

Γονιδιωματική
Transcriptomics[11]

Τμήμα Γεωπονίας, Ιχθυολογίας
και Υδάτινου Περιβάλλοντος

Μεζίτη Αλεξάνδρα

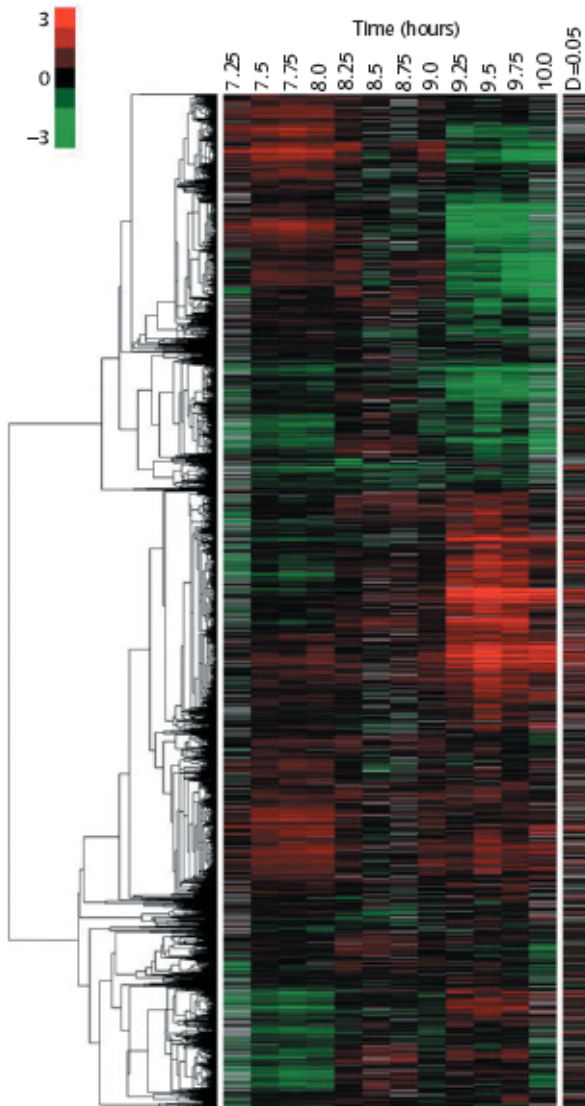
Transcriptomics-Μεταγραφωματική

Μεταγράψωμα (Transcriptome) → Το σύνολο των RNAs που περιέχει ένα κύτταρο.

- Σύνδεση ανάμεσα στο DNA και στα γονίδια που εκφράζονται
- Πρότυπα έκφρασης σε διαφορετικές φυσιολογικές καταστάσεις
→ Διάρυξη → αλλαγή του μεταβολισμού ανάλογα με τη διαθέσιμη τροφή
- Πρότυπα έκφρασης κατά την ανάπτυξη
→ Μεταμόρφωση εντόμων → αλλαγές στην οικοθέση
- Πρότυπα έκφρασης στη μάθηση και στη μνήμη.
→ Έκφραση γονιδίων και σύνθεση πρωτεϊνών που ισχυροποιούν τις συνάψεις στον εγκέφαλο

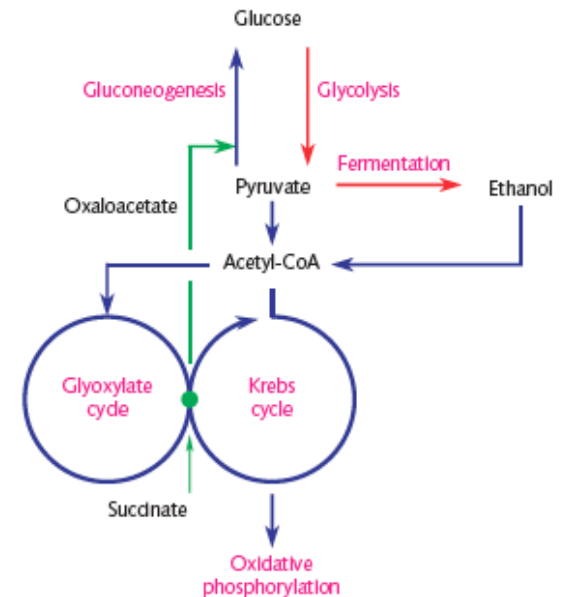
Μελέτη με RNA seq ολόκληρου γονιδιώματος και microarrays

