



VILNIAUS UNIVERSITETAS
MATEMATIKOS IR INFORMATIKOS FAKULTETAS
BIOINFORMATIKOS BAKALAURO STUDIJŲ PROGRAMA

tbx5 ir *tcf21* genų įtakos regeneracijai tyrimai
Research of the *tbx5* and *tcf21* genes' functions in regeneration

Kursinis darbas

Autorius: Danielė Stasiūnaitė
VU el. p.: (daniele.stasiunaite@mif.stud.vu.lt)

Darbo vadovas: J. Asist. Kotryna Kvederavičiūtė

Vilnius
2022

Turinys

1	Įvadas	4
2	Duomenys	5
3	Tyrimo metodai	6
3.1	<i>Tbx5</i> regionų skaičiaus nustatymas mėginiuose	6
3.2	<i>Tbx5</i> regionų skaičiaus pasiskirstymas chromosomose	6
3.3	Persidengiančių regionų mėginiuose analizė	6
3.4	<i>Tbx5</i> motyvo nustatymas	6
3.5	Motyvų paieška <i>de novo</i>	6
4	Antros dalies pavadinimas	7
4.1	Skyriaus pavadinimas	7
4.2	Skyriaus pavadinimas	7
5	Rezultatų apžvalga	8
6	Priedas	10
7	Literatūros apžvalga	10

Santrauka

Darbo santrauka.

Raktiniai žodžiai: TF, ChIP-seq

Summary

Short summary of results.

Keywords?

1 Įvadas

2 Duomenys

Tyrime naudoti duomenys atsisiųsti iš *GTRD* (Gene Transcription Regulation Database) duomenų bazės, saugančios informaciją apie įvairių transkripcijos faktorių jungimosi prie DNR sekų regionus. Ši duomenų bazė pasirinkta dėl sistemiškai surinktų ChIP-seq eksperimentų, kurių metu gauti rezultatai unifikuotai apdorojami ir paruošiami tyrėjų analizėms. Taip pat *GTRD* duomenų bazėje duomenys saugomi binariniu anotacijų formatu *bigBed*, leidžiančiu atvaizduoti pasirinktą chromosomos regioną genomų naršyklėje sparčiau ir efektyviau nei tekstinis *BED* formatas.

Žemiau esančioje lentelėje pateikta informacija apie tyrimui atlikti naudotus duomenis, surinktus iš naminės pelės (*lot. Mus musculus*) ląstelių. Visi duomenys gauti iš eksperimentų, kurių metu buvo siekiama išsiaiškinti *tbx5* ir kitų transkripcijos faktorių įtaką naujų širdies ląstelių, kardiomiocitų, susidarymui bei širdies funkcijų atsistatymui po ištikusio infarkto arba kitų, su širdies pažeidimais susijusių, sutrikimų.

1 lentelė. Mėginių charakteristikos

GTRD ID	Ląstelių tipas	Sąlygos pritaikymas	Antikūnai	PubMed ID
EXP030893	HL - 1 (širdies raumens)	Kontrolė	-	21415370
EXP058852	Širdies prieširdžių	Kamienas: C57BL/6; vystymosi stadija: p4	Tbx5 (sc-17866)	31080136
EXP062056	Pelių naujagimių širdies fibroblastų, ekspresuojančių didelį kiekį T antigeno, linija	Kamienas: CD1; sąlyga: sb431542, xav939	anti-TBX5 (sc-17866x)	31271750
EXP058843	MEF (embrionų fibroblastai)	Kamienas: C57BL/6; sąlyga: AGHMT (2 d.)	anti-Tbx5 (sc-17866)	31080136
EXP058847	MEF (embrionų fibroblastai)	Kamienas: C57BL/6; sąlyga: GHMT (2 d.)	Tbx5 (sc-17866)	31080136
EXP058850	MEF (embrionų fibroblastai)	Kamienas: C57BL/6; sąlyga: GMT (2 d.)	Tbx5 (sc-17866)	31080136
EXP058856	MEF (embrionų fibroblastai)	Kamienas: C57BL/6; sąlyga: vienas faktorius (2 d.)	Tbx5 (sc-17866)	31080136

Tyrimui atlikti pasirinkti septynių eksperimentų duomenys tarp kurių buvo tiriami keturi embrionų fibroblastų kamienai, kuriems dvi dienas taikytos skirtingos sąlygos: veikimas AGHMT (AKT1 - serino/treonino kinazė 1; GATA4, HAND2, MEF2C, TBX5 - kardiogeniniai transkripcijos faktoriai), GHMT, GMT ir tik vienu transkripcijos faktoriumi, kuris nebuvo specifikuotas.

