

# 转录组学蛋白组学联合分析

## 一、实验目的

1.1 通过转录组与蛋白质组联合分析，系统解析人膀胱移行细胞癌 T24-RC48

耐药细胞模型中基因表达与蛋白质水平的关联性与差异性。

1.2 筛选在转录和蛋白层面上共同显著变化的基因/蛋白，挖掘参与耐药的生物学功能及信号通路，揭示耐药相关的潜在调控机制。

1.3 验证转录水平变化是否直接决定蛋白质丰度变化，探究多组学协同调控网。

## 二、实验流程

### 2.1 样本信息与分组

转录组样本：T24-R-high（高度耐药）、T24-R-middle（中度耐药）、T24-R-low（低度耐药）、T24-R-control（野生型）。

蛋白组样本：同转录组样本。

### 2.2 差异分析标准

转录组： $| \log_2 FC | \geq 1.0, p_{adj} < 0.05$ .

蛋白质组： $| \log_2 FC | \geq 0.263, p_{value} < 0.05$

### 2.3 联合分析流程

总体结果比较：Venn 分析、基因表达分布、相关性分析。

差异结果比较：差异基因/蛋白统计、Venn 分析、聚类热图。

## 2.4 数据挖掘分析

GO功能富集：共有GO功能(BP, MF, CC)挖掘。

KEGG通路富集：共有通路筛选，结合通路图及网络图解析。

关键基因筛选：基于其表达趋势(如up-up等)及PPI网络分析。

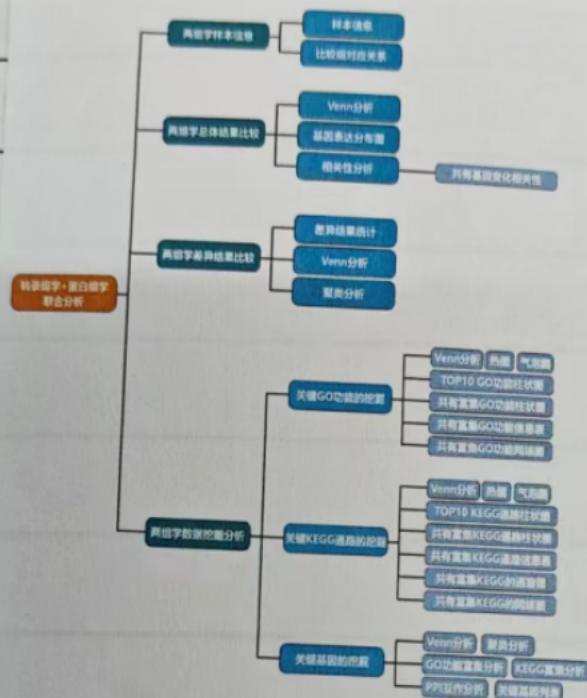


图1 联合分析流程及方法

## 三、实验结果

### 3.1 两组学总体结果比较



图2 差异基因 Venn 图

基因表达分布图(图3)显示，转录组基因表达覆盖更广，蛋白质组集中在中低区域。

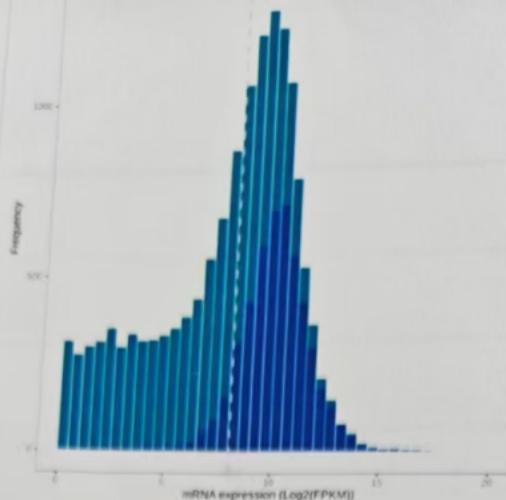


图 3 基因表达分布图

相关性分析是指对两个或多个具备相关性的变量元素进行分析，从而衡量两个变量因素的相关密切程度。我们采用线性拟合的方式( $y=kx+b$ )对转录组学和蛋白质组学的共有基因进行相关性分析，帮助我们分析在相同生理病理条件下实验组与对照组的基因在转录水平和蛋白水平整体相关性。

