

## ***Análisis exploratorio del transcriptoma de la línea celular FaDu***

Se utilizó un conjunto de datos RNA-seq bulk de células FaDu isogénicas editadas con Cas9, disponible en [GEO](#) bajo el número de acceso [GSE147085](#), para estudiar el efecto del knockout (KO) de STING y su relación con la radioterapia. Los datos fueron localizados mediante [OmicsDI](#), y la publicación original corresponde a [\*STING enhances cell death through regulation of reactive oxygen species and DNA damage\*](#).

Para el análisis de expresión diferencial se compararon las condiciones Wild Type (WT) y IrrWT tras exposición a radiación. La evaluación preliminar mediante [GEO2R](#) mostró una separación clara entre las muestras de cada condición experimental, así como una heterogeneidad moderada dentro de cada grupo (Figura 1A), indicando baja variabilidad técnica y ausencia de sesgos atribuibles al proceso de secuenciación o ensamblaje del transcriptoma.

El análisis diferencial identificó 366 genes diferencialmente expresados, de los cuales 82 estaban subexpresados y 284 sobreexpresados (Figura 1B). El análisis de enriquecimiento funcional de los genes sobreexpresados reveló asociación con procesos de estructura y remodelación de la matriz extracelular y señalización mediada por citocinas (Figura 2).

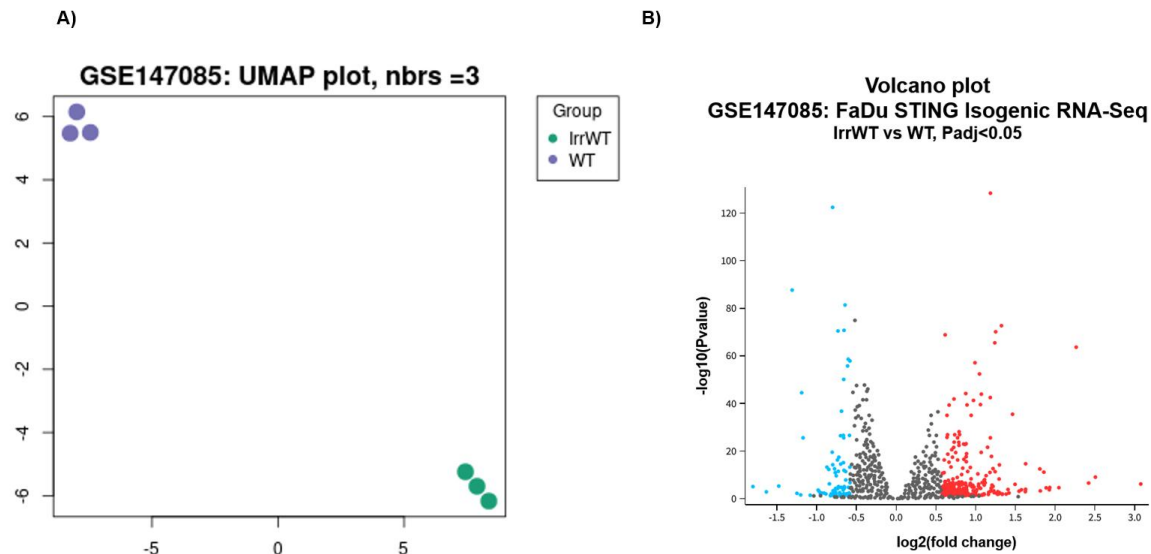


Figura 1. Análisis transcriptómico de la línea celular FaDu. A) Reducción de dimensionalidad mediante UMAP (Uniform Manifold Approximation and Projection) de las muestras correspondientes a ambas condiciones experimentales. B) Gráfico de volcán que muestra los genes diferencialmente expresados entre ambas condiciones. Se consideró un gen como diferencialmente expresado si presentaba un cambio de expresión  $\geq 1.5$ -fold y significancia estadística con  $p_{\text{adj}} < 0.05$ .

