天津医科大学理论课教案首页

课程名称：生物信息学　　**课程内容/章节：**第五章（5.3）基因组功能的高级注释

教师姓名：伊现富　　**职称：**讲师　　**教学日期：**2016 年 10 月 10 日 10:00-12:00

授课对象：生物医学工程与技术学院 2014 级生信班（本）　　**听课人数：**30

授课方式：理论讲授　　**学时数：**2　　**教材版本：**生物信息学：基础及应用

教学目的与要求（分掌握、熟悉、了解、自学四个层次）：

- 掌握序列标识的含义和制作工具。
- 熟悉变异位点注释结果的解析；基因集的富集分析及其结果解析；box plot 的含义及其绘制。
- 了解变异位点注释的内容和常用工具；基因集富集分析的常用工具。
- 自学变异位点注释、基因集富集分析、序列标识制作等工具的使用方法。

授课内容及学时分配：

- (5’) 回顾与导入：回顾基因组注释的基础知识，介绍功能注释的主要内容。
- (25’) 变异位点的注释：介绍变异位点注释的内容、步骤及相关的注释工具，讲解对注释结果的解析。
- (20’) 基因集富集分析：介绍基因集富集分析的用途，讲解常用的 DAVID 工具及其结果的解析。
- (25’) 序列标识：讲解序列标识的含义，介绍常用的 WebLogo 及其使用方法并讲解对结果的解析。
- (20’) box plot：介绍 box plot 及相关概念，讲解绘制 box plot 的主要步骤。
- (5’) 总结与答疑：总结授课内容中的知识点与技能，解答学生疑问。

教学重点、难点及解决策略：

- 重点：序列标识的含义；解决策略：通过制作过程的演示和对结果的解读来加深学生的理解。
- 难点：注释分析结果的解析；解决策略：通过对实例的分析帮助学生掌握解析结果的基本原则和主要步骤。

专业外语词汇或术语：

单核苷酸变异（SNV）
基因集（gene set）
GO（gene ontology）
富集分析（enrichment analysis）
序列标识（sequence logo）
箱线图（box plot）

辅助教学情况：

- 多媒体：变异位点注释、基因集富集分析的实例；序列标识和 box plot 的示意图；DAVID、WebLogo 等工具的界面；绘制 box plot 的演示视频。
- 板书：box plot 的主要绘制步骤。
- 操作演示：序列标识的制作。

复习思考题：

- 以变异位点的注释结果为例，论述如何解析一张表。
- 以 DAVAD 富集分析结果为例，论述如何解析一张表。
- 简述序列标识的含义，能解读实际的序列标识图。
- 以 box plot 为例，论述如何解析一张图。

参考资料：

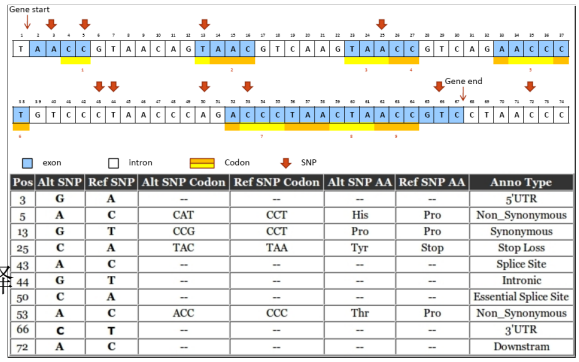
- 李霞，李亦学，廖飞。生物信息学，人民卫生出版社，2010 年。
- 朱玉贤，李毅，郑晓峰。现代分子生物学（第 3 版），高等教育出版社，2007。
- 维基百科

主任签字：　　**年　月　日**　　**教务处制**

一、回顾与导入（5 分钟）

回顾基因组注释的基础知识，介绍高级注释的内容，强调基础知识在高级注释中无处不在。

1. 基因组注释的基础知识
   - 基因组的组装版本：hg19 与 GRCh37，mm10 与 GRCm38
   - 两种坐标系统：0-based，1-based
   - 四种常用格式：FASTA，BED，GFF，VCF
   - 逻辑运算模式：intersect，subtract，join，…
2. 基因组功能的高级注释
   - 变异位点的注释：SNVs、非同义多态性的注释
   - 基因集富集分析：GO，KEGG，DAVID
   - 序列标识：WebLogo