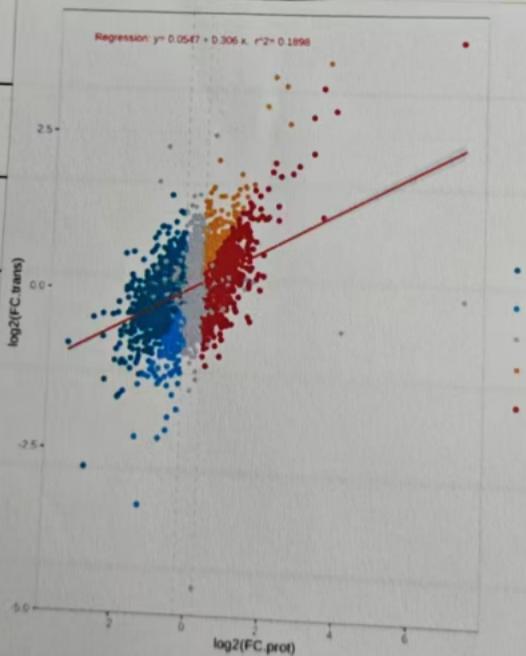


图 4 基因变化相关性图

### 3.2 两组学差异比较

我们将bulk转录水平上的组间差异表达结果与蛋白质水平上的组间差异表达结果进行分析比较。本项目中转录组学筛选标准为:  $| \log_2 FC | \geq 1.0$ ,  $P_{adj} < 0.05$ ; 蛋白质组学筛选标准为:  $| \log_2 FC | \geq 0.263$ ,  $p_{value} < 0.05$ 。

两组学差异量统计结果如下表：

联合分析方案名	转录组学			蛋白组学		
	UP	DOWN	ALL	UP	DOWN	ALL
uniteT24_high_vs_uniteT24_low	1118 <sup>-2</sup>	941 <sup>-2</sup>	2059 <sup>-2</sup>	1229 <sup>-2</sup>	1327 <sup>-2</sup>	2556 <sup>-2</sup>
uniteT24_high_vs_uniteT24_mode	413 <sup>-2</sup>	355 <sup>-2</sup>	768 <sup>-2</sup>	1260 <sup>-2</sup>	1266 <sup>-2</sup>	2526 <sup>-2</sup>
uniteT24_mode_vs_uniteT24_low	360 <sup>-2</sup>	212 <sup>-2</sup>	572 <sup>-2</sup>	1094 <sup>-2</sup>	1081 <sup>-2</sup>	2175 <sup>-2</sup>
uniteT24_mode_vs_uniteT24_con	359 <sup>-2</sup>	484 <sup>-2</sup>	843 <sup>-2</sup>	723 <sup>-2</sup>	820 <sup>-2</sup>	1543 <sup>-2</sup>
uniteT24_low_vs_uniteT24_con	1089 <sup>-2</sup>	1129 <sup>-2</sup>	2218 <sup>-2</sup>	894 <sup>-2</sup>	1049 <sup>-2</sup>	1943 <sup>-2</sup>
uniteT24_low_vs_uniteT24_low	569 <sup>-2</sup>	379 <sup>-2</sup>	948 <sup>-2</sup>	424 <sup>-2</sup>	519 <sup>-2</sup>	943 <sup>-2</sup>

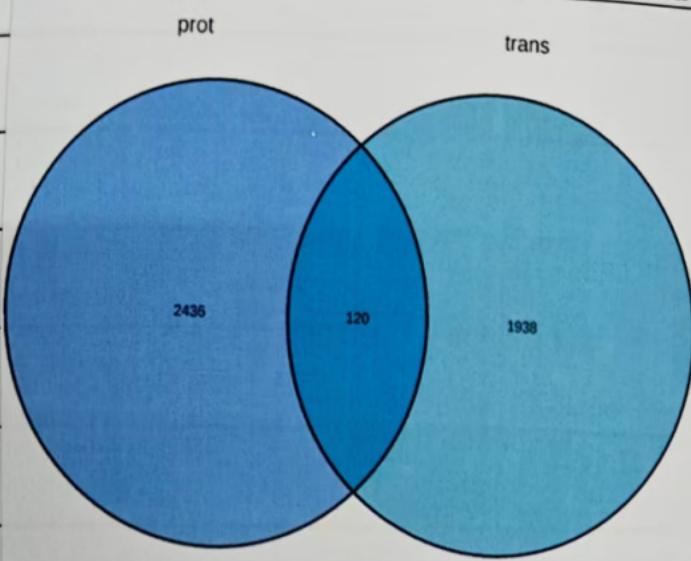
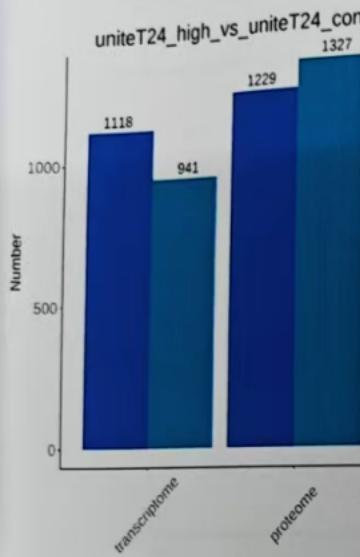


