Reikšmingai skirtingos raiškos genų paieška tarp plaučių vėžio tipų

Mantas Bernotas

Šio darbo tikslas - rasti reikšmingai skirtingos raiškos genus tarp dviejų plaučių vėžio tipų. Naudojami duomenys yra "cel" formato failai, su vėžinių ląstelių pavyzdžių genų raiškos profiliais. Prieš analizuojant duomenis, jie yra apdorojami. Tada patikrinama mikrogardelių kokybė. Galiausiai duomenys analizuojami ir reikšmingai skirtingos raiškos, tarp dviejų plaučių vėžio tipų, genai vizualizuojami vulkano tipo grafikuose. Taip pat sugeneruojami "csv" failai (išsaugomi aplanke "All"), kuriuose pateikiami reikšmingai skirtingos raiškos genai su jiems apskaičiuotais statistiniais parametrais.

Importuojamos reikalingos Bioconductor bibliotekos

```
library(affy)
library(simpleaffy)
library(RColorBrewer)
library(affyPLM)
library(limma)
library(hgu133plus2.db)
library(annotate)
require(ggplot2)
```

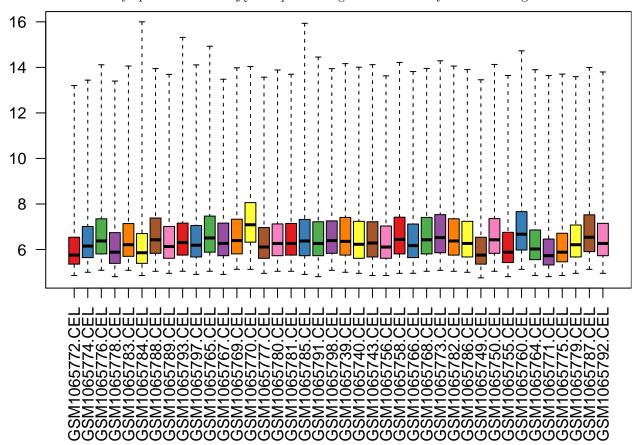
Nuskaitomi CEL failai is "celfiles" aplanko, pagal "annotation.txt" faile nurodytą tvarką.

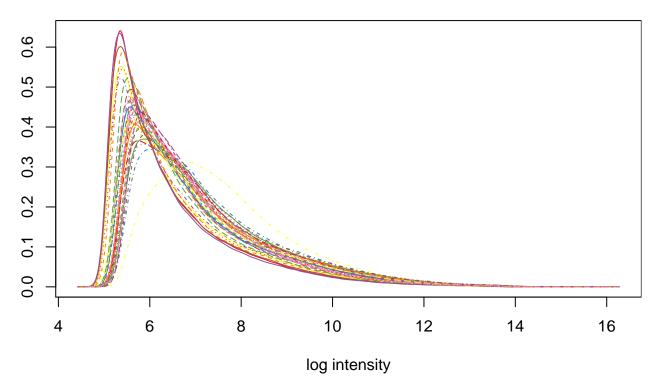
```
##
                Name
                           FileName Factors
## 1
      GSM1065772.CEL GSM1065772.CEL
                                        ACs1
      GSM1065774.CEL GSM1065774.CEL
                                        ACs1
      GSM1065776.CEL GSM1065776.CEL
                                        ACs1
## 3
      GSM1065778.CEL GSM1065778.CEL
##
                                        ACs1
## 5
      GSM1065783.CEL GSM1065783.CEL
                                        ACs1
      GSM1065784.CEL GSM1065784.CEL
                                        ACs1
      GSM1065788.CEL GSM1065788.CEL
## 7
                                        ACs1
## 8
      GSM1065789.CEL GSM1065789.CEL
                                        ACs1
      GSM1065793.CEL GSM1065793.CEL
                                        ACs1
## 10 GSM1065797.CEL GSM1065797.CEL
                                        ACs1
  11 GSM1065765.CEL GSM1065765.CEL
                                        ACs2
## 12 GSM1065767.CEL GSM1065767.CEL
                                        ACs2
## 13 GSM1065769.CEL GSM1065769.CEL
                                        ACs2
## 14 GSM1065770.CEL GSM1065770.CEL
                                        ACs2
## 15 GSM1065777.CEL GSM1065777.CEL
                                        ACs2
## 16 GSM1065780.CEL GSM1065780.CEL
                                        ACs2
## 17 GSM1065781.CEL GSM1065781.CEL
                                        ACs2
  18 GSM1065785.CEL GSM1065785.CEL
                                        ACs2
  19 GSM1065791.CEL GSM1065791.CEL
                                        ACs2
## 20 GSM1065798.CEL GSM1065798.CEL
                                        ACs2
## 21 GSM1065739.CEL GSM1065739.CEL
                                       SCCs1
## 22 GSM1065740.CEL GSM1065740.CEL
                                       SCCs1
## 23 GSM1065743.CEL GSM1065743.CEL
                                       SCCs1
## 24 GSM1065756.CEL GSM1065756.CEL
                                       SCCs1
  25 GSM1065758.CEL GSM1065758.CEL
                                       SCCs1
## 26 GSM1065766.CEL GSM1065766.CEL
                                       SCCs1
```

```
## 27 GSM1065768.CEL GSM1065768.CEL
                                       SCCs1
  28 GSM1065773.CEL GSM1065773.CEL
                                       SCCs1
                                       SCCs1
  29 GSM1065782.CEL GSM1065782.CEL
  30 GSM1065786.CEL GSM1065786.CEL
                                       SCCs1
##
##
  31 GSM1065749.CEL GSM1065749.CEL
                                       SCCs2
  32 GSM1065750.CEL GSM1065750.CEL
                                       SCCs2
##
  33 GSM1065755.CEL GSM1065755.CEL
                                       SCCs2
     GSM1065760.CEL GSM1065760.CEL
                                       SCCs2
##
     GSM1065764.CEL GSM1065764.CEL
                                       SCCs2
  36 GSM1065771.CEL GSM1065771.CEL
                                       SCCs2
  37 GSM1065775.CEL GSM1065775.CEL
                                       SCCs2
  38 GSM1065779.CEL GSM1065779.CEL
                                       SCCs2
  39 GSM1065787.CEL GSM1065787.CEL
                                       SCCs2
  40 GSM1065792.CEL GSM1065792.CEL
                                       SCCs2
```

