

## Bioconductor raport laboratorium 5

## 1. Pobranie danych z mikromacierzy GSE144803.

Macierz zawiera informacje dot. celów molekularnych i sieci wynikających ze zwiększonego TNF $\alpha$ . Zmierzono w tym celu metylację DNA i ekspresję genów w 40 liniach pierwotnych komórek śródbłonna ludzkiej żyły pępowinowej przed i 24 godziny po stymulacji TNF $\alpha$  za pomocą mikromacierzy.

```
library(limma)
BiocManager::install("GEOquery")
library(GEOquery)
library(ggplot2)

#pobieranie danych
gset <- getGEO("GSE144803", GSEMatrix = TRUE, AnnotGPL = TRUE)
gset
gset03 = gset[[1]]
gset03
mat <- exprs(gset03)
dim(mat)
```

```
$GSE144803_series_matrix.txt.gz
ExpressionSet (storageMode: lockedEnvironment)
assayData: 18937 features, 78 samples
  element names: exprs
protocolData: none
phenoData
  sampleNames: GSM4296720 GSM4296721 ... GSM4296797 (78 total)
  varLabels: title geo_accession ... treatment:ch1 (44 total)
  varMetadata: labelDescription
featureData
  featureNames: ILMN_1343291 ILMN_1343295 ... ILMN_3311165
  (18937 total)
  fvarLabels: ID Gene title ... Platform_SEQUENCE (22 total)
  fvarMetadata: Column Description labelDescription
experimentData: use 'experimentData(object)'
pubMedIds: 32231389
Annotation: GPL10558
```

A tak wygląda fragment mikromacierzy:

```
> mat
```

	GSM4296720	GSM4296721	GSM4296722	GSM4296723	GSM4296724	GSM4296725
ILMN_1343291	14.870319	15.065775	15.041156	15.012113	15.012113	15.065775
ILMN_1343295	14.326195	14.028760	14.199296	14.151259	14.022646	14.063554
ILMN_1651228	13.270349	12.901141	13.153037	13.226300	13.027299	12.840103
ILMN_1651229	7.918348	7.696063	7.696872	8.132745	7.943268	8.631420
ILMN_1651237	9.215925	9.286814	9.079180	8.215255	9.286814	7.656293
ILMN_1651254	11.384897	11.221559	12.208966	12.096507	12.210331	10.734974
ILMN_1651259	7.087428	6.985500	6.835640	6.088711	6.811951	6.113700

## 2. Usunięcie próbek azjatyckich i próbek z błędnie oznaczoną płcią oraz tworzenie macierzy z projektem eksperymentu

```
#usunięcie próbek azjatyckich i próbek z błędnie oznaczoną płcią
asia_samples = c("GSM4296752", "GSM4296753", "GSM4296758", "GSM4296759",
  "GSM4296790", "GSM4296791")
gsms = gset03@experimentData@other$sample_id
sml <- strsplit(gsms, split=" ")[[1]]
NOasia_id = which(is.na(match(sml, asia_samples)))

gset03 = gset03[,NOasia_id]
sml = sml[NOasia_id]
```

```
design_model<- data.frame(treat = gset03$`treatment:ch1`, sex = gset03$`pedsex:ch1`, sample = gset03$`promocell lot number:ch1`)
design_model$treat[design_model$treat=="treated with TNFa, 24 hours"] = "T"
design_model$treat[design_model$treat=="untreated"] = "uT"
design_model$sex[design_model$sex=="male"] = "M"
design_model$sex[design_model$sex=="female"] = "F"
```

Fragment macierzy z projektem eksperymentu:

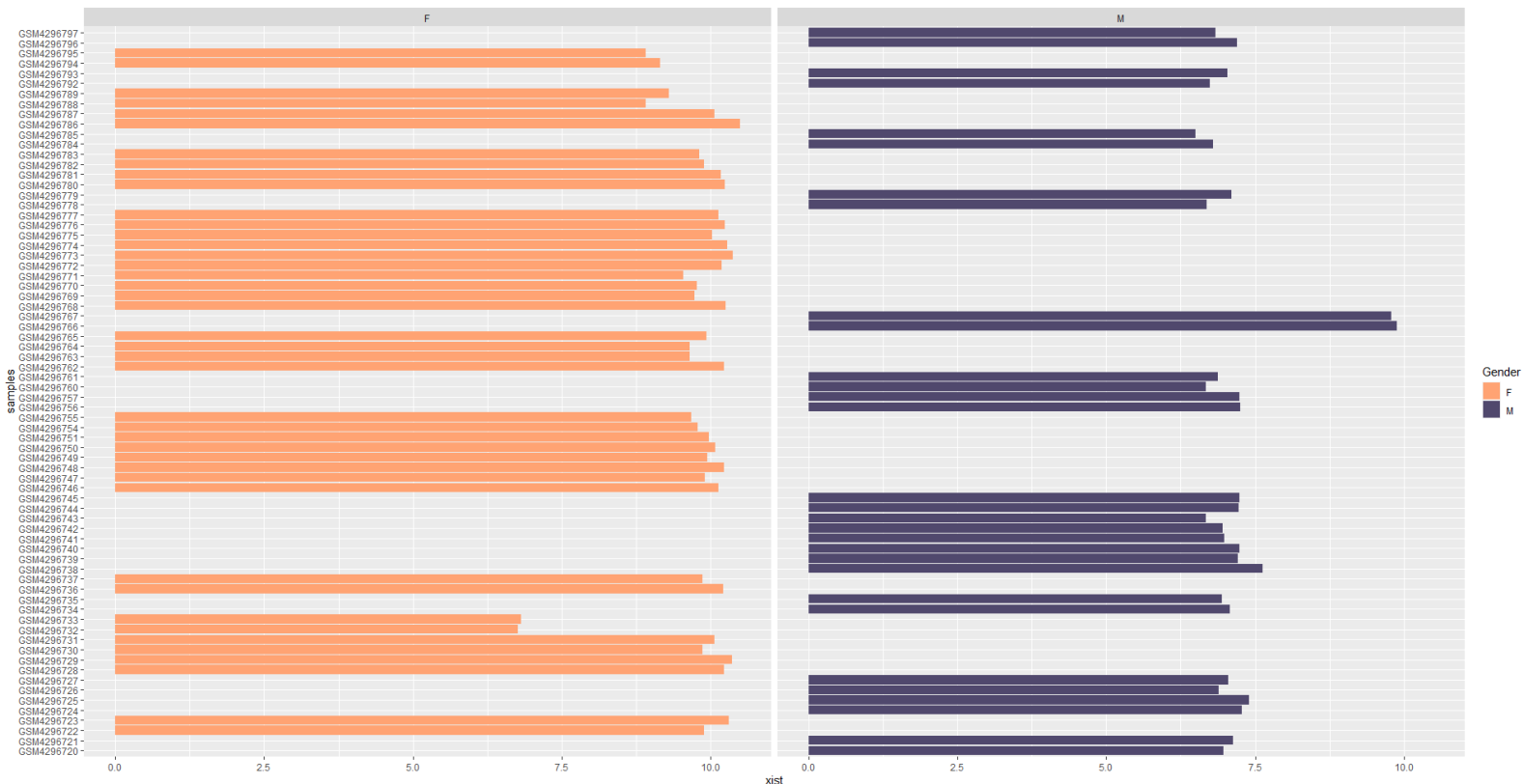
	treat	sex	sample
1	uT	M	1042604
2	T	M	1042604
3	uT	F	4042202
4	T	F	4042202
5	uT	M	4031408
6	T	M	4031408
7	uT	M	1090201.1
8	T	M	1090201.1
9	uT	F	1080802
10	T	F	1080802
11	uT	F	3091802