图 6 差异结果 Venn 分析图

在对上述 Venn 分析中  
得到的共有差异基因在  
两个组学中的FC值 (log<sub>2</sub>FC)  
进行聚类热图分析，  
结果展示如右图：

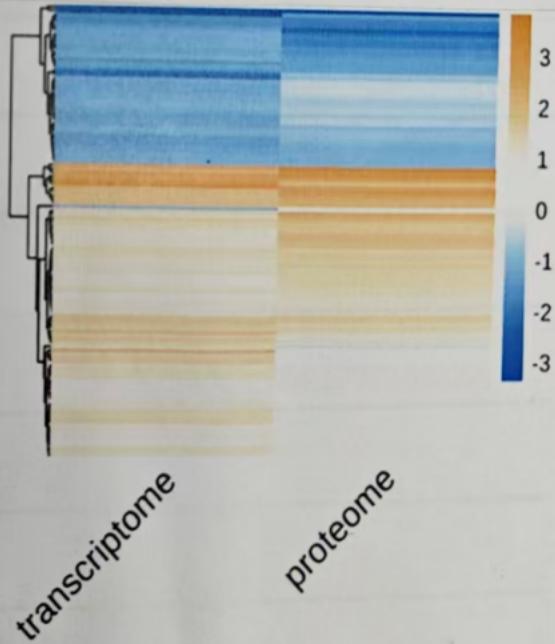


图 7 聚类分析热图

3.3. 两组学数据挖掘分析  
基因本体论见“转录组学数据分析 3.2”。它主要包含三个分支：细胞组  
件、分子功能和生物过程。本项目对两组学的差异 mRNA 和差异蛋白质分别

富集的 GO 功能结果进行分析比较，

以确定关键变化的 GO 功能。

对两组学差异分子分别富集到的

显著 GO 功能 (转录组学:  $p\text{-value} < 0.05$ ;

蛋白组学:  $p\text{-value} < 0.05$ ) 进行 Venn 分析，

结果如右图所示：

利用并集两组学 GO 功能

富集结果 ( $p\text{-value} < 0.05$ ) 和

$p\text{-value}$  值进行聚类热图

分析。结果展示右图所示：

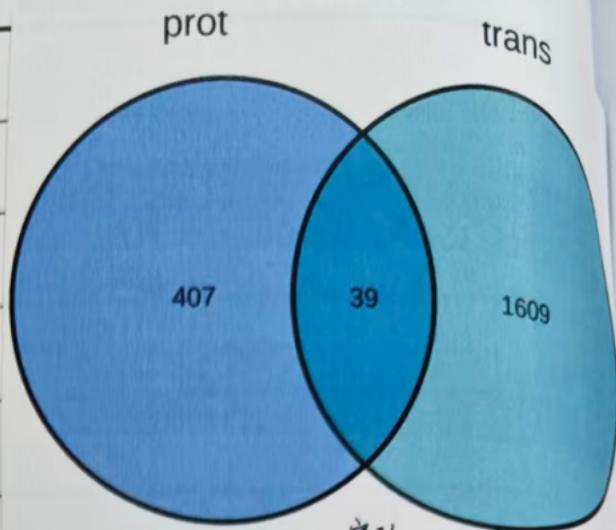


图 8. GO 功能富集 Venn 图

uniteT24\_high\_vs\_uniteT24\_con

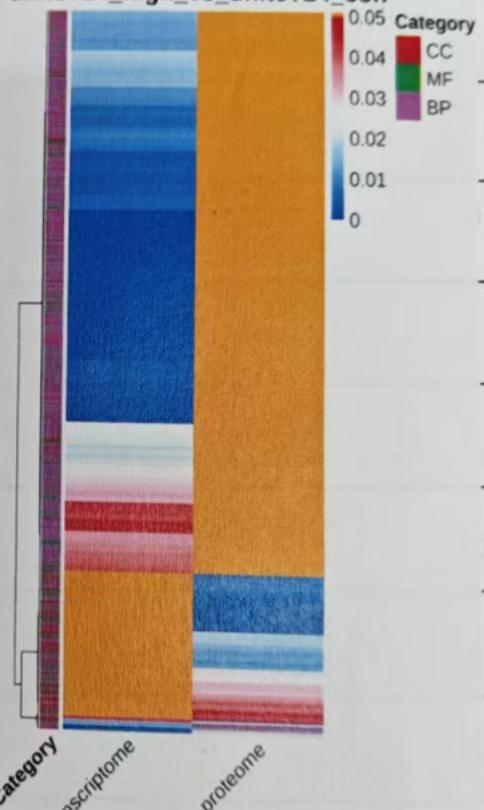


图 9 GO 功能热图

气泡图不仅直观展示了各组学显著性富集到的 GO 功能，同时也直观反映出两组学 GO 功能富集结果的共性和特异性。

基于两组学差异分子富集到的 GO 功能，我们以富集显著性  $p\text{-value}$  值从小到大进行排序，选择各组学  $p\text{-value}$  值最小的前 10 条通路以气泡图形式呈现如下。