Πρότυπα έκφρασης σε διαφορετικές φυσιολογικές καταστάσεις



Διαύξηση στον *Saccharomyces cerevisiae*

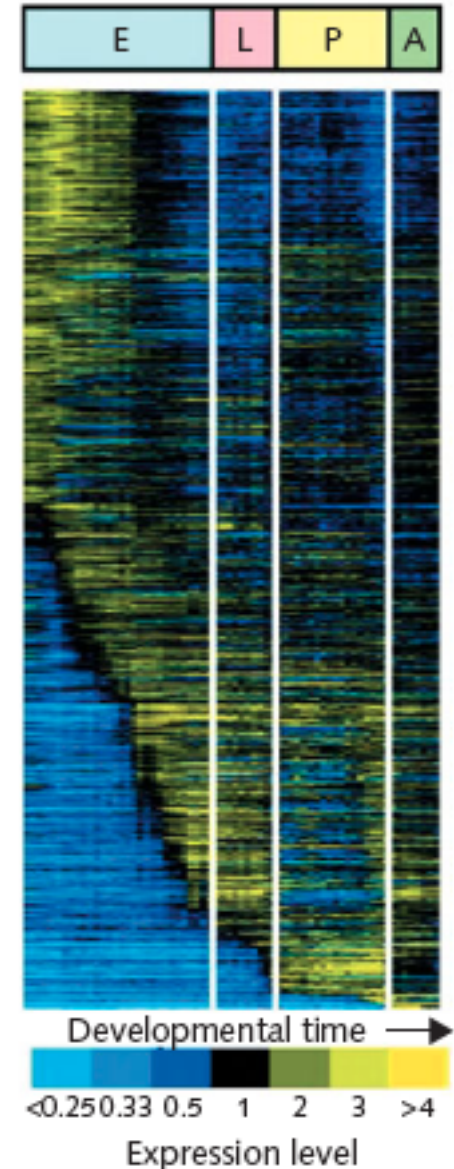
- Παρουσία γλυκόζης → ζύμωση → μονοπάτι Embden-Meyerhof → αναγωγή γλυκόζης σε EtOH
- Απουσία γλυκόζης → οξειδωτικός μεταβολισμός → κύκλος του Krebs και οξειδωτική φωσφορυλίωση
- Έκφραση καινούριων γονιδίων αλλά και γονιδίων για τη μετάβαση στον οξειδωτικό μεταβολισμό.
- Ενεργοποίηση γονιδίων για την 'ειδοποίηση' της έλλειψης γλυκόζης.





Πρότυπα έκφρασης κατά την ανάπτυξη

Ανάπτυξη της *Drosophila melanogaster*

- Διαφορετικά στάδια ανάπτυξης
→ εμβρυϊκό → προνύμφη → νύμφη → ενήλικο
- Arbeitman et al. (2002)
→ cDNA βιβλιοθήκες → 4.028 γονίδια (1/3 συνολικών γονιδίων)
→ Μέτρηση επιπέδων έκφρασης σε διαφορετικά στάδια/
σύγκριση με τα συνολικά επίπεδα.
→ 86% των γονιδίων άλλαξαν επίπεδο έκφρασης σε κάποιο
στάδιο → τα περισσότερα σε βαθμό >4.
→ Τα περισσότερα γονίδια υπερεκφράζονται στο εμβρυϊκό
σταδιο → μεταγραφικοί παράγοντες, πρωτεΐνες μεταφοράς
σημάτων, μεταφορικές πρωτεΐνες, πρωτεΐνες για κυτταρική
πρόσκόλληση, βιοσυνθετικά ένζυμα → μητρικής προέλευσης, η
έκφρασή τους σταματάει 6-7 ώρες μετά τη γονιμοποίηση
→ Γονίδια με μία κορυφή, με δύο, και γονίδια που
αυξομειώνονται χωρίς πρότυπο