Wykrywanie błędnie przypisanych płci za pomocą pomiaru ekspresji genów XIST i RPS4Y1:

```
i1 = which(gset03@featureData@data$`Gene symbol` == "XIST")
i2 = which(gset03@featureData@data$`Gene symbol` == "RPS4Y1")
```

```
tab = data.frame(xist = exprs(gset03)[i1,], rps4y1 = exprs(gset03)[i2,],
  sex=design_model$sex,
  samples = colnames(exprs(gset03)))
```

```
ggplot(tab, aes(x=samples,y=xist,fill=sex))+
  geom_bar(stat="identity",position="identity")+
  scale_fill_manual(name="Gender",values=c("#FFA373", "#50486D"))+
  facet_wrap(~sex) + coord_flip()
```



```
wrong_sex = c("GSM4296733", "GSM4296767", "GSM4296732", "GSM4296766")
correct_sex = which(is.na(match(sm1, wrong_sex)))
gset03 = gset03[,correct_sex]
sm1 = sm1[correct_sex]
```

Analogicznie powtórzono tworzenie macierzy z projektem eksperymentu aby wyłączyć z dalszej analizy próbki z błędnie przypisaną płcią.

### 3. Normalizacja danych

Limma służy do analizy różnicowej, a nie bezwzględnego pomiaru, (porównujemy poziomy poszczególnych genów między próbkami, a nie między sobą w danej próbce), dlatego nie trzeba się przejmować czynnikami, które są różne dla genów, ale identyczne dla próbek, takimi jak np. długość poszczególnych transkryptów. Normalizacja ma zminimalizować wpływ czynników zaburzających indywidualne próbki.

W limmie dostępna jest funkcja, która normalizuje dane dla różnych eksperymentów (mikromacierzy), w taki sposób, aby rozkład intensywności świecenia był taki sam dla wszystkich mikromacierzy

```
#normalizacja
exprs(gset03) <- normalizeBetweenArrays(exprs(gset03), method="quantile")
gset03@featureData@data$id=gset03@featureData@data$`GeneSymbol`
```

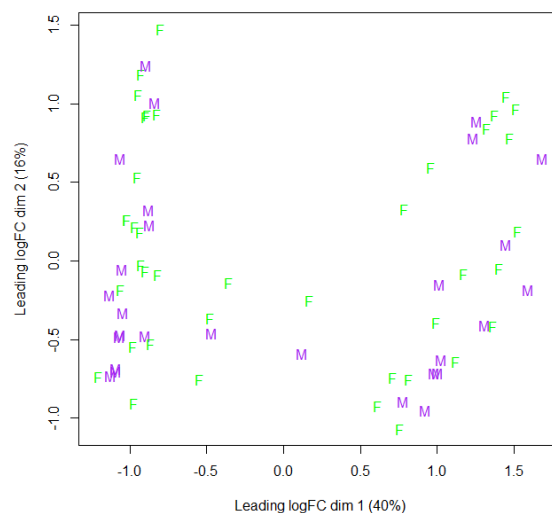
### 4. Analiza ekspresji różnicowej poprzez zastosowanie modelu liniowego z pakietu Limma

Narzędzie określa, czy różnica w średnim poziomie ekspresji jest większa niż oczekiwana przez przypadek. Model liniowy będzie przeprowadzał test hipotezy zerowej (zakładającej że nie ma różnicy w ekspresji genów).

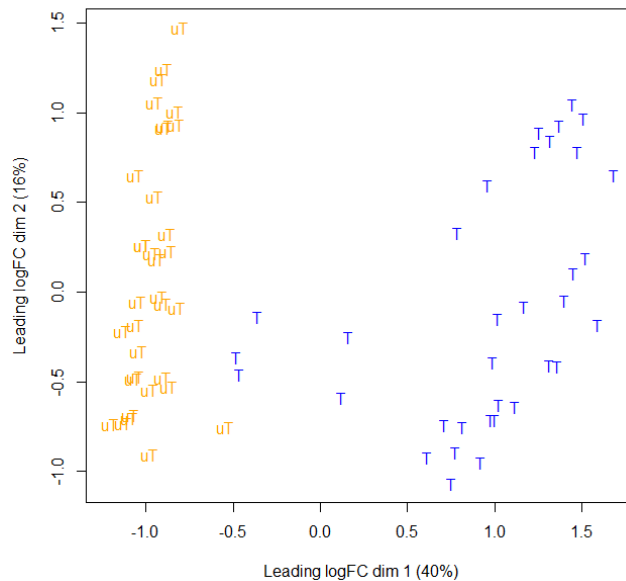
Zanim przystąpiono do konkretnej analizy wskazującej które geny konkretnie charakteryzują się ekspresją różnicową w zależności od porównania sporządzono dwa poniższe wykresy w oparciu o cały zbiór danych:

```
#### WYRESY MDS ####
#wykres całego zbioru danych
plotMDS(gset03, labels=design_model$sex, col=ifelse(design_model$sex=="F","green","purple"))
plotMDS(gset03, labels=design_model$treat, col=ifelse(design_model$treat=="T","green","purple"))
```

#### a. Badanie różnicy ogólnej między próbkami w zależności od płci (brak wyraźnych różnic) :



- b. Badanie różnicy ogólnej między próbkami w zależności od traktowania:



Widać wyraźną różnicę między próbkami co sygnalizuje, że ekspresja różnicowa jest obecna w badanym eksperymencie.

*Eksperyment, zaprojektowano na kilka sposobów, m. in tak, że zawierał próbki sparowane – przed i po traktowaniu TNF. Taki eksperyment wymagał nieco innego podejścia. Poniżej przedstawiono wyniki analizy ekspresji różnicowej w zależności od 4 porównań.*

- a. Badanie ekspresji różnicowej tylko próbek kontrolnych (nietraktowanych) między kobietami i mężczyznami:

```
untreated_idx = which(design_model$treat == 'uT')
gset03_untreated <- gset03[, untreated_idx]
design_model_untreated <- design_model[untreated_idx, ]
```

```
#kontrolne men vs women - 1 metoda
design_matrix_control <- model.matrix(~design_model_untreated$sex)
colnames(design_matrix_control) <- c("intercept", "M")
design_matrix_control
```

```
library(xlsx)
#punkt 1 - próbki kontrolne men vs women
fit <- lmFit(gset03_untreated, design_matrix_control)
fit <- eBayes(fit)
table_1 <- topTable(fit, coef="M", adjust="BH")
table_1_b <- topTable(fit, coef="M", adjust="BH", number = 100)
write.xlsx(table_1_b, file="diff_exp_TNF_exp.xlsx",
           sheetName="men_vs_women_control", row.names=FALSE)
```

```
plotMDS(gset03_untreated)
plotMDS(gset03_untreated, labels=design_model_untreated$sex, col=ifelse(design_model_untreated$sex=="F", "green", "purple"), main="Men vs Women (control)")
```

```
#### WYRESY VOLCANO ####
volcanoplot(fit, coef='M', highlight=9, names=fit$genes$`Gene symbol`, main="Men vs Women (control)")
```