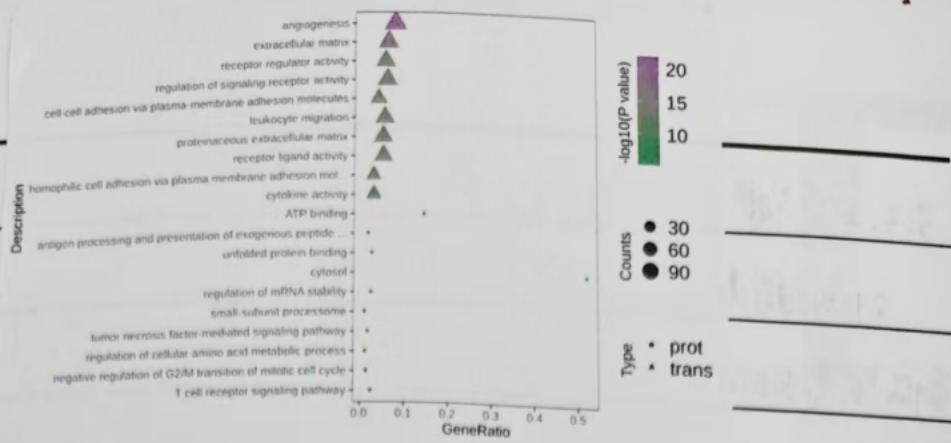


图 10 GO 功能气泡图

究竟哪些GO功能富集到了更多数量的差异分子(mRNA或蛋白)呢？

我们进行加和统计，并优先选择总差异分子数最多的前 10 条 GO 功能进行展示，以便帮助研究者了解本项目差异分子集中注释到哪些 GO 功能上了。(GO 功能数不足 10 条，则全部展示)。

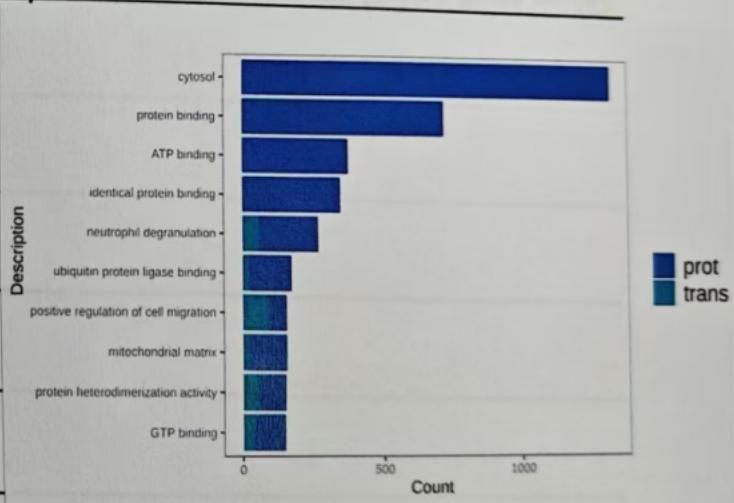


图 11 TOP10 GO 功能柱状图

两组学共同 GO 功能通常也被

关注。默认在共有 GO 功能，优先

展示 Top10；柱子展示差异 mRNA 和  
差异蛋白 count 数的累积加和)

共有富集 GO 功能。

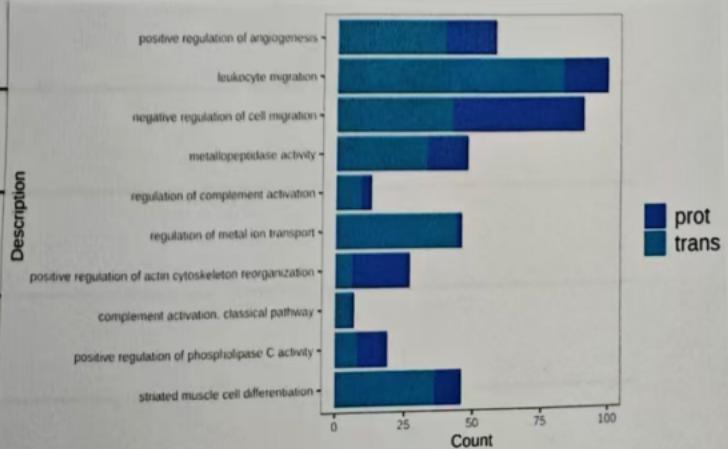


图 12 共有富集 GO 功能柱状图

### 3.3.2 关键KEGG通路富集

对两组差异分子分别富集

到底哪些KEGG通路(转录组学:

$p_{\text{value}} < 0.05$ ; 蛋白组学:  $p_{\text{value}} < 0.05$ )

进行Venn分析。

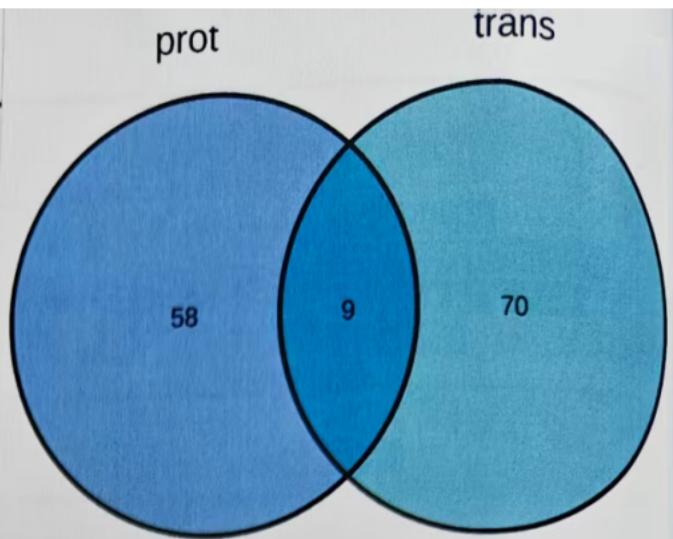


图 13 KEGG 通路富集 Venn 图

利用并集两组学KEGG

通路富集结果( $p_{\text{value}} < 0.05$ )

