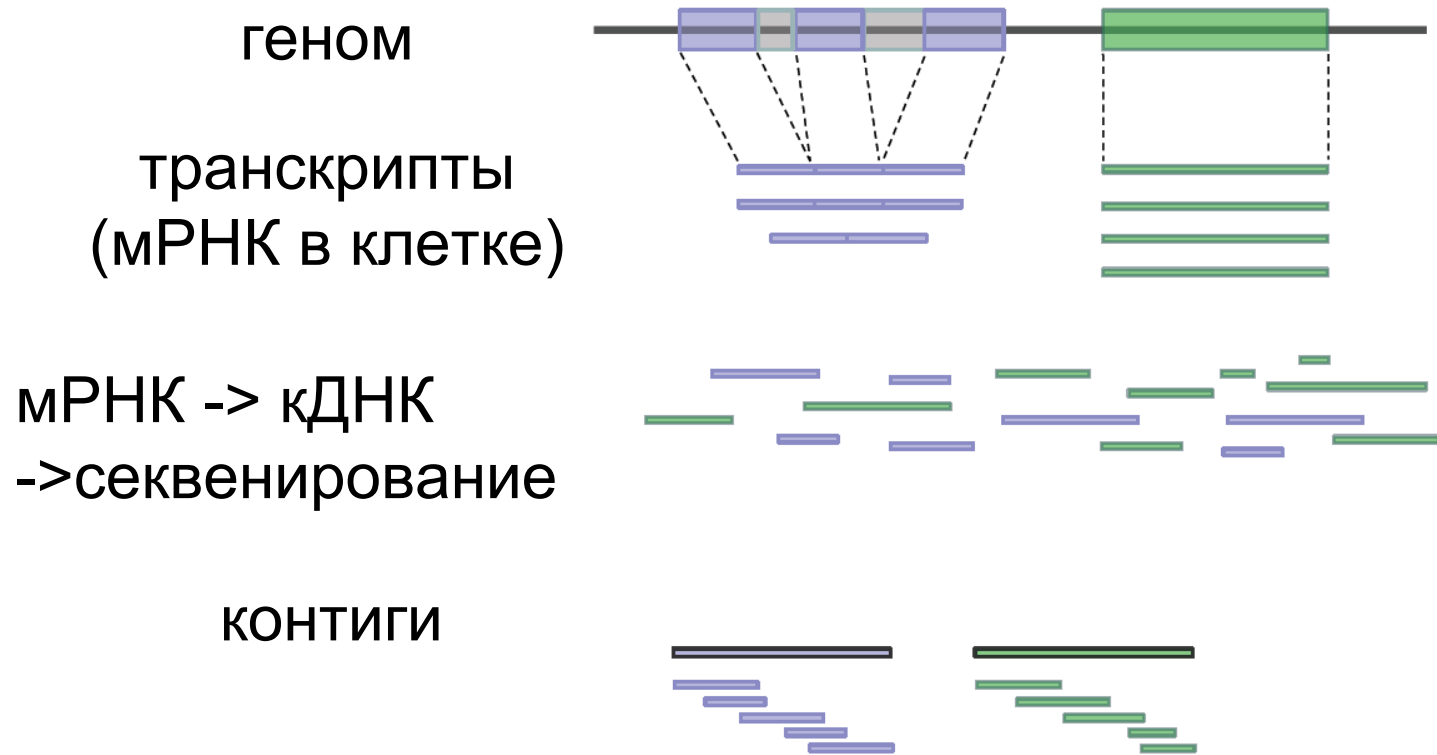
←
взаимодействие
CEA/CEAR
способствует
метастазированию

Цель: широкомасштабная оценка транскриптома метастатических клеток рака прямой кишки методом РНК-секвенирования

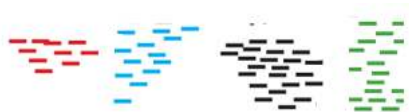
Задачи:

1. Проанализировать результаты РНК-секвенирования четырёх клеточных линий;
2. Осуществить сборку РНК-транскриптов;
3. Провести аннотацию и анализ полученных последовательностей.