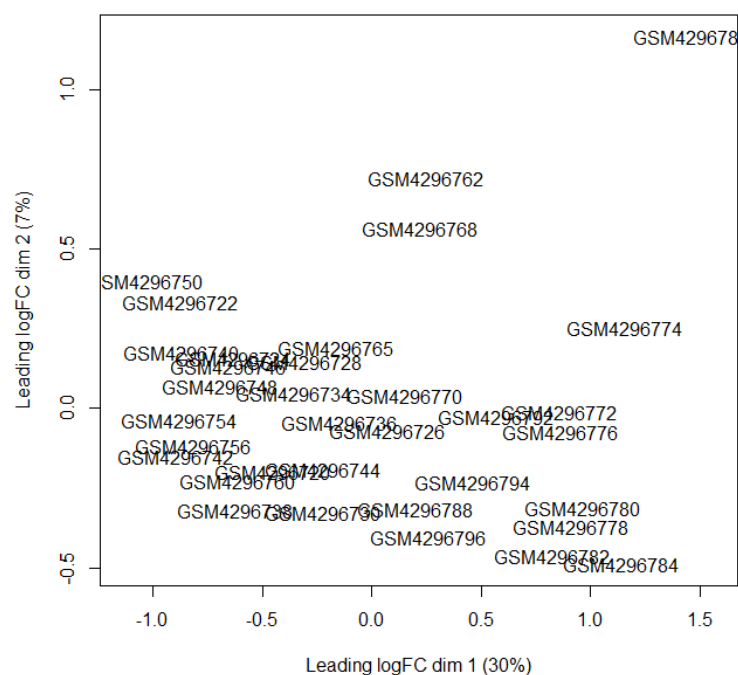
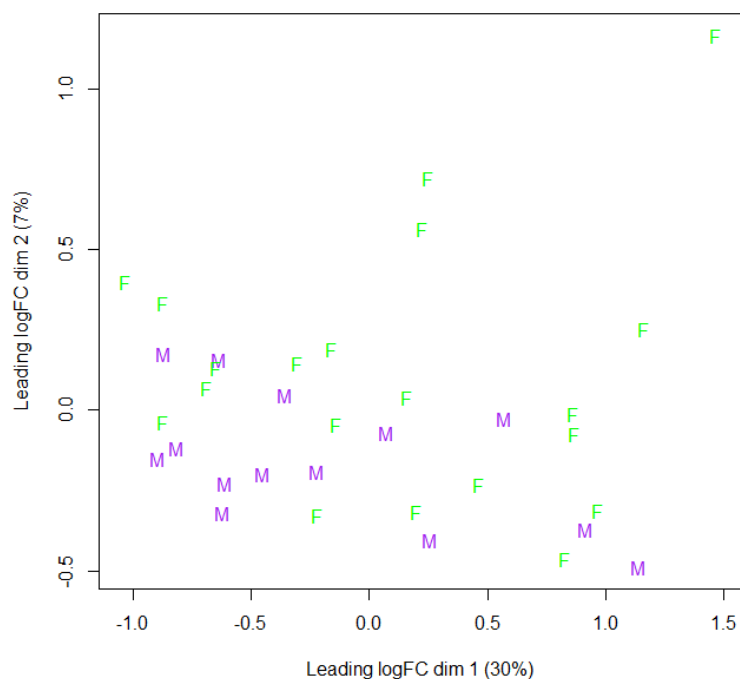
Fragment powstałej tabeli:

	ID	Gene.title	Gene.symbol	Gene.ID	logFC	AveExpr	t	P.Value	adj.P.Val	B
ILMN_1783142	ILMN_1783142	ribosomal protein S4, Y-linked 1	RPS4Y1	6192	7.5889751	8.816090	95.810275	1.540999e-44	2.918189e-40	47.948960
ILMN_1670821	ILMN_1670821				3.6258389	6.739525	36.355505	9.822095e-30	9.300051e-26	41.682031
ILMN_1764573	ILMN_1764573	X inactive specific transcript (non-protein coding)	XIST	7503	-2.9581137	8.779583	-25.182677	2.856712e-24	1.803252e-20	36.202951
ILMN_1710136	ILMN_1710136	pseudouridine 5'-phosphatase	PUDP	8226	-0.7999157	9.506138	-10.786538	9.156546e-13	4.334938e-09	17.755520
ILMN_2166831	ILMN_2166831	ribosomal protein S4, X-linked	RPS4X	6191	-0.5088463	13.386089	-9.517245	2.576462e-11	9.758092e-08	14.917507
ILMN_1786834	ILMN_1786834	protein kinase, X-linked	PRKX	5613	-0.6611060	8.052382	-8.655968	2.793071e-10	8.815398e-07	12.844475
ILMN_1687484	ILMN_1687484	zinc finger protein, X-linked	ZFX	7543	-0.6386167	7.255622	-7.955046	2.079105e-09	5.624573e-06	11.072750
ILMN_1773868	ILMN_1773868	zinc finger CCCH-type, RNA binding motif and serine/argini...	ZRSR2	8233	-0.6383575	9.216288	-7.039792	3.101602e-08	7.341879e-05	8.656173
ILMN_1684956	ILMN_1684956	arylsulfatase D	ARSD	414	-0.8643304	6.223895	-6.003082	7.189382e-07	1.512726e-03	5.810607
ILMN_1794392	ILMN_1794392	DEAD-box helicase 3, X-linked	DDX3X	1654	-0.3404041	11.675901	-5.420694	4.274547e-06	7.522838e-03	4.185682

Fragment logFC (fold change) jest to logarytm różnicy zmian opisujący różnicę w ekspresji. Dane posortowano od najniższego p-value.

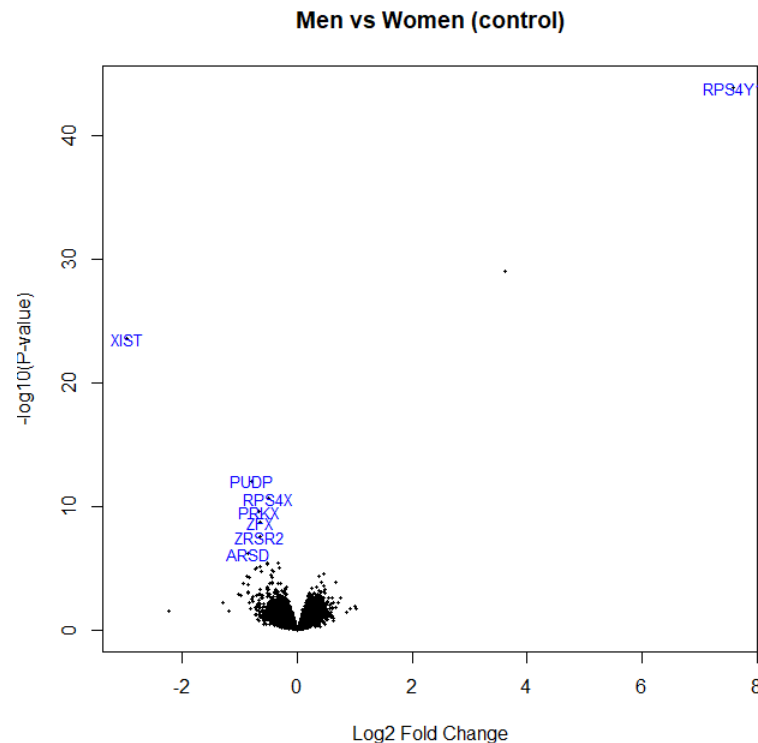
Następnie sporządzono plot MDS, aby zobaczyć jak w obrębie próbek kontrolnych różnią się między sobą próbki kobiece i męskie:

**Men vs Women (control)**



W przypadku różnic spodziewane byłoby, żeby próbki kobiet i mężczyzn akumulowały się w 2 grupach (klastrach). W tym przypadku raczej nie można wykryć znacznych różnic między próbkami męskimi i damskimi. Widać jedynie, że kilka próbek damskich nieco odstaje od wszystkich innych.