从 $p_{\text{value}}$ 值进行聚类热

图分析。

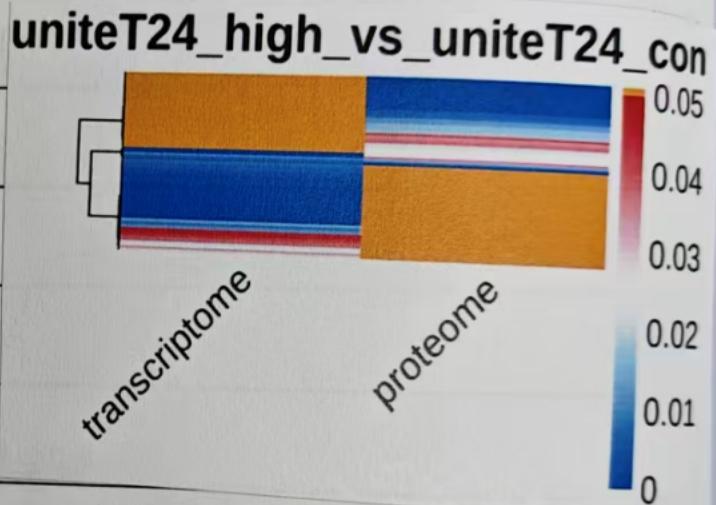


图 14 KEGG 通路热图

气泡图: 基于两组学

差异分子富集到KEGG

通路, 我们从小到大排

序, 选择各组学 $p_{\text{value}}$

值最小的前10条通路

以气泡图形式呈现。

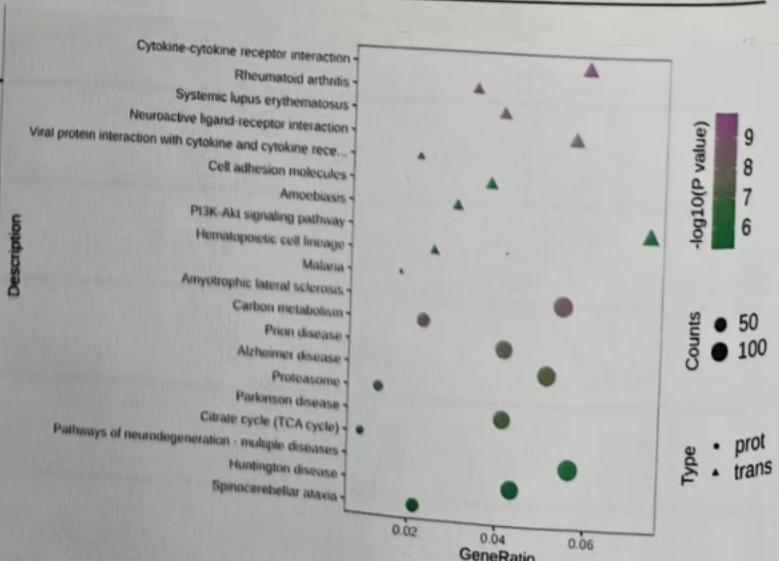


图 15 KEGG 通路气泡图

究竟哪些KEGG通路富集到更多数量差异分子(mRNA或蛋白)呢? 加和统计,优先选择总差异分子数最多的前10条通路展示(不足10则全部展示)。

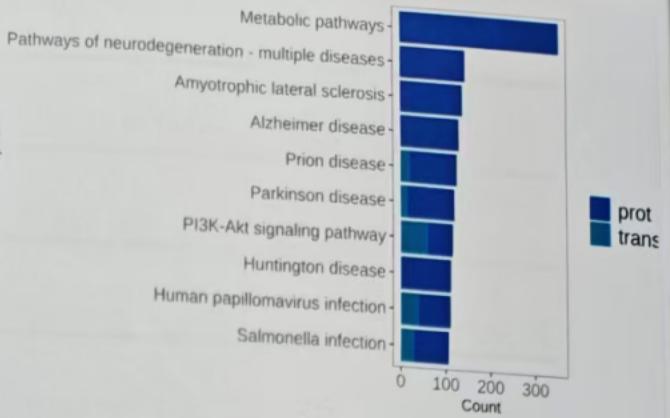


图 16 TOP10 KEGG 通路柱状图

两组学共有KEGG通路优先展示Top10(即按照p-value\_rank 排出共富集KEGG通路):柱子展示差异mRNA和差异蛋白Count 数的累积加和共有KEGG通路

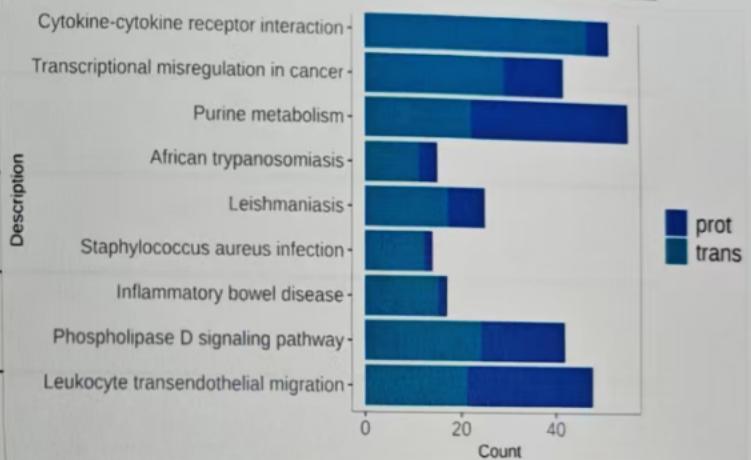


图 17 共有富集 KEGG 通路柱状图

### 3.3 关键基因分析

在转录组和蛋白组具有共同变化趋势的基因往往参与调控相同的信号通路。本项目通过对关键基因的挖掘分析,以发现关键的mRNA或蛋白探究更深入的生物学过程。

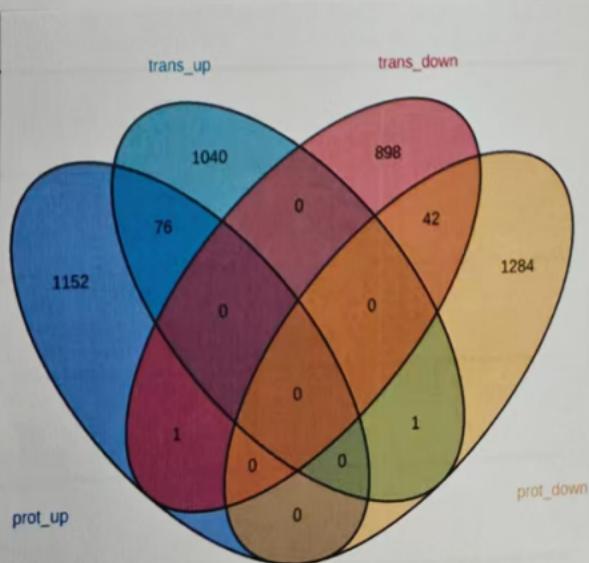


图 18 差异基因变化趋势 Venn 图

同时，我们提示用象限图来展示两组学的共有差异分子。转录组学和蛋白组学均表达上调的基因，简称UP-UP；转录组学表达上调，蛋白组学表达下调的基因，简称UP-DOWN，反之，则为DOWN-UP；转录组学和蛋白组学均表达下降的基因，简称DOWN-DOWN。