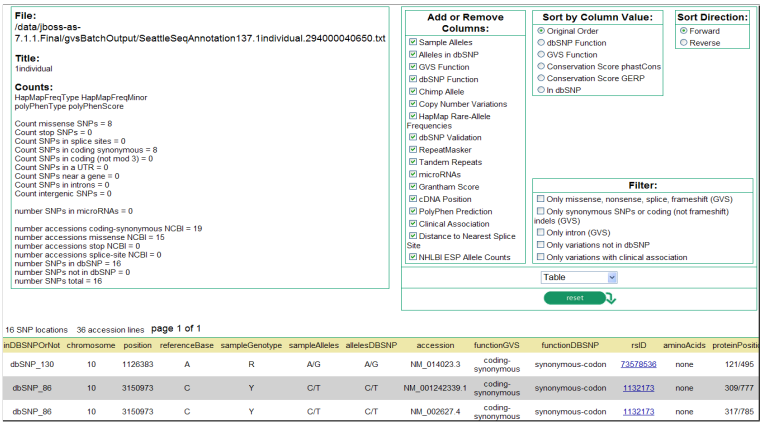


Pos	Alt SNP	Ref SNP	Alt SNP Codon	Ref SNP Codon	Alt SNP AA	Ref SNP AA	Anno Type
3	G	A	--	--	--	--	5'UTR
5	A	C	CAT	CCT	His	Pro	Non_Synonymous
13	G	T	CCG	CCT	Pro	Pro	Synonymous
25	C	A	TAC	TAA	Tyr	Stop	Stop Loss
43	A	C	--	--	--	--	Splice Site
44	G	T	--	--	--	--	Intronic
50	C	A	--	--	--	--	Essential Splice Site
53	A	C	ACC	CCC	Thr	Pro	Non_Synonymous
66	C	T	--	--	--	--	3'UTR
72	A	C	--	--	--	--	Downstram

二、变异位点的注释（25 分钟）

重点讲解对注释结果的解析及其在功能注释流程中承上启下的作用。

1. 单核苷酸变异的注释
   - 注释内容：附加相关的基因组注释信息（数据库 ID，基因名，变异功能类别，……）
   - 注释工具：SeattleSeq Annotation，variant tools，SnpEff
   - **【难点】**结果解析：SeattleSeq Annotation 的注释结果（通过实例解读注释结果；对注释结果过滤筛选后可继续进行非同义多态性的注释）
2. 非同义多态性的注释
   - 注释内容：对蛋白质产物结构和功能的影响
   - 注释工具：SIFT，PolyPhen-2，SNPs3D，PROVEAN
   - **【难点】**结果解析：SIFT 的注释结果（通过实例解读注释结果；承接 SNVs 的注释，对结果过滤筛选后可继续进行基因集的富集分析）



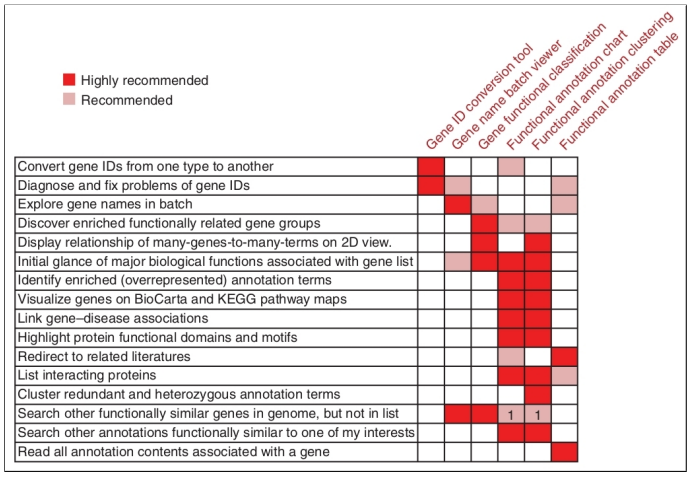
Transcript ID	Protein ID	Substitution	Region	dbSNP ID	SNP Type	Prediction	SIFT Score
ENST00000294724	ENSP00000294724	R1487G	EXON CDS	rs12118058:G	Nonsynonymous	TOLERATED	0.46
ENST00000294724	ENSP00000294724	E1405G	EXON CDS	rs28730708:G	Nonsynonymous	DAMAGING	0.01
ENST00000294724	ENSP00000294724	R1487R	EXON CDS	rs12118058:G	Synonymous	TOLERATED	0.64
ENST00000330029	ENSP00000332887	E49A	EXON CDS	novel	Nonsynonymous	DAMAGING	0.02
ENST00000371564	ENSP00000360619	T612N	EXON CDS	rs6067785:T	Nonsynonymous	DAMAGING	0
ENST00000283943	ENSP00000283943	Q1910*	EXON CDS	rs1803846:A	Nonsynonymous	N/A	N/A
ENST00000341772	ENSP00000345229	P433L	EXON CDS	rs17853365:A	Nonsynonymous	DAMAGING	0.02