Volcano plot prezentuje różnice w ekspresji genów między kobietami i mężczyznami:



Tutaj również nie ma wyraźnych zmian, poza kilkoma odstającymi genami (których część z resztą była użyta do usunięcia próbek z niepoprawnie oznaczoną płcią – RPS4Y o XIST).

- b. Badanie ekspresji różnicowej tylko próbek traktowanych TNF między kobietami i mężczyznami:

```
treated_idx = which(design_model$treat == 'T')
gset03_treated <- gset03[, treated_idx]
design_model_treated <- design_model[treated_idx, ]
```

```
#traktowane men vs women - 1 metoda
design_matrix_treated <- model.matrix(~design_model_treated$sex)
colnames(design_matrix_treated) <- c("Intercept", "M")
design_matrix_treated
```

```
#Punkt 2 - próbki traktowane TNF men vs women
fit <- lmFit(gset03_treated, design_matrix_treated)
fit <- eBayes(fit)
table_2 <- topTable(fit, coef="M", adjust="BH")
table_2_a <- topTable(fit, coef="M", adjust="BH", number = 100)
write.xlsx(table_2_a, file="diff_exp_TNF_exp.xlsx",
           sheetName="men_vs_women_treated", row.names=FALSE)
```

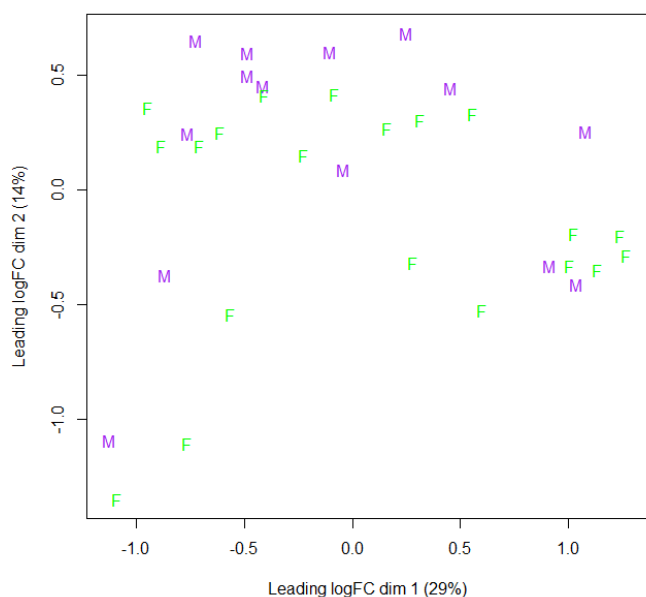
```
plotMDS(gset03_treated)
plotMDS(gset03_treated, labels=design_model_treated$sex, col=ifelse(design_model_treated$sex=="F","green","purple"), main="Men vs women (control)")
```

```
volcanoplot(fit, coef='M', highlight=9, names=fit$genes$`Gene symbol`, main="Men vs women (treated)")
```

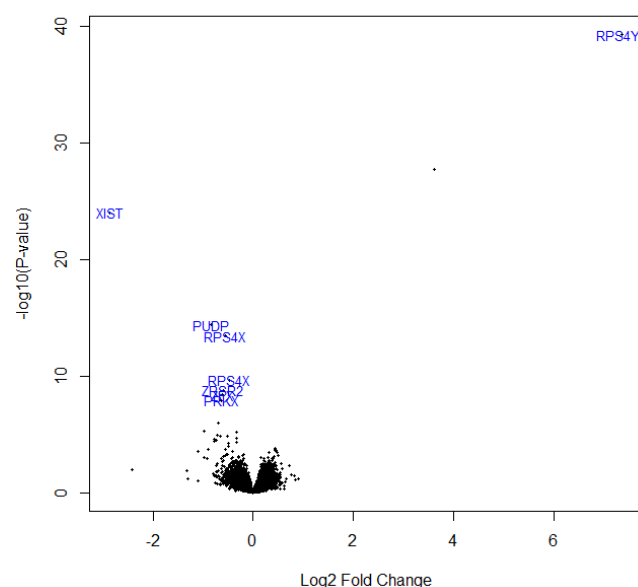
ID	Gene.title	Gene.symbol	Gene.ID
ILMN_1783142	ribosomal protein S4, Y-linked 1	RPS4Y1	6192
ILMN_1670821			
ILMN_1764573	X inactive specific transcript (non-protein coding)	XIST	7503
ILMN_1710136	pseudouridine 5'-phosphatase	PUDP	8226
ILMN_2166831	ribosomal protein S4, X-linked	RPS4X	6191
ILMN_1810577	ribosomal protein S4, X-linked	RPS4X	6191
ILMN_1773868	zinc finger CCCH-type, RNA binding motif and serine/argini...	ZRSR2	8233
ILMN_1687484	zinc finger protein, X-linked	ZFX	7543
ILMN_1786834	protein kinase, X-linked	PRKX	5613

logFC	AveExpr	t	P.Value	adj.P.Val	B
7.3628181	8.851326	71.876495	5.623324e-40	1.064889e-35	40.590390
3.6233499	6.726806	33.530570	1.986685e-28	1.881092e-24	36.048178
-2.8534197	8.697048	-26.095081	1.017039e-24	6.419888e-21	33.098745
-0.8423843	9.488897	-13.064474	4.146435e-15	1.963026e-11	20.766320
-0.5571012	13.276586	-12.087313	3.982197e-14	1.508217e-10	19.138376
-0.4737567	13.711578	-8.741893	2.281412e-10	7.200517e-07	12.412226
-0.5883137	9.246482	-8.017596	1.792792e-09	4.850014e-06	10.710618
-0.6120468	7.334897	-7.722300	4.228433e-09	1.000923e-05	9.993065
-0.6390957	8.000223	-7.352445	1.254943e-08	2.640539e-05	9.076101
-0.6924868	11.929828	-5.876001	1.078013e-06	2.041433e-03	5.250587

Men vs Women (treated)



Men vs Women (treated)



Otrzymano podobne wyniki jak powyżej, co oznacza że wpływ traktowania TNF na ekspresję genów nie jest zależny od płci. W dodatku fragmenty tabel z najbardziej różnymi pod względem ekspresji genów oraz volcano ploty dla tych dwóch analiz są niemal identyczne, ponieważ największą zmiennością charakteryzują się geny w ogólności specyficzne dla danej płci. Widać to po ID genów na volcano plocie, czy też w tabeli – gdzie wszystkie geny są X lub Y linked. Być może należałoby te geny usunąć i wówczas przeprowadzić analizę ponownie?