SeagrassDB: An open-source transcriptomics landscape for phylogenetically profiled seagrasses and aquatic plants

Gaurav Sablok¹, Regan J. Hayward¹, Peter A. Davey¹, Rosiane P. Santos ², Martin Schliep¹, Anthony Larkum¹, Mathieu Pernice ¹, Rudy Dolferus³ & Peter J. Ralph¹

Seagrasses and aquatic plants are important clades of higher plants, significant for carbon sequestration and marine ecological restoration. They are valuable in the sense that they allow us to understand how plants have developed traits to adapt to high salinity and photosynthetically challenged environments. Here, we present a large-scale phylogenetically profiled transcriptomics repository covering seagrasses and aquatic plants. SeagrassDB encompasses a total of 1,052,262 unigenes with a minimum and maximum contig length of 8,831 bp and 16,705 bp respectively. SeagrassDB provides access to 34,455 transcription factors, 470,568 PFAM domains, 382,528 prosite models and 482,121 InterPro domains across 9 species. SeagrassDB allows for the comparative gene mining using BLAST-based approaches and subsequent unigenes sequence retrieval with associated features such as expression (FPKM values), gene ontologies, functional assignments, family level classification, Interpro domains, KEGG orthology (KO), transcription factors and prosite information. SeagrassDB is available to the scientific community for exploring the functional genic landscape of seagrass and aquatic plants at: <http://115.146.91.129/index.php>.

Μέθοδοι

- Απομόνωση RNA από τα φύλλα έξι διαφορετικών ειδών θαλάσσιων Αγγειόσπερμων
- Αλληλούχηση με Illumina HiSeq
- Συναρμολόγηση μεταγραφωμάτων και ομαδοποίηση (clustering)
- Ομαδοποίηση σε Unigenes (isoforms)
- Υπολογισμός της 'ολοκλήρωσης/completeness' του μεταγραφώματος με βάση άλλες βάσεις δεδομένων για ορθόλογα γονίδια άλλων φυτών και PFAM μοντελα (βασικές περιοχές πρωτεϊνών).
- Λειτουργικός σχολιασμός με την χρήση BLASTx (UniProt TrEMBL)
- Πρόβλεψη κωδικών περιοχών και μεταγραφικών παραγόντων

