

Análisis transcriptómicos de la expresión génica

Máster Universitario en Bioinformática

Sesión 2



**Universidad
Internacional
de Valencia**

Dra. Paula Soler Vila
paula.solerv@professor.universidadviu.com

De:

 Planeta Formación y Universidades



Bloque I: Introducción y generalidades del transcriptoma
junto a las técnicas transcriptómicas actuales y emergentes
necesarias para su análisis

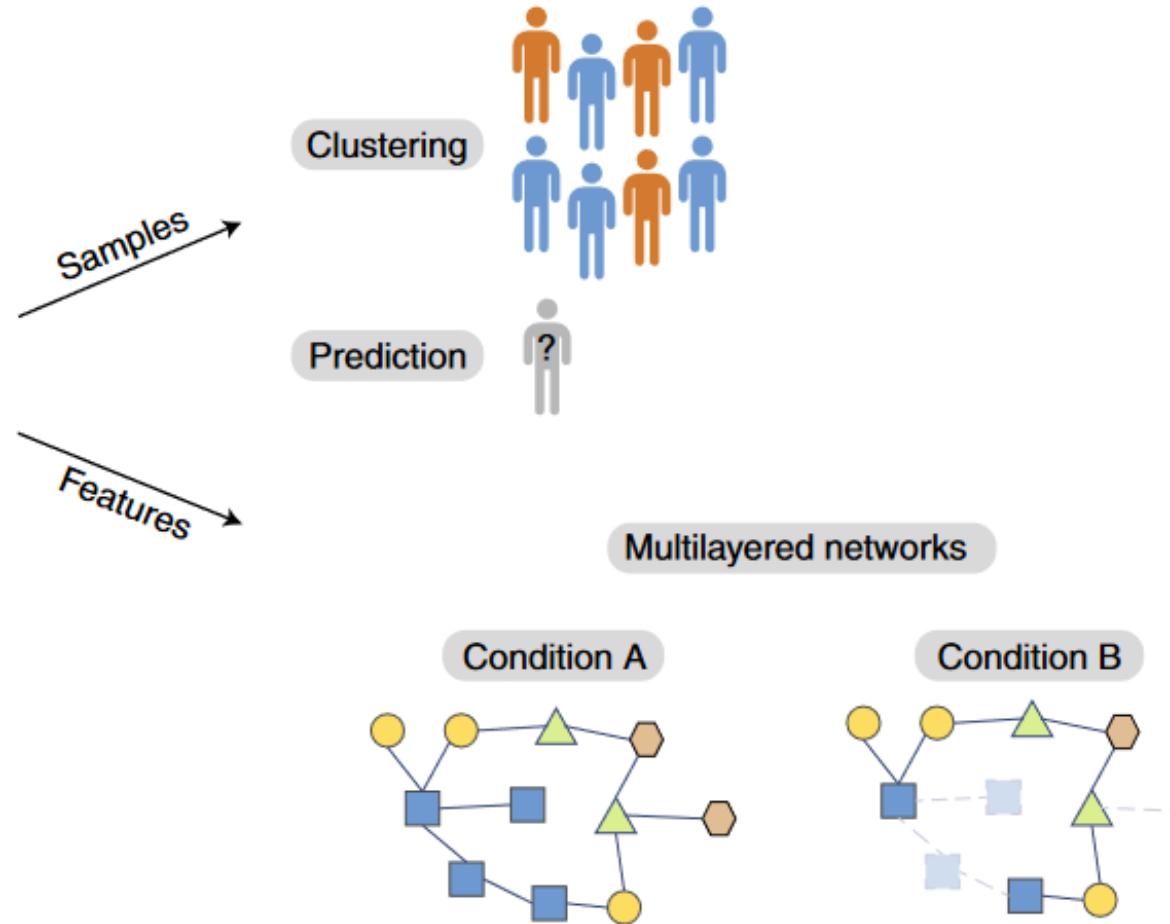
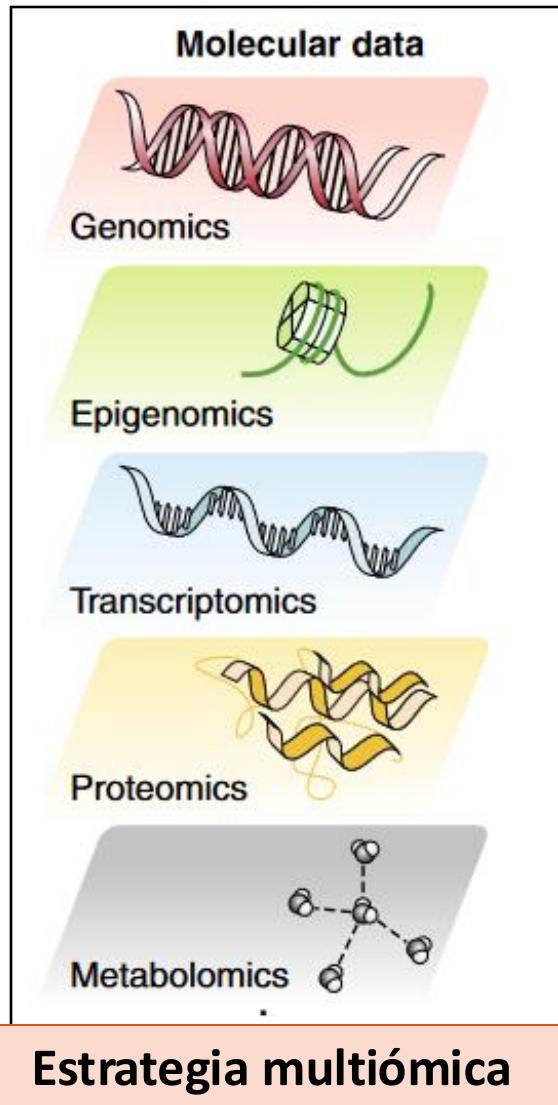
Objetivos de la sesión

