

Pipeline geral com os principais programas utilizados em ambientes Linux (*UNIX Based system*) e em ambiente R (R Packages). Cada etapa enumerada de 1 a 11 será destacada abaixo na pipeline para as análises de transcriptômica para expressão diferencial.

- 1 e 2: Aquisição de dados no formato FASTQ, via SRA (dados públicos ou gerados por você mesmo). Avaliação da qualidade das reads. Verificação da qualidade Phred, presença de adaptadores e necessidade de trimagem.
- **4** e **5**. Utilização do Trimmomatic para limpeza e trimagem dos dados do FASTQ.
- **6.** Aprendizado do uso dos programas HISAT2 e/ou Kallisto para realizar mapeamento (HISAT2) e pseudoalinhamento com quantificação (Kallisto).
- 7. Aplicação da quantificação da expressão gênica usando HTSeq-count.
- **8.** Aprendizado do uso do pacote DESeq2 para realizar análise de expressão diferencial em ambiente R.
- **9.** Capacidade de ilustrar os dados de expressão e expressão diferencial nas principais representações: *Volcano plot, heatmap,* PCA, diagrama de Venn/*UpSet* plot e plots relacionados à análise de enriquecimento funcional.

Adaptado de: SEELBINDER, Bastian et al. *GEO2RNAseq:* An easy-to-use R pipeline for complete pre-processing of RNA-seq data. BioRxiv, p. 771063, 2019.

