

Invloed van leeftijd op gen expressie van Ebf1 in muizen

F.J.A. Menninga

2024-09-12

Het originele onderzoek:

- ▶ Hi-C
- ▶ Flow cytometry
- ▶ FISH
- ▶ ChIP-seq
- ▶ VDJ-seq
- ▶ RNA-seq
- ▶ DNA-seq

Uitkomst van dit onderzoek:

- ▶ Verschil in gen expressie ebf1 tussen oude en jonge muizen. (verminderde interactie tussen ebf1 promoter en zijn enhancers)
- ▶ Verminderde ebf1 expressie leidt tot functieverlies B cellen.
- ▶ Verplaatsing van het ebf1 gen van compartiment A naar B.

Onze wijzigingen:

Nieuwe onderzoeksvraag:

Veranderd de gen expressie van ebf1 van muizen met leeftijd?

- ▶ Nieuwer muis referentie genoom
- ▶ HISAT2 i.p.v. STAR voor read mapping
- ▶ Stringtie i.p.v. Cufflinks om de RNA-seq alignments naar mogelijke transcripts te veranderen.
- ▶ Geen Hi-C, flow-cytometrie, ChIP-seq of VDJ-seq

experimentele opzet:

Indeling groepen:

Genomics: twee groepen (Wt / RAG2-/-)

- Aantal replicaten per groep: vier

Transcriptomics: twee groepen (12 genen)

- Aantal replicaten per groep: vier

Hi-C

- ▶ A/B compartiment in nucleus.
- ▶ Verplaatsing van chromatine naar compartiment B
- ▶ Techniek om chromatine conformatie te achterhalen

Verwerkingsstappen genomics:

1. Kwaliteit controle (FastQC)
2. Align DNA seq data met referentiegenoom (HISAT2)
3. Variant calling met GATK (Genen: Rag2, Ebf1 en Foxo5)
4. Visualiseren met R

Verwerkingsstappen transcriptomics:

1. Kwaliteit controle (FastQC)
2. Read mapping met HISAT2 (input fastQ bestand, output: SAM bestand)
3. FeatureCounts gebruiken om de gen expressie te kwantificeren
4. RSEM gebruiken voor uitgebreidere featureCounts (optioneel)
5. Visualiseren met R (Box-plot, viool-plot, heatmap, MA-plot etc.)

Tijdsverdeling:

Bronnen:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC11178499/>
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/assembly/327618> <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/query/acc.cgi?acc=GSE214438>
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38866970/>

Discussie

.....