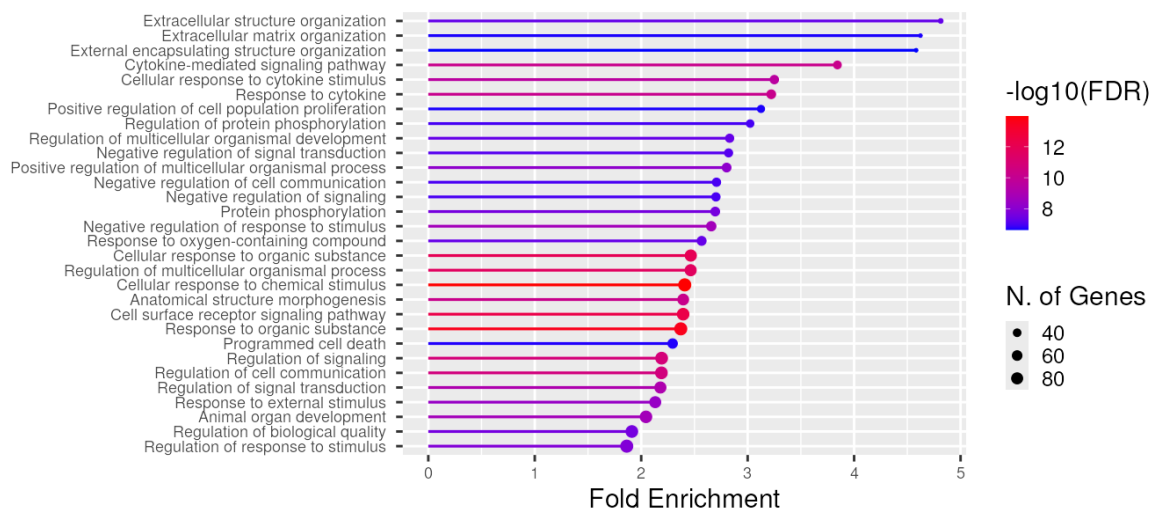


Figura 2. Análisis de enriquecimiento funcional de los genes diferencialmente sobreexpresados en células FaDu tras radioterapia, realizado utilizando términos de REACTOME.

Posteriormente, se realizó un análisis de intersección entre tres conjuntos de datos: genes asociados a *neo-loops*, genes identificados por RNA-seq y genes correspondientes al listado de anticuerpos disponibles del grupo (Figura 3). Los resultados se resumen a continuación:

- Neo-loops vs RNA-seq: tres genes compartidos, COL8A1, SPRR1A y SPRR1B.
- Neo-loops vs Anticuerpos: un único gen compartido, COL1A1.
- RNA-seq vs Anticuerpos: cuatro genes comunes TIMP3, FN1, MMP1, MMP2, y MMP13.
- Intersección entre los tres conjuntos: No se identificaron genes compartidos