Po podaniu do funkcji toptable 100 genów, a następnie posortowaniu od największego p-value (max - 3.390765e-03) otrzymano następujące przykładowe geny

ID	Gene.title	Gene.symbol	Gene.ID
ILMN_3238058	mannosyl (alpha-1,6-)-glycoprotein beta-1,6-N-acetyl-gluco...	MGAT5	4249
ILMN_2331197	PAX3 and PAX7 binding protein 1	PAXBP1	94104
ILMN_1777318	chromosome 9 open reading frame 64	C9orf64	84267
ILMN_2394161	ST8 alpha-N-acetyl-neuraminide alpha-2,8-sialyltransferase 4	ST8SIA4	7903
ILMN_1665717	eukaryotic translation initiation factor 2 subunit gamma	EIF2S3	1968
ILMN_1655935	adenylate cyclase 7	ADCY7	113
ILMN_1729680			
ILMN_1716397	layilin	LAYN	143903

*traktowane*



ID	Gene.title	Gene.symbol	Gene.ID
ILMN_3244405			
ILMN_1794512	ADP-ribosylarginine hydrolase	ADPRH	141
ILMN_1695946	TMF1-regulated nuclear protein 1	TRNP1	388610
ILMN_1791896	estrogen receptor binding site associated, antigen, 9	EBAG9	9166
ILMN_1754130	tripartite motif containing 52	TRIM52	84851
ILMN_1704431			
ILMN_1688318			
ILMN_1794492	homeobox C6	HOXC6	3223

*Kontrolne*

W ten sposób widać przykłady genów różniących się ekspresją między płciami w zależności od traktowania bądź nie, lecz te zmiany są bardzo małe.

- c. Badanie ekspresji różnicowej tylko u mężczyzn między próbkami traktowanymi i kontrolnymi:

```
man_idx = which(design_model$sex == 'M')
gset03_male <- gset03[, man_idx]
exprs(gset03_male)
design_model_male <- design_model[man_idx, ]
design_model_male
```

```
#tylko mężczyźni sparowani (tnf male vs control male)
Treat_men <- factor(design_model_male$treat, levels=c("uT", "T"))
Sample_man <- factor(design_model_male$sample)
design_matrix_men_paired <- model.matrix(~Sample_man+Treat_men)
design_matrix_men_paired
```

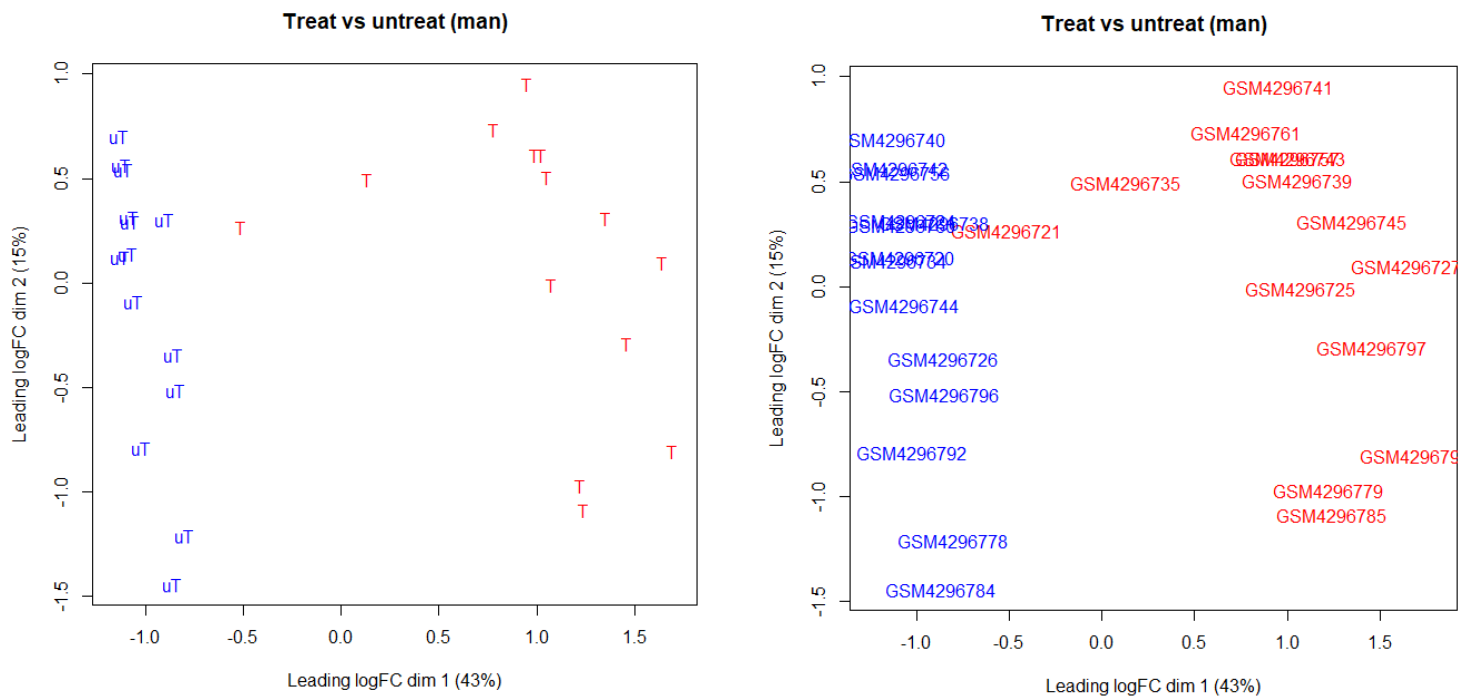
```
#Punkt 4 - sparowane próbki dla mężczyzn - treated TNF vs control (untreated)
fit <- lmFit(gset03_male, design_matrix_men_paired)
fit <- eBayes(fit)
table_4 <- topTable(fit, coef="Treat_menT", adjust="BH")
write.xlsx(table_2, file="diff_exp_TNF_exp.xlsx",
           sheetName="treated_vs_control_male", row.names=FALSE)
```

ID	Gene.title	Gene.symbol	Gene.ID	logFC	AveExpr	t	P.Value	adj.P.Val	B
ILMN_1776181	baculoviral IAP repeat containing 3	BIRC3	330	4.676057	7.440015	26.63222	3.151391e-15	3.733637e-11	24.65383
ILMN_2384237	signal transducing adaptor family member 2	STAP2	55620	2.548344	7.139731	25.78483	5.372281e-15	3.733637e-11	24.18926
ILMN_1802653	Epstein-Barr virus induced 3	EBI3	10148	5.472828	7.705158	25.63475	5.914829e-15	3.733637e-11	24.10492
ILMN_2376205	lymphotoxin beta	LTB	4050	6.355775	8.530611	23.16590	3.124962e-14	1.420572e-10	22.62113
ILMN_1758895	cathepsin K	CTSK	1513	3.474327	9.475108	22.90928	3.750785e-14	1.420572e-10	22.45572
ILMN_1686109	C-C motif chemokine ligand 23	CCL23	6368	-2.984588	7.758801	-22.24113	6.088504e-14	1.921633e-10	22.01435
ILMN_1678841	ubiquitin D	UBD	10537	7.180099	8.602603	21.79576	8.473644e-14	2.292363e-10	21.71123
ILMN_1712545	S100 calcium binding protein A3	S100A3	6274	3.854126	7.152084	21.56854	1.005476e-13	2.380088e-10	21.55374
ILMN_1651316	CD69 molecule	CD69	969	3.017106	6.885629	21.03862	1.508476e-13	3.065209e-10	21.17875
ILMN_1740609				-2.728471	9.916430	-20.94778	1.618635e-13	3.065209e-10	21.11336