三、基因集富集分析（20 分钟）

1. 基因集富集分析（承接变异位点的注释）
   - 富集分析:基因集,GO,KEGG
   - GO（Gene Ontology）
     - biological process
     - molecular function
     - cellular component
   - 结果解析（解析使用 DAVID 进行 GO 富集分析的结果）
     - 富集显著性
     - 多重检验校正

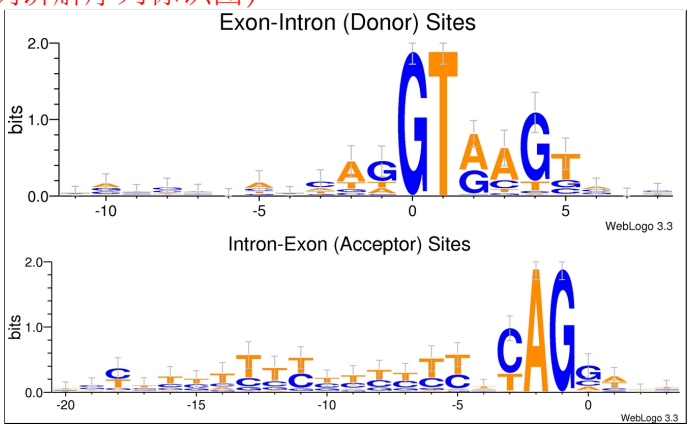
Category	Term	RT	Genes	Count	%	P.Value	Benjamini
GOTERM_CC_FAT	extracellular region	RT		40	25.8	6.9E-6	1.5E-3
GOTERM_CC_FAT	extracellular region part	RT		24	15.5	3.8E-5	4.0E-3
GOTERM_MF_FAT	oxygen binding	RT		6	3.9	3.8E-5	1.4E-2
GOTERM_CC_FAT	extracellular space	RT		19	12.3	9.4E-5	6.5E-3
GOTERM_MF_FAT	heme binding	RT		8	5.2	1.0E-4	1.9E-2
GOTERM_BP_FAT	defense response	RT		18	11.6	1.3E-4	1.7E-1
GOTERM_BP_FAT	response to bacterium	RT		10	6.5	1.4E-4	9.1E-2
GOTERM_MF_FAT	tetrapyrrole binding	RT		8	5.2	1.5E-4	1.9E-2
GOTERM_MF_FAT	iron ion binding	RT		11	7.1	4.3E-4	3.9E-2
GOTERM_BP_FAT	defense response to bacterium	RT		7	4.5	8.9E-4	3.4E-1
GOTERM_BP_FAT	response to drug	RT		9	5.8	1.5E-3	4.0E-1
GOTERM_BP_FAT	regulation of response to external stimulus	RT		7	4.5	5.2E-3	7.7E-1
GOTERM_BP_FAT	taxis	RT		7	4.5	5.4E-3	7.2E-1
GOTERM_BP_FAT	chemotaxis	RT		7	4.5	5.4E-3	7.2E-1
GOTERM_CC_FAT	hemoglobin complex	RT		3	1.9	5.7E-3	2.6E-1
GOTERM_MF_FAT	oxygen transporter activity	RT		3	1.9	5.8E-3	3.5E-1

2. DAVID 分析工具（根据任务选择工具）
   - Gene Name Batch Viewer
   - Gene ID Conversion Tool
   - Gene Functional Classification Tool
   - Functional Annotation Tool
     - Functional Annotation Clustering：根据注释信息聚类注释项目
     - Functional Annotation Chart：根据注释信息进行富集分析
     - Functional Annotation Table：以表格形式呈现注释信息