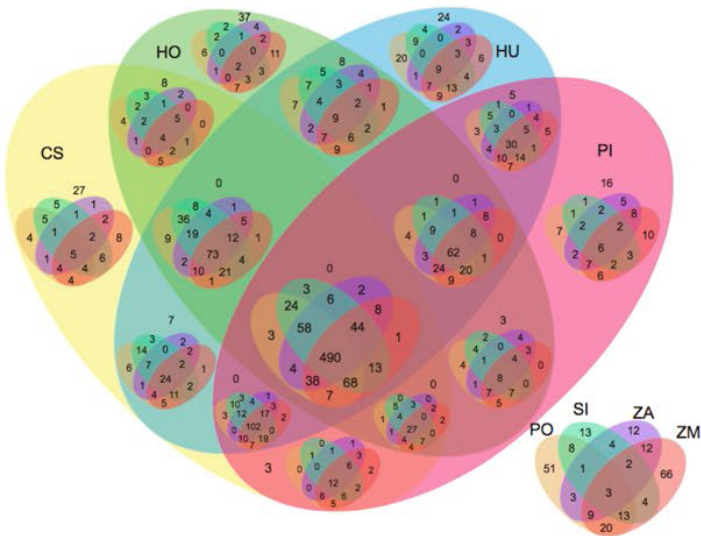
Αποτελέσματα

Summary Statistics	SI	HU	LM	HO	CS	PI	PO	ZA	ZM
Total number of reads (PE)	30800346	39950720	37793836	42671860	41836870	43133914	70453120	55525824	60812923
Total number of Unigenes	94218	57490	169790	141858	112178	51707	79235	52741	293045
Median length (bp)	408	624	388	360	429	577	853	528	366
Maximum contig length (bp)	15898	14423	12316	8831	12258	12507	16705	15776	26925
N50 (bp)	1157	1741	938	724	1528	1836	2041	1672	1171
Number of contigs (> 1kb)	18721	21223	28134	19068	27509	18336	35285	16905	52326
Number of predicted ORFs	53254	33310	79652	66706	57517	27819	34245	24824	130627
Unigenes with BLASTx against UniprotKB	39965	36181	64552	79240	55494	32540	38849	31450	121446
Unigenes with PFAM	37192	32745	61879	75022	51916	29777	37467	30146	114424
Unigenes with GO	37036	32734	61343	75039	51523	29572	38389	30860	113401
Unigenes with InterPro	38232	34127	63042	76553	53439	30932	38062	30643	117091
Unigenes with Prosite	28570	22320	51819	65065	39200	21111	33130	26831	94482
Unigenes with TF	3045	3161	4444	3500	3652	2722	3033	2528	8370

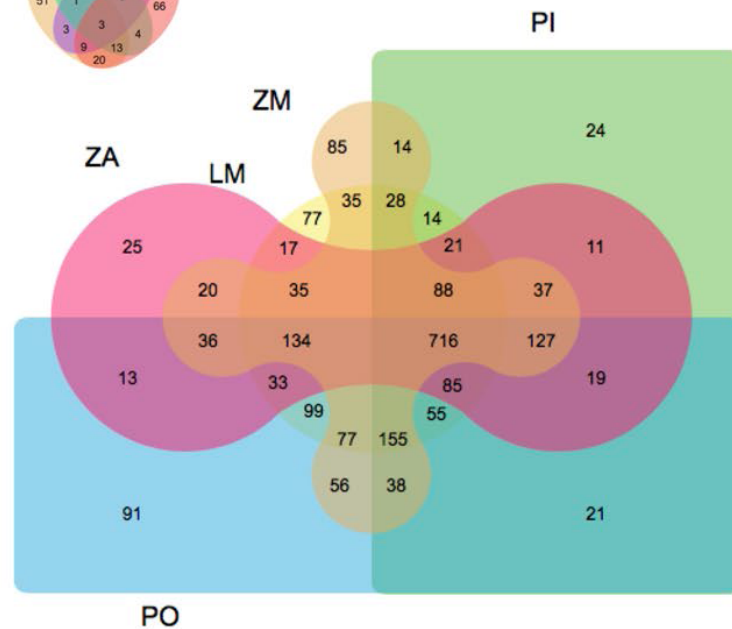
Table 1. Summary statistics of transcriptomics in SeagrassDB. Species name corresponds to *Cymodocea serrulata* (CS), *Halodule uninervis* (HU), *Halophila ovalis* (HO), *Lemna minor* (LM), *Phyllospadix iwataensis* (PI), *Syringodium isoetifolium* (SI), *Zostera muelleri* (ZM), *Zostera marina* (ZA) and *Posidonia oceanica* (PO).

CDA size	SI	HU	LM	HO	CS	PI	PO	ZA	ZM
Found	1804	1811	1918	1473	1775	1707	1876	1676	1963
Expected	2017	2017	2017	2017	2017	2017	2017	2017	2017
Completeness	89.44	89.79	95.09	73.03	88	84.63	93.01	83.09	97.32

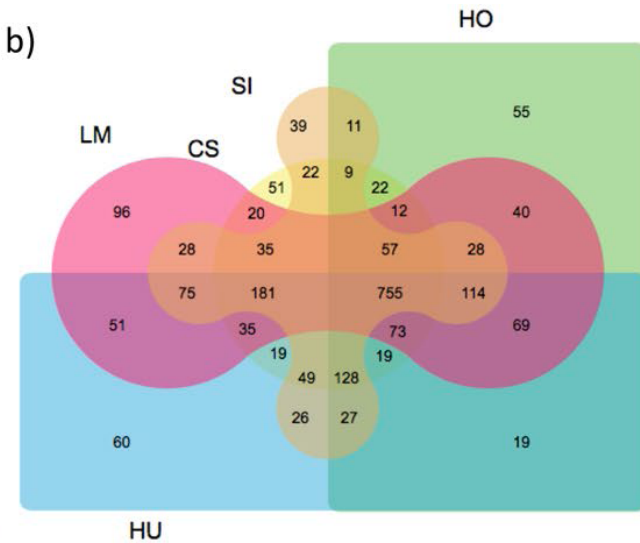
Αποτελέσματα



a)



b)



c)