Taip pat tirti pelių naujagimių fibroblastai, veikti inhibitoriais: sb431542, skatinančiu kardiomiocitų diferenciaciją iš pluriotentinių kamieninių ląstelių, ir xav939, sukeliančiu progenitorinių ląstelių kardiomiogenezę.

Į duomenų rinkinį įtraukti du mėginiai, kuriems nebuvo taikytos papildomos sąlygos: kontrolinis HL - 1 širdies raumens ląstelių mėginys bei p4 vystymosi stadijos širdies prieširdžių ląstelių mėginys.

3 Tyrimo metodai

Tbx5 transkripcijos faktoriaus regionų tyrimo analizė atlikta su R programavimo kalba (4.2.0 versija). Žemiau esančiuose atskiruose analizės etapų skyriuose nurodomos R bibliotekos ir papildomi komandinės eilutės įrankiai, kuriais naudojantis pasiekti tarpiniai analizės etapų rezultatai.

3.1 *Tbx5* regionų skaičiaus nustatymas mėginiuose

Tbx5 regionų skaičius skirtinguose mėginiuose apskaičiuotas *rtracklayer* bibliotekos sukurtam *GRanges* objektui, aprašančiam genomines pozicijas bei su jomis susijusias anotacijas, pritaikius standartinę R ilgio funkciją *length()*. Regionų skaičių mėginiuose atvaizduojanti stulpelinė diagrama sukurta su *ggplot2* bibliotekos *geom_bar()* funkcija.

3.2 *Tbx5* regionų skaičiaus pasiskirstymas chromosomose

Transkripcijos faktoriaus regionų skaičius skirtingose chromosomose suskaičiuotas, naudojantis standartine R funkcija *length()*, pritaikyta atskiroms chromosomoms, kurių pozicijos aprašytos *GRanges* objekte. Kiekvieno mėginio *Tbx5* transkripcijos faktoriaus pasiskirstymas chromosomose atvaizduotas su *ggplot2* biblioteka, panaudojus papildomą funkciją *facet_wrap()*, sukuriančia atskirus grafikus chromosomoms.

3.3 Persidengiančių regionų mėginiuose analizė

Persidengiančių regionų tarp mėginių procentinė dalis apskaičiuota su *Jaccard()* funkcija, apskaičiuojančia, kiek yra sutampančių regionų tarp dviejų mėginių poros. Gauti rezultatai atvaizduoti spalvų intensyvumo grafike *angl. heatmap*, sukurtame *ggplot2* bibliotekos funkciją *ggplot* papildžius funkcija *geom_tile()*.

3.4 *Tbx5* motyvo nustatymas

Tekstas.

3.5 Motyvų paieška *de novo*

Tekstas.

4 Antros dalies pavadinimas

4.1 Skyriaus pavadinimas

Grafikams įterpti:

4.2 Skyriaus pavadinimas

5 Rezultatų apžvalga

Pateikiami svarbiausi rezultatai, apibendrinimai.

Literatūra

- [1] 1. Yang Yang; R. Leipus, J. Šiaulys. Asymptotics for randomly weighted and stopped dependent sums, *Stochastics: an international journal of probability and stochastic processes*, 2016, **88**(2), p.p. 300-319.
- [2] T. Erhardsson. Stein's method for Poisson and compound Poisson approximation, *In: An Introduction to Stein's Method. Lect. Notes Ser. Inst. Math. Sci. Natl. Univ. Singap. v. 4*, Singapore: Singapore Univ. Press, 2005, p.p. 61–113.
- [3] R. Kaas, M. Goovaerts, J. Dhaene and M. Denuit. *Modern Actuarial Risk Theory: using R.* (Second ed.), Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 2008, 393 p.
- [4] V. Stakėnas, *Tikimybių teorija ir matematinė statistika* (rankraštis), 2012, 178 p. , <http://www.statistika.mif.vu.lt/atsisiuntimui/statistika/>

6 Priedas

Programiniam kodui pateikti galima naudoti `\verbatim` komandą:

```
R arba Python programinis kodas.
```

7 Literatūros apžvalga

Literatūros darbo tema apžvalga. Cituojant [1, 3]. Nepamirškite `pdflatex` įvykdyti bent du kartus, kad pamatytumėte citavimą, ne klausukus.