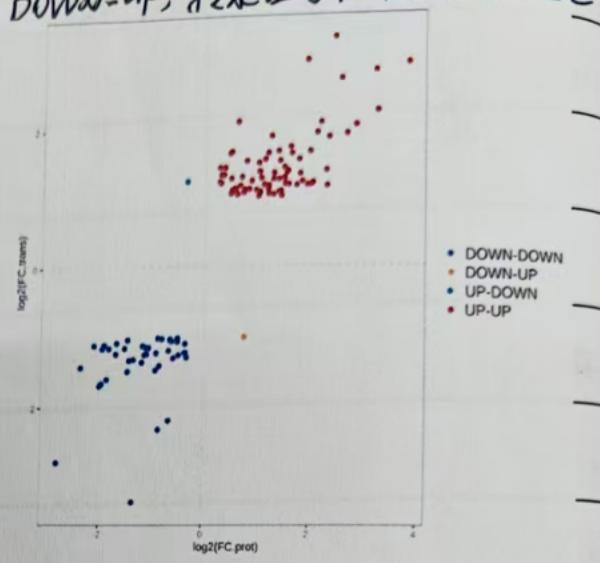


图 19 共有差异基因四象限图

对上述的 4 类基因分别进行的 GO 功能富集分析，推测其可能参与的生物学功能，结果以柱状图和气泡图分别展示如下：

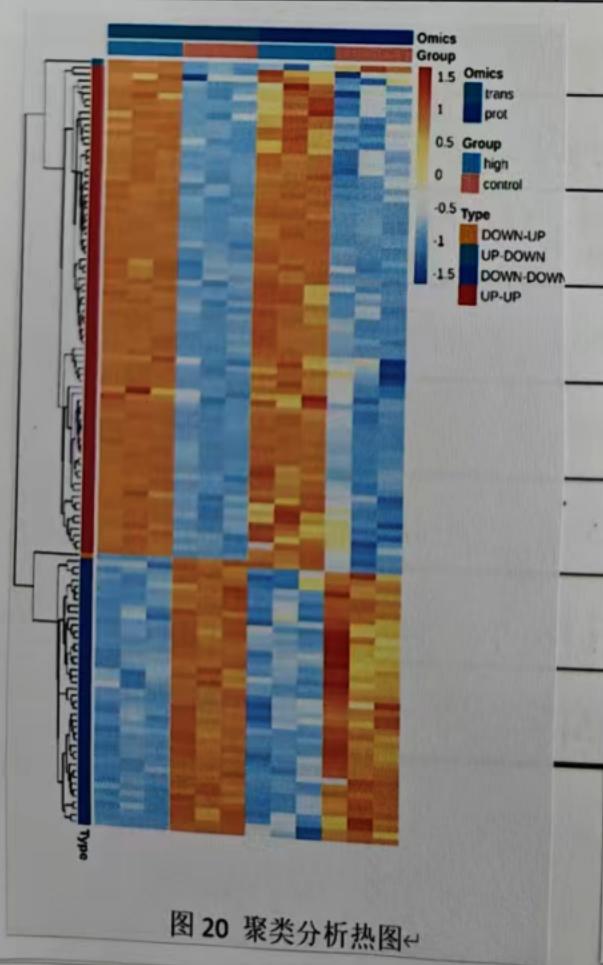


图 20 聚类分析热图

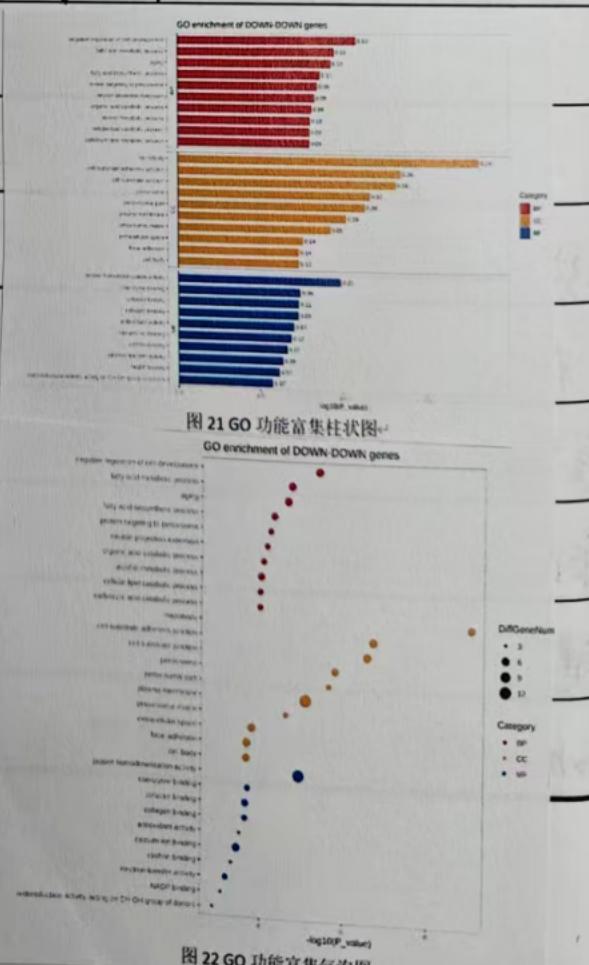


图 22 GO 功能富集气泡图

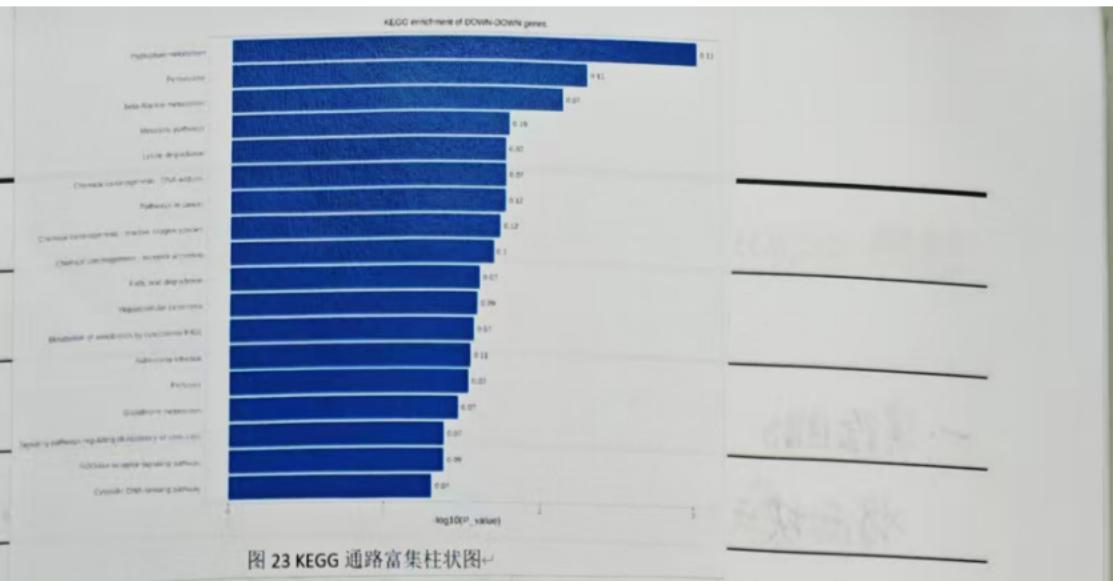