1

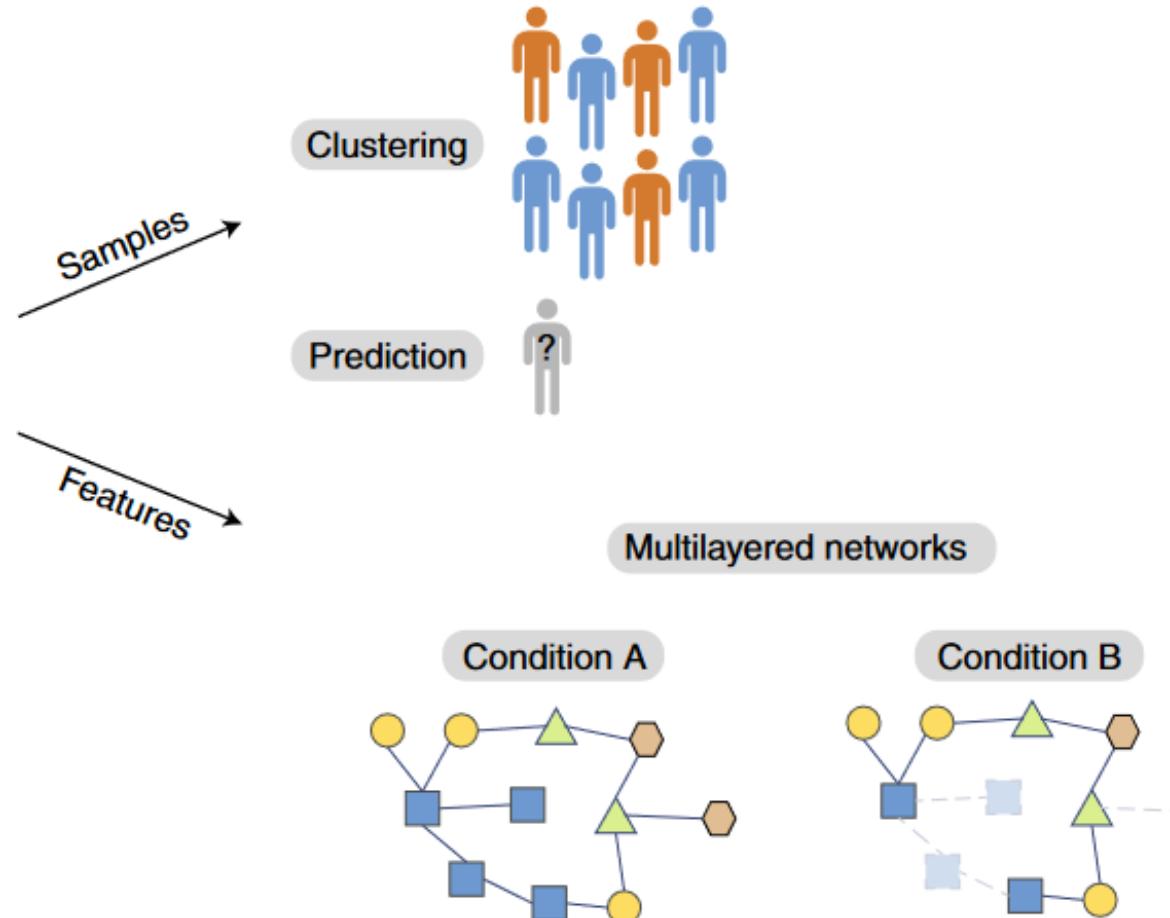
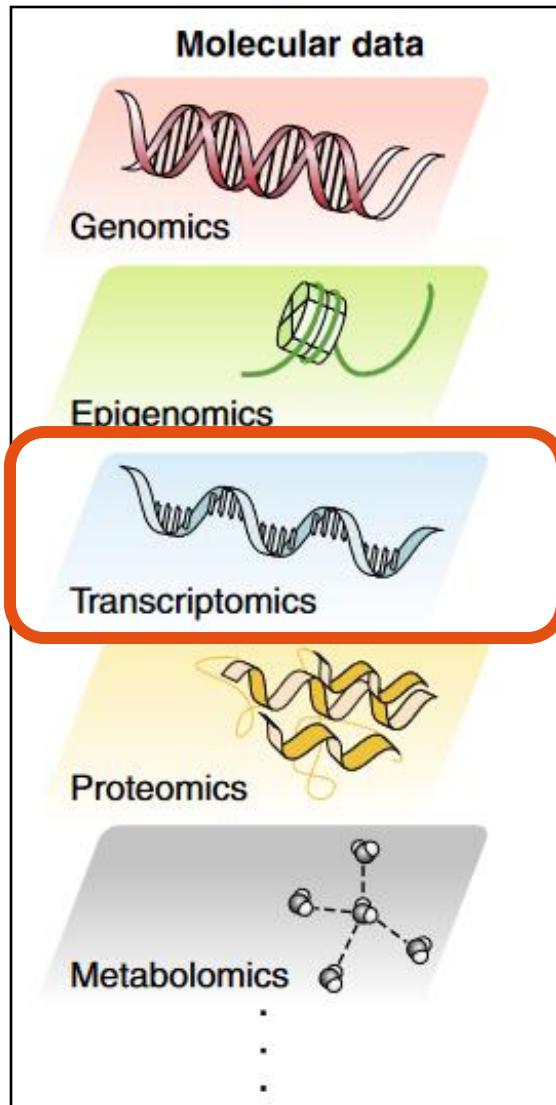
Conocer cómo se caracteriza y estudia el **transcriptoma** gracias a la **transcriptómica**.