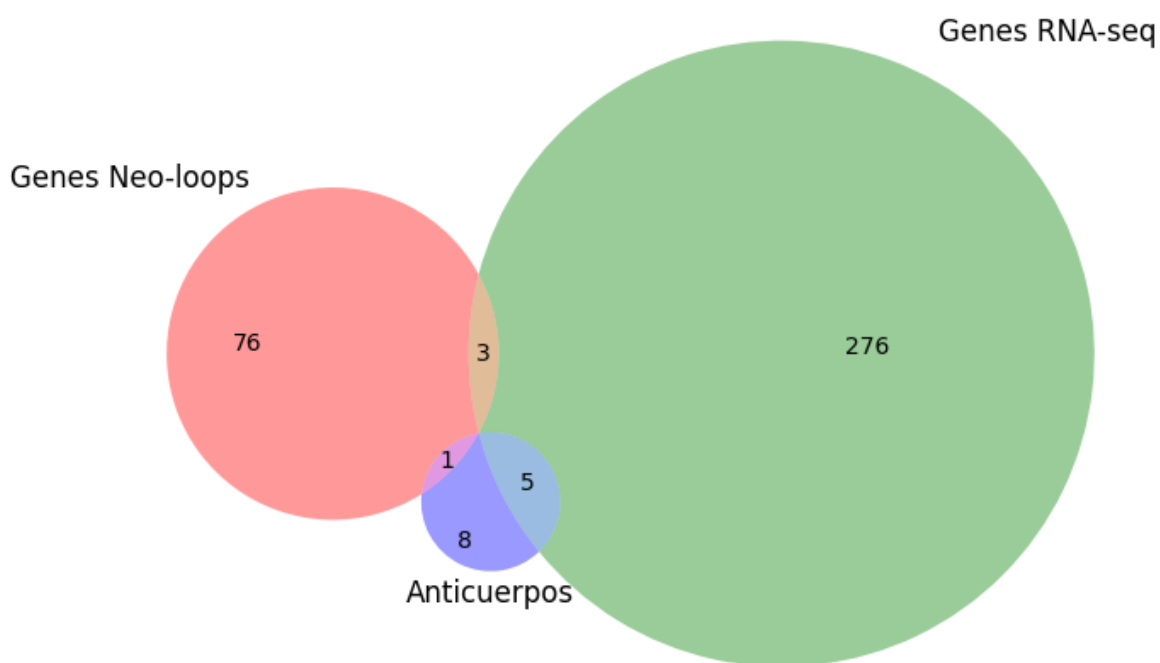


Figura 3. Intersección de genes entre tres conjuntos: genes asociados a neo-loops, genes identificados por RNA-seq y genes presentes en el listado de anticuerpos del grupo.

## Procesos biológicos y genes asociados:

- Extracellular structure organization : VCAN COL5A3 MMP2 PDGFB APLP1 FN1 CCN2 TEX14 SOX9 PXDN MATN3 ADAM19 ITGA7 IL6 MMP13 ADAMTS17 COL8A1 ADAM12 ADAM8 CARMIL2 ITGA2 MMP10 MMP1 MMP12
- Extracellular matrix organization: VCAN COL5A3 MMP2 PDGFB APLP1 FN1 CCN2 SOX9 PXDN MATN3 ADAM19 ITGA7 IL6 MMP13 ADAMTS17 COL8A1 ADAM12 ADAM8 CARMIL2 ITGA2 MMP10 MMP1 MMP12
- External encapsulating structure organization: VCAN COL5A3 MMP2 PDGFB APLP1 FN1 CCN2 SOX9 PXDN MATN3 ADAM19 ITGA7 IL6 MMP13 ADAMTS17 COL8A1 ADAM12 ADAM8 CARMIL2 ITGA2 MMP10 MMP1 MMP12
- Cytokine-mediated signaling pathway: TNFRSF9 PTGS2 CEACAM1 MMP2 IL11 PDGFB CCL22 JAK3 OAS2 PRLR FN1 IL1R2 IL1RL1 TNFAIP3 IFIT2 CDKN1A IFI6 LIF PXDN IRAK2 RSAD2 IL6 SLIT2 MX1 LAPTM5 IL24 IL7R CXCL11 CXCL8 ISG20 SPHK1 TNFSF15 LCK MX2 IFIT1 ISG15 MMP1 LTB MMP12 CD24 IFI27
- Cellular response to cytokine stimulus: TNFRSF9 PTGS2 CEACAM1 MMP2 IL11 PDGFB CCL22 JAK3 OAS2 PRLR FN1 IL1R2 IL1RL1 TNFAIP3 IFIT2 DUSP1 TEX14 CDKN1A SOX9 IFI6 LIF PXDN IRAK2 RSAD2 SPRY2 IL6 SLIT2 VEGFC MX1 LAPTM5 IL24 IL7R CXCL11 CXCL8 ISG20 SPHK1 TNFSF15 LCK MX2 IFIT1 ISG15 SPRY4 MMP1 LTB MMP12 CD24 IFI27
- Response to cytokine: TNFRSF9 PTGS2 CEACAM1 MMP2 IL11 TIMP3 PDGFB CCL22 JAK3 OAS2 PRLR FN1 IL1R2 IL1RL1 TNFAIP3 IFIT2 DUSP1 TEX14 CDKN1A SOX9 IFI6 LIF PXDN IRAK2 RSAD2 SPRY2 IL6 SLIT2 VEGFC MX1 LAPTM5 IL24 SMPD1 IL7R CXCL11 CXCL8 ISG20 FOSL1 SPHK1 TNFSF15 LCK MX2 IFIT1 ISG15 SPRY4 MMP1 LTB MMP12 CD24 IFI27