Секвенирование и сборка транскриптома



Trinity: сборка транскриптома *de novo*

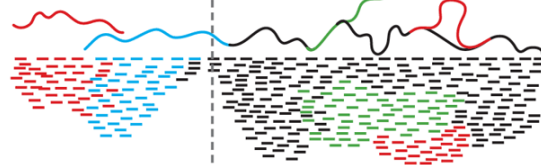


HiSeq
75 bp PE

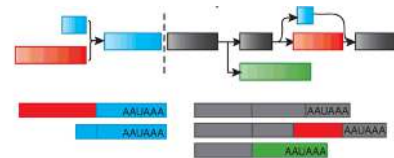
сборка ридов в контиги (Inchworm)



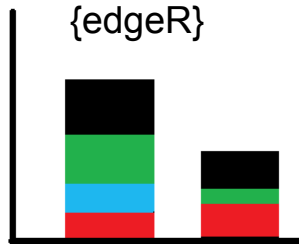
сборка контигов в компоненты (~гены) (Chrysalis)



транскрипты (Butterfly)



{edgeR}



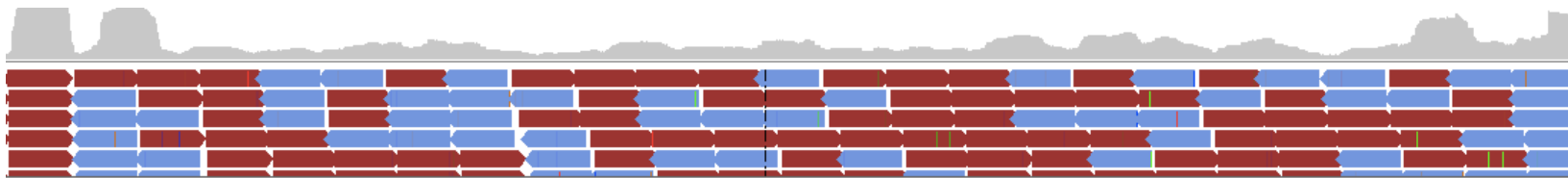
анализ ДЭ



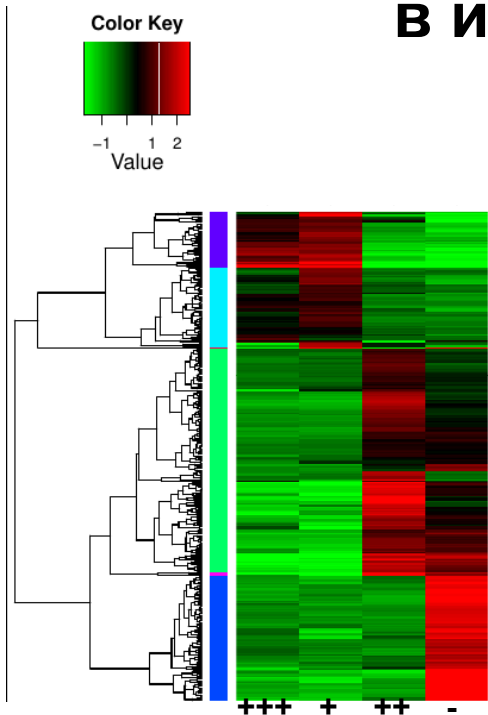
аннотация

Транскриптом

- >80% ридов выровнены на собранные контиги
- всего собрано ~400k транскриптов
- ~ 200k “компонентов”
- contig N50 3857, средний контиг ~1800 bp,



Дифференциальная экспрессия генов в исследуемых клеточных линиях



ID3 - DNA-binding protein inhibitor, ТФ;
мутации ассоциированы с лимфомой, аденокарциномой
и метастазированием.