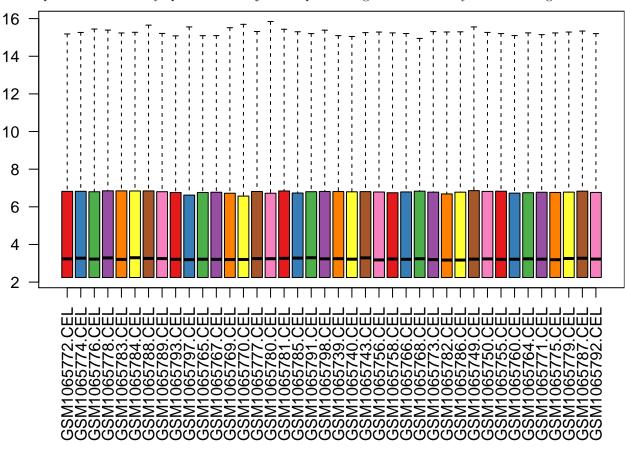
Apdorojami duomenys

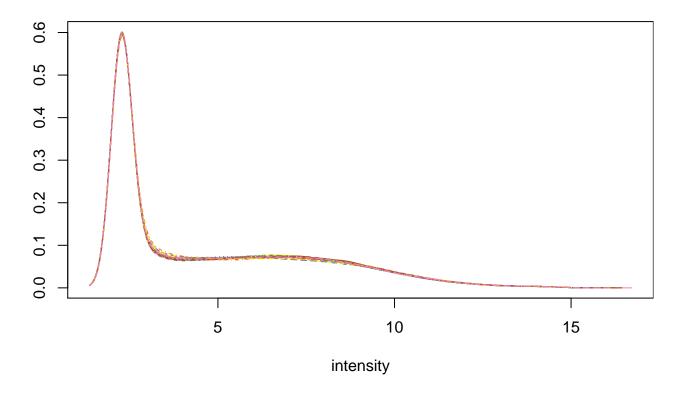
Pateikiami duomenys prieš normalizaciją "Boxplot" ir logaritminio intensyvumo tankio grafikais.





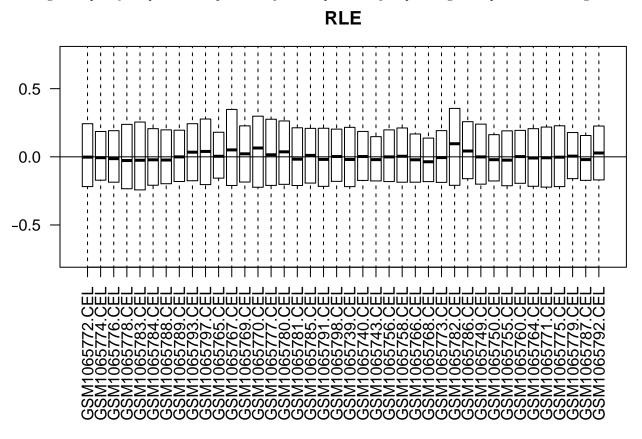
Toliau pateikiami duomenys po normalizacijos "Boxplot" ir logaritminio intensyvumo tankio grafikais.