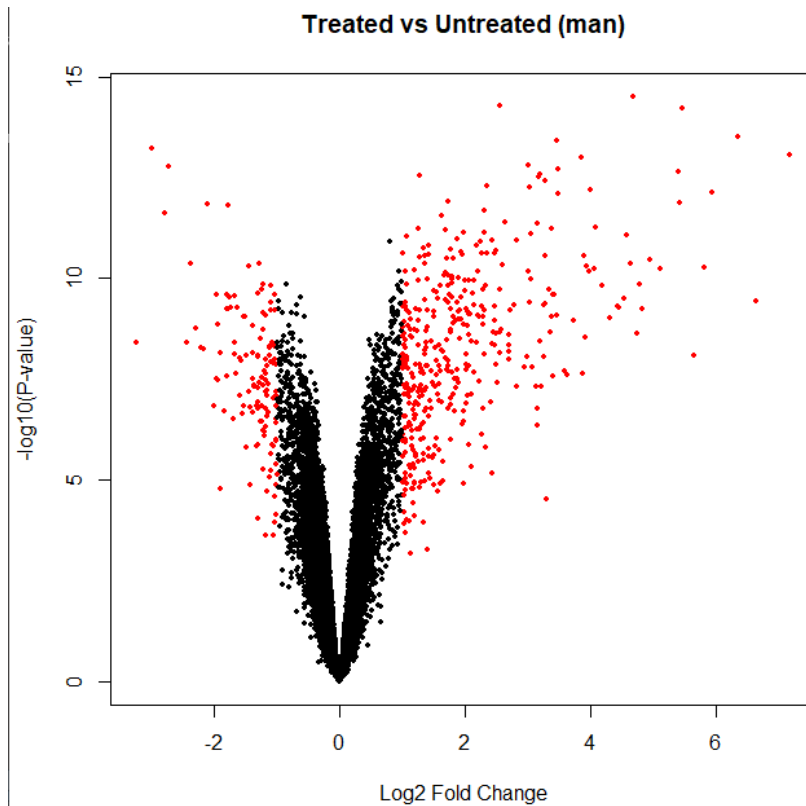
```
##wykresy dla sparowanych##
plotMDS(gset03_male, col=ifelse(design_model_male$treat=="T","red","blue"), main="Treat vs untreat (man)")
plotMDS(gset03_male, labels=design_model_male$treat, col=ifelse(design_model_male$treat=="T","red","blue"), main="Treat vs untreat (man)")
```

```
logFC <- coef(fit)[, "Treat_menT"]
logFC
volcanoplot(fit, coef="Treat_menT", main="Treated vs Untreated (man)", col = ifelse((logFC > 1) | (logFC < -1), "red", "black"), pch = 19, cex = 0.6)
```





Od razu widać różnicę między próbkami kontrolnymi oraz traktowanymi.

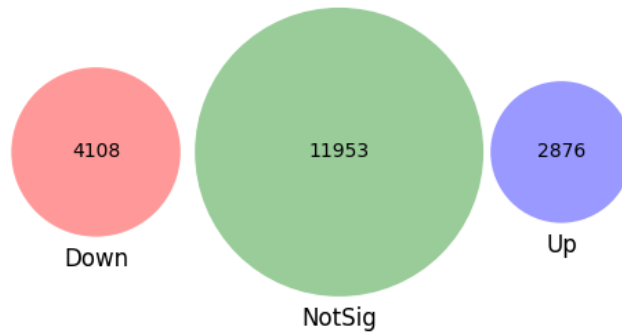


Także widoczne różnice na volcano plocie – jest obecna ekspresja różnicowa.

```
### VEN DIAGRAM ###
results <- decideTests(fit)
r <- summary(results)
r[, 'Treat_menT']
|
```

```
> r[, 'Treat_menT']
Down NotSig Up
4108 11953 2876
```

Differential expression (men)



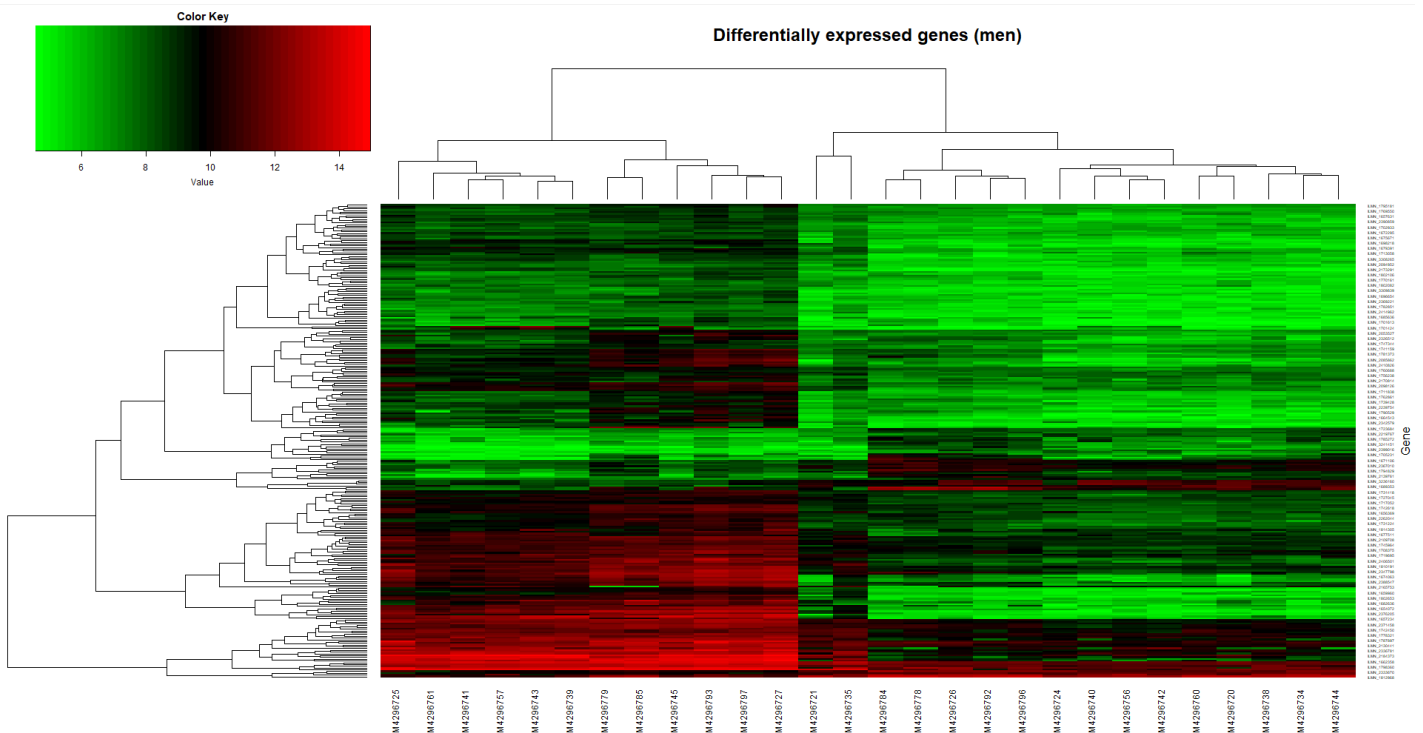
Również można przedstawić geny za pomocą mapy ciepła:

```
### heatmap ###
library(gplots)

y<-exprs(gset03_male)
tabb <- topTable(fit, coef="Treat_menT", adjust="BH", sort.by="P", p.value=0.01, lfc=1.5, n=Inf)

heatmap.2(y[rownames(tabb),], main="Differentially expressed genes (men)", ylab="Gene",
col=greenred(45), cexRow=0.4, scale="none", key=TRUE, symkey=FALSE, density.info="none", trace="none")
|
```

Tutaj wyciągnięto geny o zadanym progu lfc i pvalue (było ich 268) i przedstawiono poniżej:



- d. Badanie ekspresji różnicowej tylko u kobiet między próbkami traktowanymi i kontrolnymi:

```
woman_idx = which(design_model$sex == 'F')
gset03_female <- gset03[, woman_idx]
design_model_female <- design_model[woman_idx, ]
design_model_female
```

```
#tylko kobiety sparowane (tnf female vs control female)
Treat_women <- factor(design_model_female$treat, levels=c("uT", "T"))
Treat_women
design_matrix_women_paired <- model.matrix(~design_model_female$sample+Treat_women)
design_matrix_women_paired
```

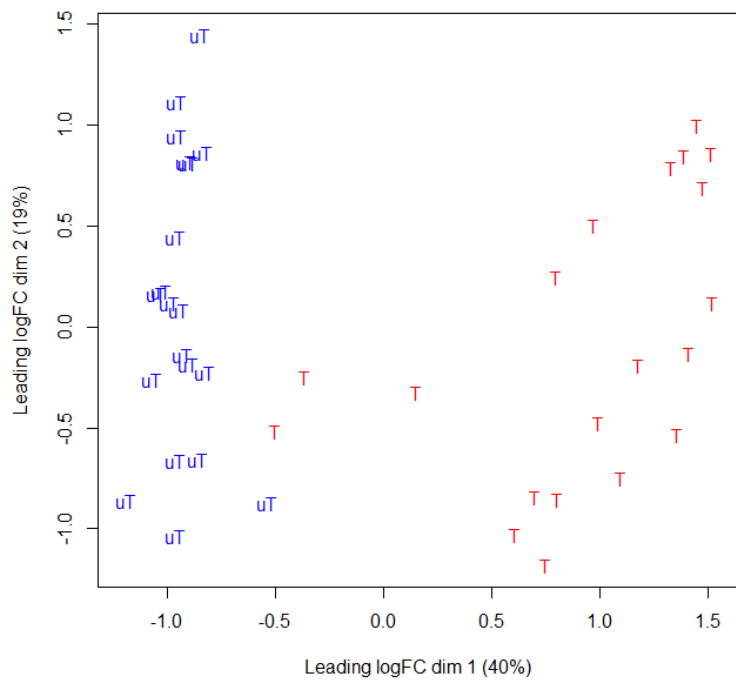
```
#Punkt 3 - sparowane próbki dla kobiet - treated TNF vs control (untreated)
fit <- lmFit(gset03_female, design_matrix_women_paired)
fit <- eBayes(fit)
table_3 <- topTable(fit, coef="Treat_womenT", adjust="BH", number=Inf)
write.xlsx(table_3, file="diff_exp_TNF_exp.xlsx",
           sheetName="treated_vs_control_female", row.names=FALSE)
```

```
plotMDS(gset03_female, col=ifelse(design_model_female$treat=="T", "red", "blue"), main="Treat vs untreat (women)")
plotMDS(gset03_female, labels=design_model_female$treat, col=ifelse(design_model_female$treat=="T", "red", "blue"), main="Treat vs untreat (women)")
```

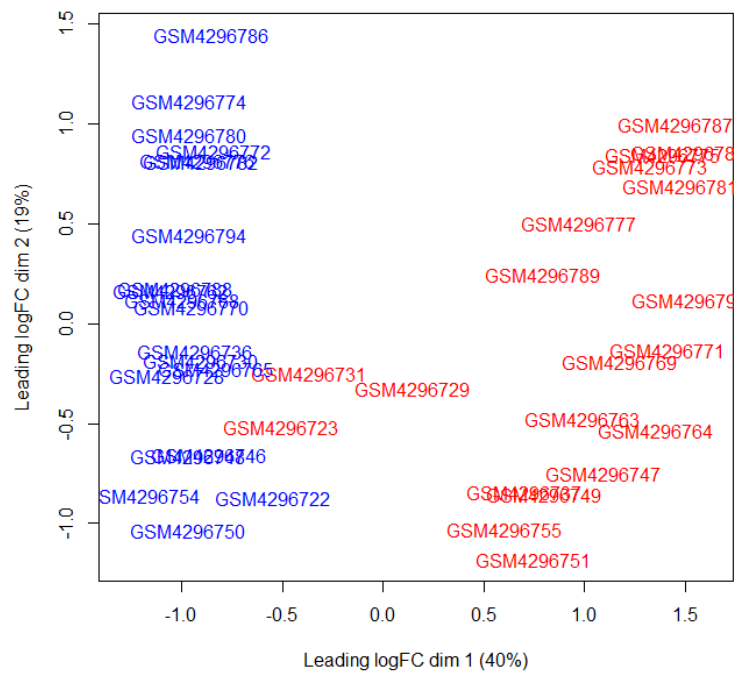
```
logFC <- coef(fit)[, "Treat_womenT"]
volcanoplot(fit, coef="Treat_womenT", main="Treated vs Untreated (women)", col = ifelse((logFC > 1) | (logFC < -1), "red", "black"), pch = 19, cex = 0.6)
```

ID	Gene.title	Gene.symbol	Gene.ID	logFC	AveExpr	t	P.Value	adj.P.Val	B
ILMN_1760688	sterile alpha motif domain containing 14	SAMD14	201191	1.4993540	8.708446	20.16795	5.103985e-16	6.639955e-12	26.56580
ILMN_1802653	Epstein-Barr virus induced 3	EBI3	10148	5.2343833	7.744329	19.87338	7.012679e-16	6.639955e-12	26.26721
ILMN_1758895	cathepsin K	CTSK	1513	3.4185986	9.744032	19.03596	1.771550e-15	8.402702e-12	25.39183
ILMN_1690473	NFKB inhibitor beta	NFKBIB	4793	1.0483350	7.530420	18.97165	1.905067e-15	8.402702e-12	25.32292
ILMN_1710495	papilin, proteoglycan like sulfated glycoprotein	PAPLN	89932	2.9790957	7.713345	18.83742	2.218594e-15	8.402702e-12	25.17832
ILMN_1769299	myotubularin related protein 11	MTMR11	10903	1.3900613	9.072642	18.65979	2.718256e-15	8.579268e-12	24.98529
ILMN_1659960	interleukin 4 induced 1	IL4I1	259307	3.5038166	7.510727	18.36859	3.806325e-15	1.005627e-11	24.66469
ILMN_1704500	signal transducing adaptor family member 2	STAP2	55620	2.1509785	6.634019	18.27445	4.248306e-15	1.005627e-11	24.55992
ILMN_1657631	signal transducing adaptor family member 2	STAP2	55620	2.2652108	7.479465	17.91494	6.492409e-15	1.366075e-11	24.15465
ILMN_1700306	OCIA domain containing 2	OCIAD2	132299	0.9698983	12.277176	17.57102	9.809691e-15	1.857661e-11	23.75914
ILMN_1651429	selenoprotein M	SELM	140606	2.0409030	10.112636	16.68899	2.921818e-14	4.982757e-11	22.70819
ILMN_2115135	microseminoprotein, prostate associated	MSMP	692094	-2.0842788	9.264278	-16.59323	3.299124e-14	4.982757e-11	22.59080
ILMN_2384237	signal transducing adaptor family member 2	STAP2	55620	2.2989393	7.055981	16.56482	3.420596e-14	4.982757e-11	22.55584
ILMN_2328666	CD83 molecule	CD83	9308	2.8462067	6.310964	16.35408	4.479985e-14	6.059820e-11	22.29472
ILMN_2368530	interleukin 32	IL32	9235	2.9129955	11.413481	16.18207	5.595897e-14	6.586483e-11	22.07916
ILMN_1804332	G protein-coupled receptor 137	GPR137	56834	0.8824125	11.282385	16.15553	5.792344e-14	6.586483e-11	22.04569
ILMN_1778010	interleukin 32	IL32	9235	2.9988130	9.924174	16.11550	6.102213e-14	6.586483e-11	21.99514
ILMN_1778401	major histocompatibility complex, class I, B	HLA-B	3106						

