

Curso de Analise de Transcriptomas - Modulos 3 a 10

03 03 Trimming Preprocessamento

Mdulo 3 Trimming e Pr-processamento Avanado

Quando remover adaptadores?

- Quando detectados no relatrio do FastQC (>10%).
- Quando h queda na qualidade nas extremidades 3 das leituras.
- Quando h leituras muito curtas, com baixa qualidade ou contendo muitos N.

Ferramentas para trimming

Trimmomatic

- Requer seleo manual do adaptador (TruSeq2, Nextera etc).
- Permite mltiplas estratgias: sliding window, quality threshold.
- Ideal para pipelines clssicos com controle fino dos parmetros.

fastp

- Detecta adaptadores automaticamente.
- Aplica trimming de qualidade e gera relatrios com grficos.
- Mais rpido e fcil de configurar, excelente para Galaxy.

No Galaxy:

- Trimmomatic: escolha adaptador + sliding window (ex: 4:20), min length = 36.
- fastp: marque opes de trimming e visualize o relatrio HTML.

04 04 Pipelines Mapeamento

Mdulo 4 Comparao entre Pipelines de Mapeamento

Ferramentas:

- **HISAT2**: rpido, sensvel para alinhamento de RNA-seq, usado amplamente.
- **STAR**: mais pesado em RAM, porm extremamente rpido para grandes genomas.
- **Salmon**: mtodo de pseudoalignment (sem alinhamento direto), rpido e preciso.

Comparativo:

Ferramenta	Tipo	Velocidade	Recurso	Sada
HISAT2	Alinhador	Mdia	Moderado	BAM
STAR	Alinhador	Alta	Alta RAM	BAM
Salmon	Pseudoaligner	Altssima	Baixo	Quant.sf

Quando usar qual?

- Use HISAT2/STAR para downstream baseado em loci (ex: splice variants).
- Use **Salmon** quando seu foco for **expresso por transcrito**.
- Galaxy inclui wrapper para **Salmon quant** com ndice preconstrudo.

05 05 Transcritos tximport

Mdulo 5 Expresso em Nvel de Transcrito com `tximport`

Passos no R:

```
`r
library(tximport)
library(DESeq2)
library(readr)

samples <- read.csv("samples_salmon.csv") # com paths dos quant.sf

files <- file.path(samples$path, "quant.sf")
names(files) <- samples$sample

tx2gene <- read.csv("tx2gene.csv") # mapeia transcriptos para genes

txi <- tximport(files, type = "salmon", tx2gene = tx2gene)
dds <- DESeqDataSetFromTximport(txi, colData = samples, design = ~ condition)
`r
```

06 06 Contrastes Personalizados

```
# Mdulo 6 Comparaes Mltiplas com `contrast = c(...)`

## Exemplo 1: simples
```r
results(dds, contrast = c("condition", "treated", "control"))
...

Exemplo 2: trs grupos (A, B, C)
```r
dds$group <- relevel(dds$group, ref = "A")
res_BvsA <- results(dds, contrast = c("group", "B", "A"))
res_CvsA <- results(dds, contrast = c("group", "C", "A"))
...

## Exemplo 3: interao
```r
design(dds) <- ~ genotype * treatment
results(dds, name = "genotypeKO.treatmenttreated")
...

```

## 07 07 Enriquecimento Avancado

# Mdulo 7 Enriquecimento Sofisticado

### clusterProfiler GO/KEGG + visualizaes

```
```r
```

```
ego <- enrichGO(gene = entrez, OrgDb = org.Hs.eg.db, ont = "BP")
```

```
emapplot(ego)
```

```
cnetplot(ego)
```

```
```
```

### GSEA com `fgsea`

```
```r
```

```
library(fgsea)
```

```
fgseaRes <- fgsea(pathways = msigdb, stats = gene_list, minSize = 15)
```

```
```
```

## 08 08 Exportacao Reprodutibilidade

# Mdulo 8 Exportao e Reprodutibilidade

### Exportar resultados:

```
``r
write.csv(as.data.frame(res), "DEG_results.csv")
...
```

### Gerar relatrio com RMarkdown

```
``r
rmarkdown::render("meu_analise.Rmd")
...
```

### Salvar ambiente

```
``r
save.image("analise_transcriptoma.RData")
...
```

## 09 09 Visualizacoes Interativas

# Mdulo 9 Visualizaes Interativas

### Volcano plot

```
```r
```

```
library(EnhancedVolcano)
```

```
EnhancedVolcano(res, lab = rownames(res),  
                 x = "log2FoldChange", y = "padj")
```

```
```
```

### PCA interativo

```
```r
```

```
library(plotly)
```

```
p <- plotPCA(vsd, intgroup = "condition", returnData = TRUE)
```

```
plot_ly(p, x = ~PC1, y = ~PC2, color = ~group)
```

```
```
```

## 10 10 Integracao Omicas

# Mdulo 10 Integracao com outras camadas omicas

### Metilacao:

- Integre dados de methylKit ou DSS para correlacao com expressao genica.

### ATAC-seq:

- Use DiffBind ou csaw para comparar picos com genes expressos.

### Proteomica:

- Mapear genes diferencialmente expressos com proteinas detectadas em MS.