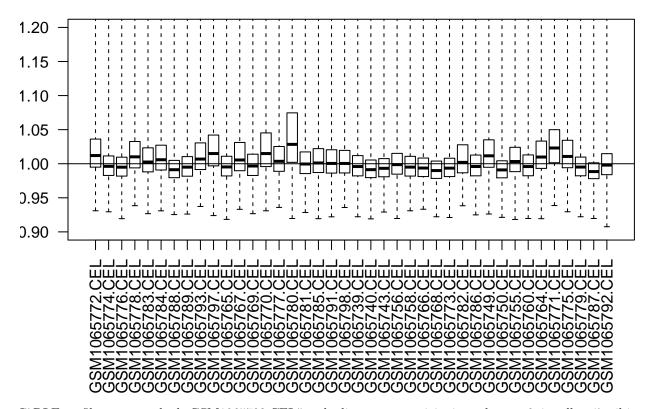


Nustatinėjama mikrogardelių kokybė

Mikrogardelių kokybės įvertinimui pavaizduojami visų analizuojamų mikrogardelių RLE ir NUSE grafikai.



NUSE

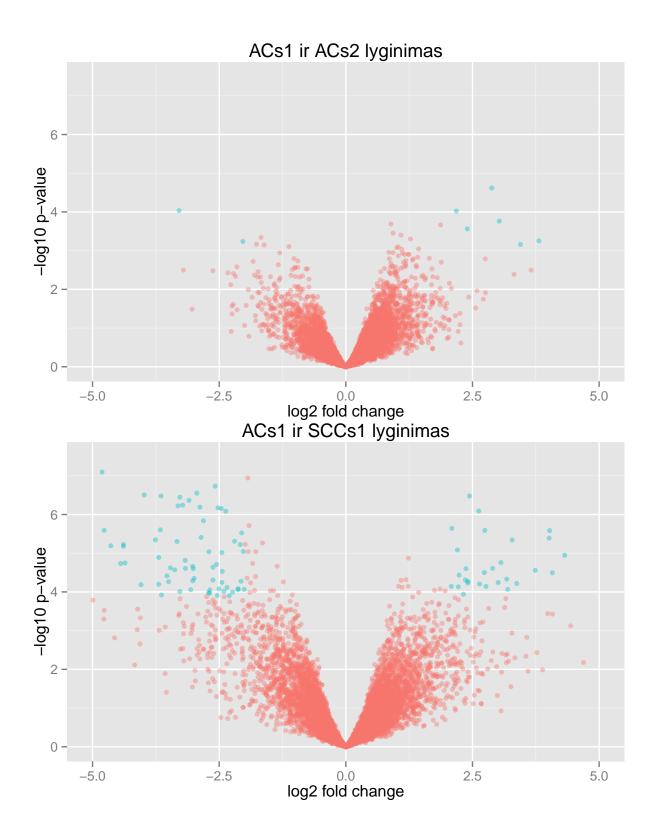


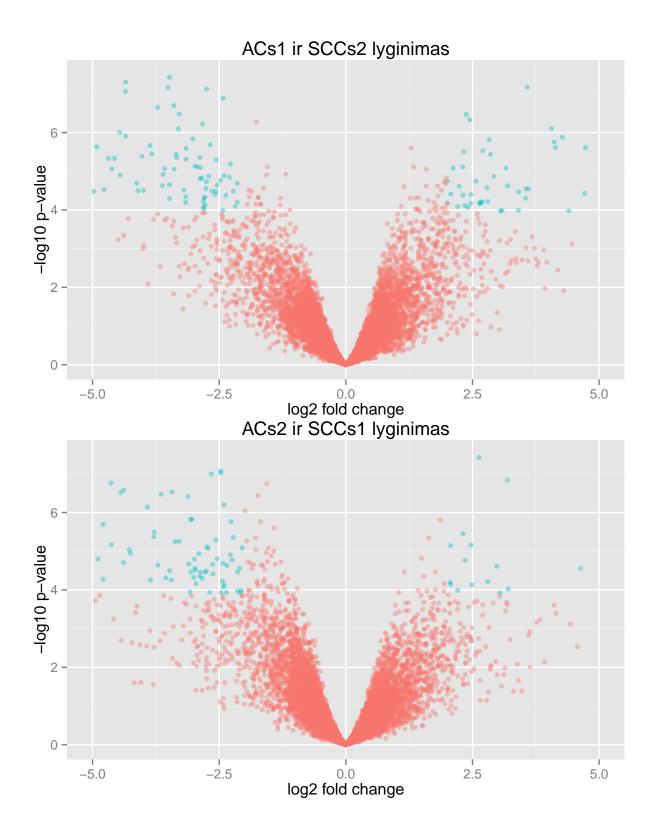
Iš RLE grafiko matome, kad "GSM1065782.CEL" stulpelio centras ganėtinai nutolęs nuo 0, ir galbūt jį reikėtų pakeisti kitu failu. Tačiau šis nuokrypis nėra toks reikšmingas, kad įtakotus rezultatus, todėl paliekame tą patį "cel" failą.