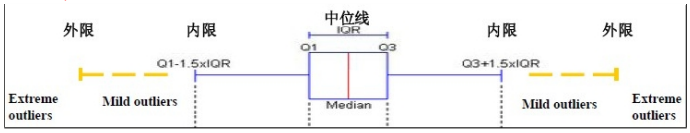
四、序列标识（25 分钟）

1. 【重点】图形含义（以“GT-AG 规则”为例讲解序列标识图）
   - 数据：多序列比对信息
   - 横轴：序列的坐标位置
   - 纵轴：比特，计量单位
   - 字符堆叠的总高度：此位置的保守性
   - 每个字符的高度：出现的相对频率
2. 制作工具（演示 WebLogo 的使用）
   - WebLogo
   - enoLOGOS
   - Skylign

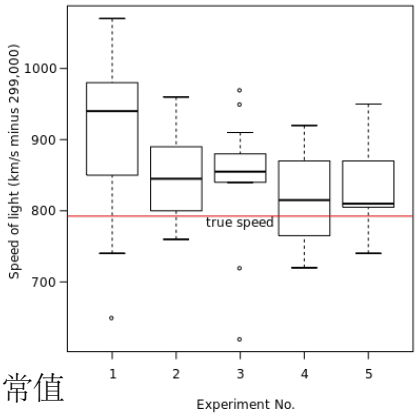


五、box plot（20 分钟）

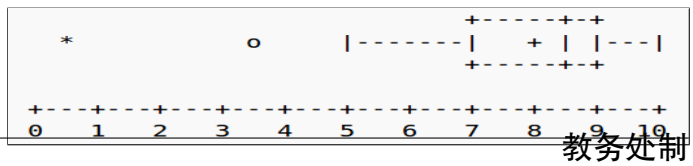
1. box plot 简介（通过实例和示意图讲解其优缺点）
   - box plot，Box-whisker Plot，箱线图
   - 1977，美国，约翰·图基（John Tukey）
   - 显示一组数据分散情况的统计图
   - 可以粗略看出数据分布的离散程度
   - 适合用于几个样本的比较
   - 不能提供数据分布偏态的精确度量



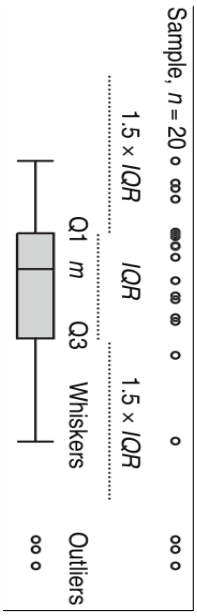
2. 相关概念（通过实例帮助学生理解记忆）
   - 最小值 min，最大值 max，中位数 median
   - 下四分位数 Q1，上四分位数 Q3
   - 四分位数差 $IQR = Q3 - Q1$
   - 内限：$Q3 + 1.5IQR$，$Q1 - 1.5IQR$
   - 外限：$Q3 + 3IQR$，$Q1 - 3IQR$
   - 异常值（outliers）：处于内限以外的数据
   - 温和的异常值（mild outliers）：在内限与外限之间的异常值
   - 极端的异常值（extreme outliers）：在外限以外的异常值



3. 图解概念
   - $min = 0.5, max = 10$
   - $Q1 = 7, Q3 = 9, IQR = 2$
   - $median = 8.5, mean = 8$



4. 绘图步骤（通过观看视频学习绘图的具体步骤）
    - 绘制数轴。
    - 计算上四分位数（Q3），中位数，下四分位数（Q1）。
    - 计算四分位数差（IQR）。
    - 绘制箱线图的矩形，上限为 Q3，下限为 Q1。在矩形内部中位数的位置画一条横线（中位线）。
    - 在 $Q3+1.5IQR$ 和 $Q1-1.5IQR$ 处画两条与中位线一样的线段，这两条线段为异常值截断点，称为内限；在 $Q3+3IQR$ 和 $Q1-3IQR$ 处画两条线段, 称为外限。
    - 在非异常值的数据中，最靠近上边缘和下边缘（即内限）的两个数值处画横线，作为箱线图的触须。
    - 从矩形的两端向外各画一条线段直到不是异常值的最远点（即上一步的触须），表示该批数据正常值的分布区间。
    - 温和的异常值用空心圆表示；极端的异常值用实心点（一说用星号 *）表示。
5. 绘图工具：BoxPlotR，ECplot，R，…



六、总结与答疑（5 分钟）

1. 知识点
    - 变异位点的注释：用途，注释工具
    - 基因集富集分析：功能，分析工具
    - 序列标识：含义，制作工具
    - box plot：理解，绘制
2. 技能
    - 解析表格：行列，缩写，数值
    - 解析图片：数据，横纵轴，图元素，元素大小、颜色