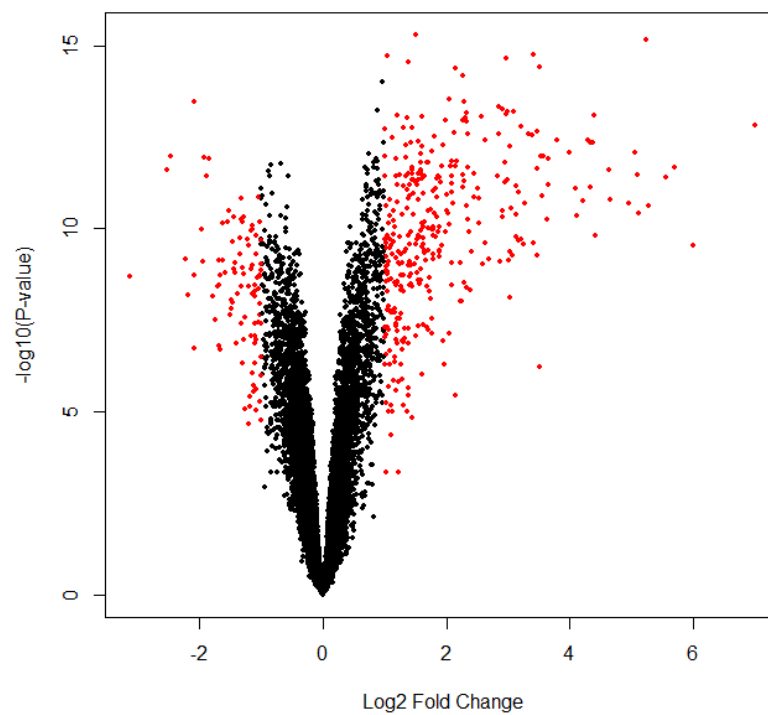
Treat vs untreat (women)



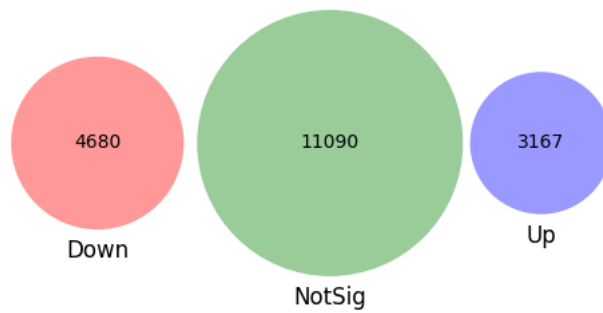
Treat vs untreat (women)



Treated vs Untreated (women)

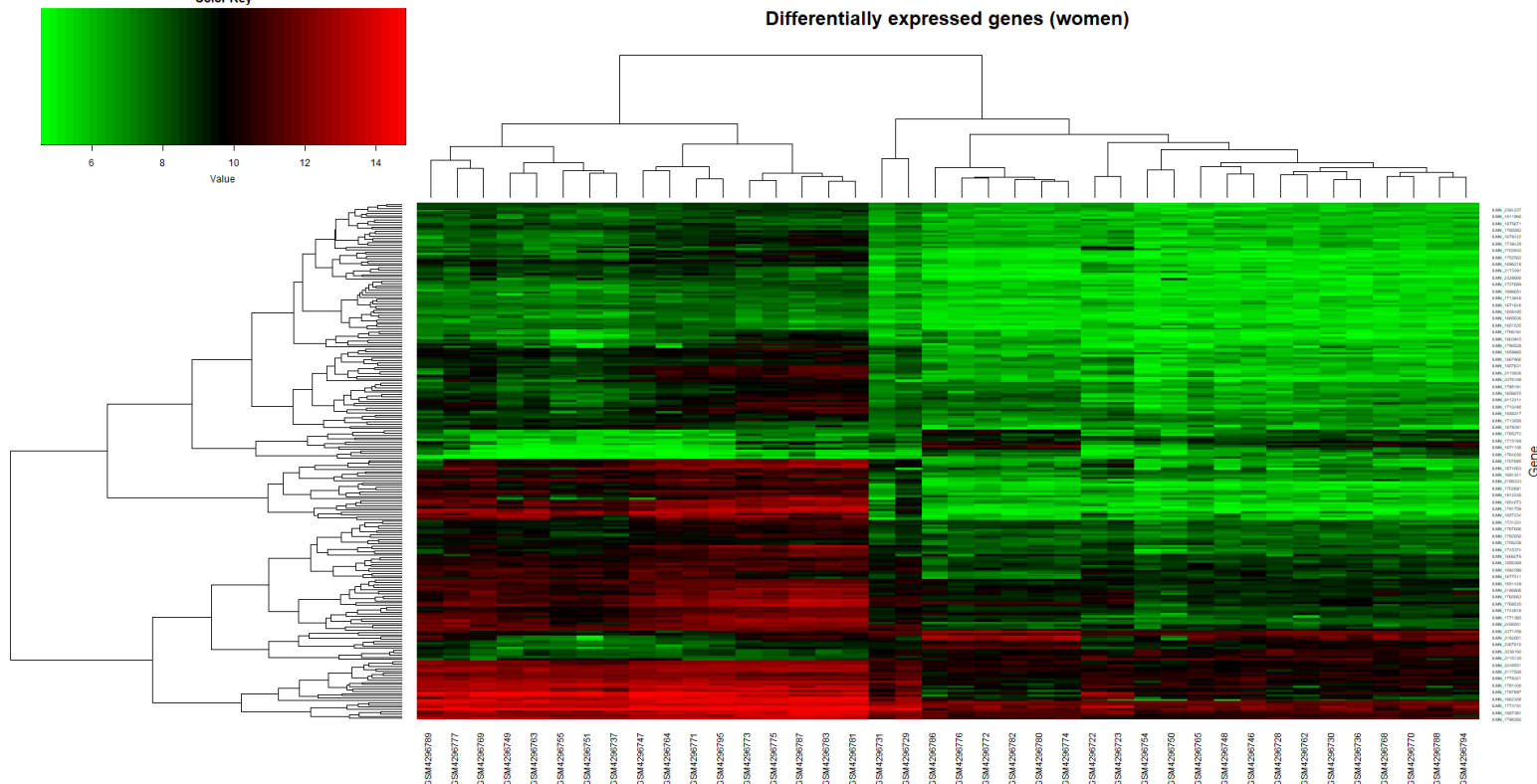


## Differential expression (women)



Color Key

## Differentially expressed genes (women)



Ponownie obserwujemy zjawisko ekspresji różnicowej w zależności od traktowania TNF.

Wyniki ogólnie są dość zbliżone w porównaniu do wyników dla mężczyzn. Dla kobiet ogólnie wykryto więcej genów ulegających ekspresji zróżnicowanej (ok. 900). Natomiast jeśli chodzi o logarytmy zmiany FC (wykresy volcano) to wyglądają one bardzo podobnie.

Patrząc na fragmenty tabeli z najbardziej różnicowymi genami, częściowo się one pokrywają u mężczyzn i u kobiet, ale widać, że np. gen który u kobiet uległ najbardziej różnicowej ekspresji jest nieobecny w najbardziej różnicowych genach u mężczyzn.