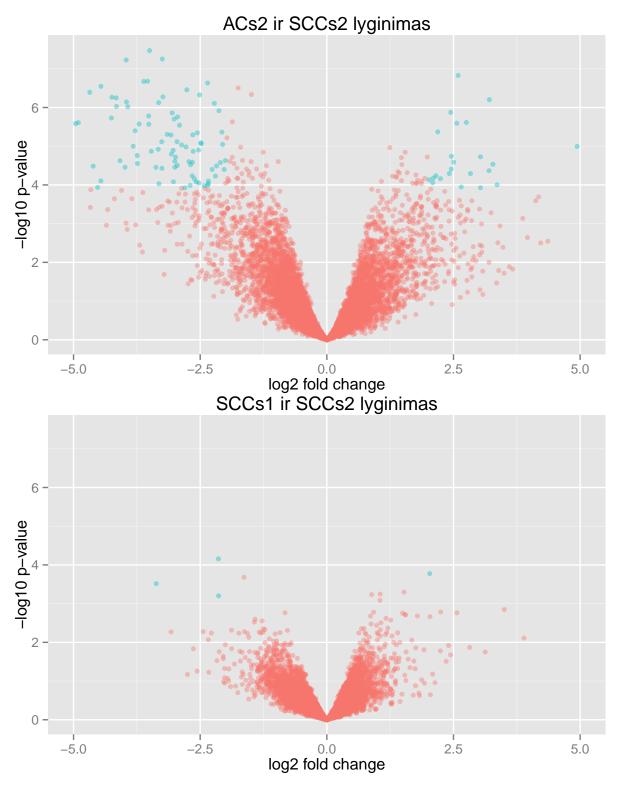
Iš NUSE grafiko galima matyti, kad nėra "cel" failo, kurio stulpelio centras viršytų 1.1 ribą. Taigi galima teigti, kad pasirinktos mikrogardelės yra geros kokybės ir tolimesni rezultatai, nebus iškreipti dėl kokybės problemų.

Reikšmingai skirtingos raiškos genai pateikiami vulkano grafikais

Vulkano grafikas yra taškinis grafikas, kuris dažnai naudojamas mikrogardelių duomenų rinkinių analizei, svarbių genų peržiūrai. Grafiką sudaro ant x ašies vaizduojama geno logaritminė pokyčio reikšmingumo slenksčio reikšmė ir ant y ašies neigiamas dešimtainis P-reikšmės logaritmas. Vaizduojami biologiškai ir statistiškai reikšmingi genai. Biologinė įtaka pokyčiui stebima ant x ašies, y ašis rodo statistinį pokyčio patikimumą. Iš tokių grafikų galima atrinkti svarbiausius atvejus tolimesniems tyrimams. Toliau pateikiami visų lyginimų vulkano grafikai. Vulkano tipo grafike išskiriami genai, kurių logaritminės pokyčio reikšmingumo slenksčio reikšmės modulis yra didesnis už 2 ir kurių P-reikšmė yra mažesnė už 0.05 ir genų, kurių logaritminės pokyčio reikšmingumo slenksčio reikšmės modulis yra didesnis už 2, skaičiaus, santykį.







Iš vulkano grafikų taip pat galime pastebėti, kad daug daugiau reikšmingai skirtingos raiškos genų yra tarp AC ir SCC tipų lyginimų, nei tarp AC ir AC arba SCC ir SCC tipų lyginimų. Tai rodo, kad lyginant tos pačios plaučių vėžio rūšies tačiau skirtingų vėžio stadijų pavyzdžius yra randama gerokai mažiau reikšmingai skirtingos raiškos genų, negu lyginant pavyzdžius tarp skirtingų plaučių vėžio rūšių.