- Pre-transcriptómica
- Transcriptómica
 - Micromatrices (*microarrays*)
 - RNA-seq
 - Secuenciación de segunda generación (“lecturas cortas”)
 - Secuenciación de tercera generación (“lecturas largas”)
 - RNA-seq a nivel unicelular (single cell -> scRNA-seq)

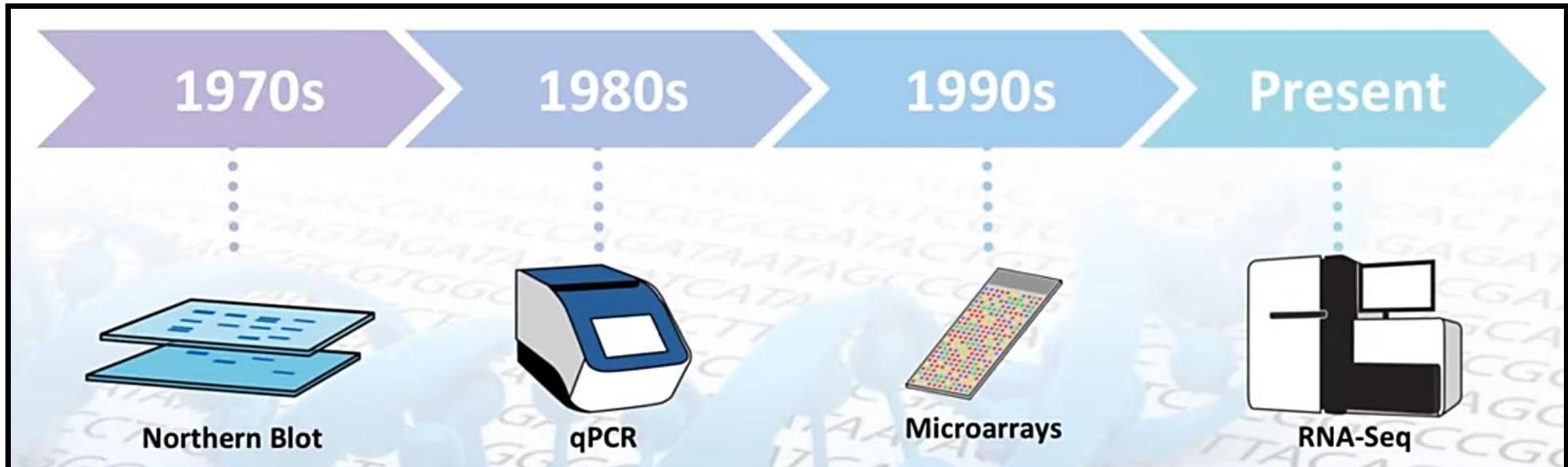
Principales áreas de investigación: Ciencias Ómicas