图 23 KEGG 通路富集柱状图

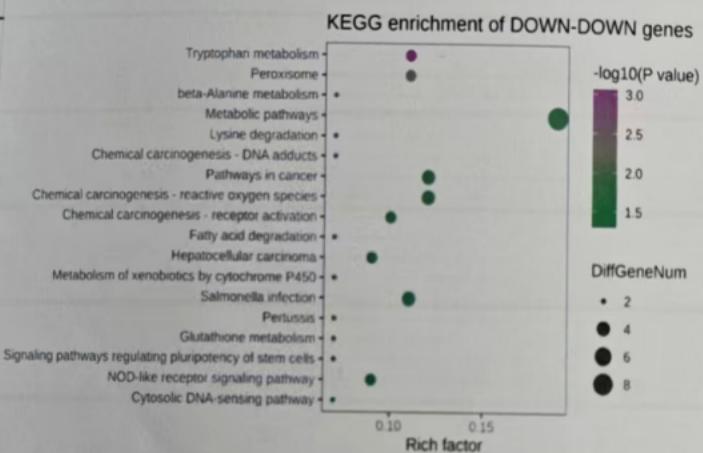


图 24 KEGG 通路富集气泡图

#### 四、结果分析

本研究通过整合转录组与蛋白质组数据，系统解析了人膀胱移行细胞癌T24-RC48耐药模型的分子调控特征。结果显示，两组学在基因表达层面存在显著差异，且转录与蛋白水平的变化趋势呈现一定非同步性，提示耐药机制可能涉及转录后调控及蛋白翻译修饰等复杂过程。上述发现为深入解析RC48耐药机制提供了重要线索，其多组学联合分析策略也为后续耐药机制研究奠定了数据基础，具有潜在的科学价值与应用前景。