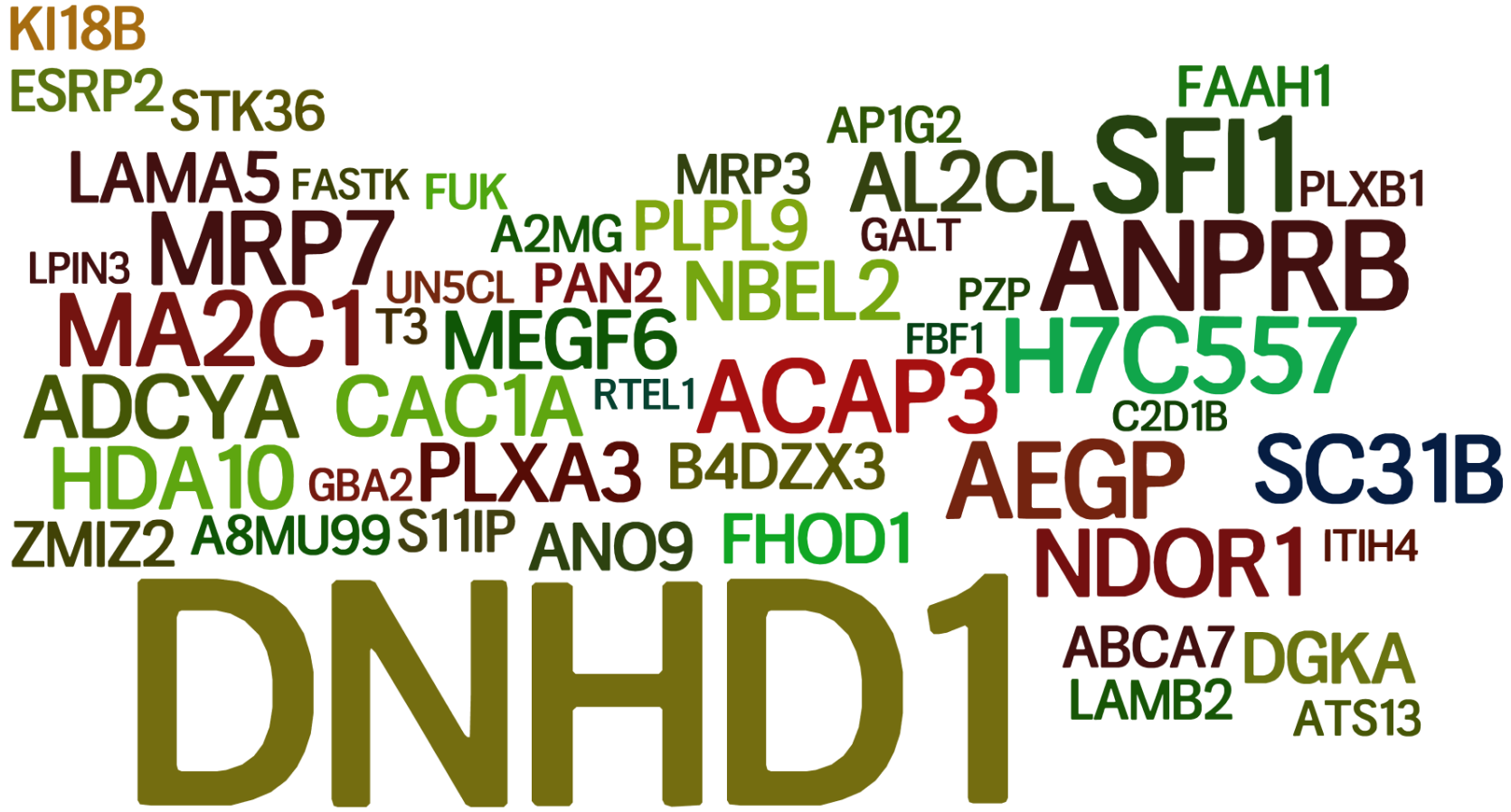
HOXA5 (homeobox A5) - хох-ген, ТФ;
мутации ассоциированы с раком груди, лейкоимией.

TMM-normalized *FPKM* matrix

TMM - Trimmed Mean of M-values

FPKM stands for Fragments Per Kilobase of transcript per Million mapped reads. In RNA-Seq, the relative expression of a transcript is proportional to the number of cDNA fragments that originate from it.

50 самых часто встречающихся транскриптов



50 самых часто встречающихся транскриптов

Sfi1 homolog, spindle assembly associated (yeast)
МИТОТИЧЕСКИЙ КЛЕТочный ЦИКЛ

Atrial natriuretic peptide receptor 2 precursor
СИГНАЛЬНЫЙ ПЕПТИД

SFI1
ANPRB

Apical endosomal glycoprotein precursor
СИГНАЛЬНЫЙ ПЕПТИД

AEGP

DNHD1


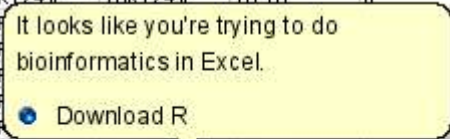
Dynein Heavy Chain Domain 1-Like Protein
активность микротрубочек
везикулярный транспорт
изменение поверхности мембраны

Результаты анализа транскриптома метастатических клеток рака прямой кишки

- *de novo* собраны транскриптомы четырёх клеточных линий, отличающихся уровнями экспрессии онкомаркеров;
- на уровне транскриптома получены профили дифференциальной экспрессии для каждой из линий;
- составлен перечень белок-кодирующих генов предположительно ассоциированных с метастазированием.

Спасибо за внимание!

| orig_name | gene_name | plate_col | row_col |
|-----------|-----------|-----------|---------|
| YBR124W | YBR124W | YB-01 | n |
| YBF | | | |
| YBF | | | |
| YBF | | | |
| YBF | | | |
| YBF | | | |
| YBR094W | YBR094W | YB-01 | l |
| YBR091C | MRS5 | YB-01 | l |
| YBR078W | ECM33 | YB-N | h |
| YBR075W | YBR075W | YB-N | h |
| YBR072W | HSP26 | YB-N | h |
| YBR069C | VAP1 | YB-N | h |
| YBR054W | YR02 | YB-N | d |
| YBR051W | YBR051W | YB-01 | d |
| YBR048W | RPS11B | YB-01 | d |



Спасибо Мише Райко и Лёше Комиссарову за помощь по ходу процесса!