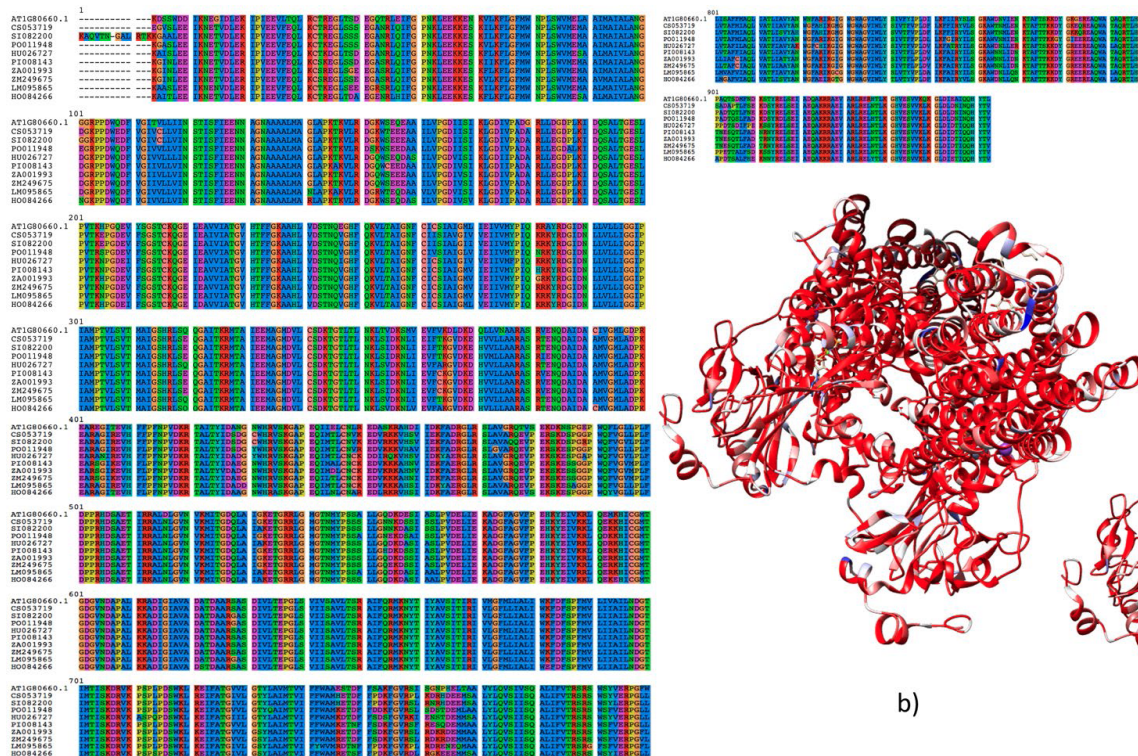
Figure 2. (a) Venn diagram using VennPainter available from <https://github.com/linguoliang/VennPainter> shows the shared single copy orthologs across aquatic plant species; (b) showing the shared single copy orthologs across the Cymodoceaceae, Araceae and Hydrocharitaceae; and (c) showing the shared single copy orthologs across the Zosteraceae, Posidoniceae and Araceae.

Εφαρμογές

- Οι αντλίες πρωτονίων είναι σημαντικές στην προσαρμογή των φυτών στην υψηλή αλατότητα → ελάχιστα μελετημένες στα θαλάσσια φυτά

Μελέτη με την SeagrassDB των H^+ -ATPase ($ATP + H_2O + H^+_{in} \rightleftharpoons ADP + \text{phosphate} + H^+_{out}$)

- Χρήση της H^+ -ATPase από *A. thaliana* και BLASTx με διαφορετικά είδη στη SeagrassDB
- Ευθυγράμμιση των αλληλουχιών.
- Υψηλός βαθμός συντήρησης



a)

b)

c)