Principales áreas de investigación: Ciencias Ómicas



Desarrollo de la Transcriptómica

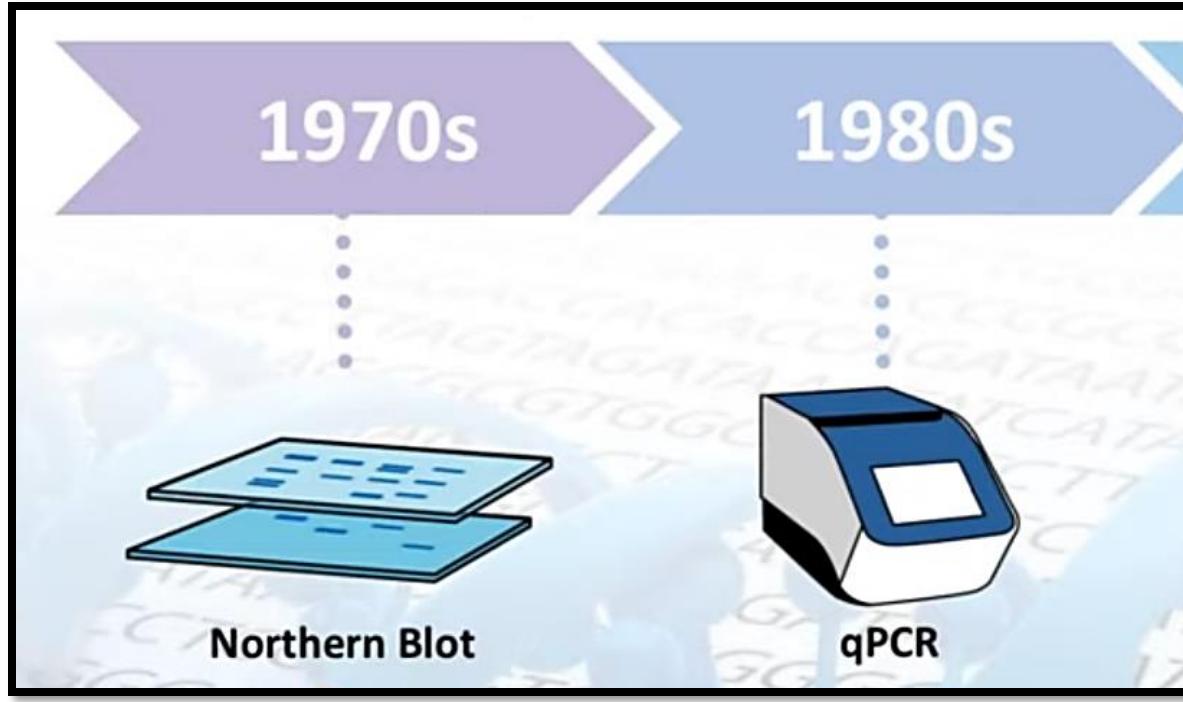


Pretranscriptómica



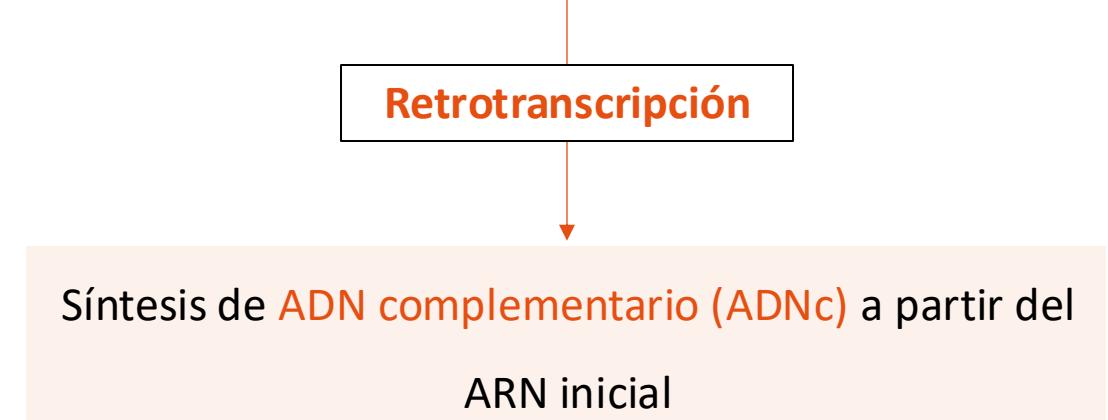
Transcriptómica

Desarrollo de la Transcriptómica

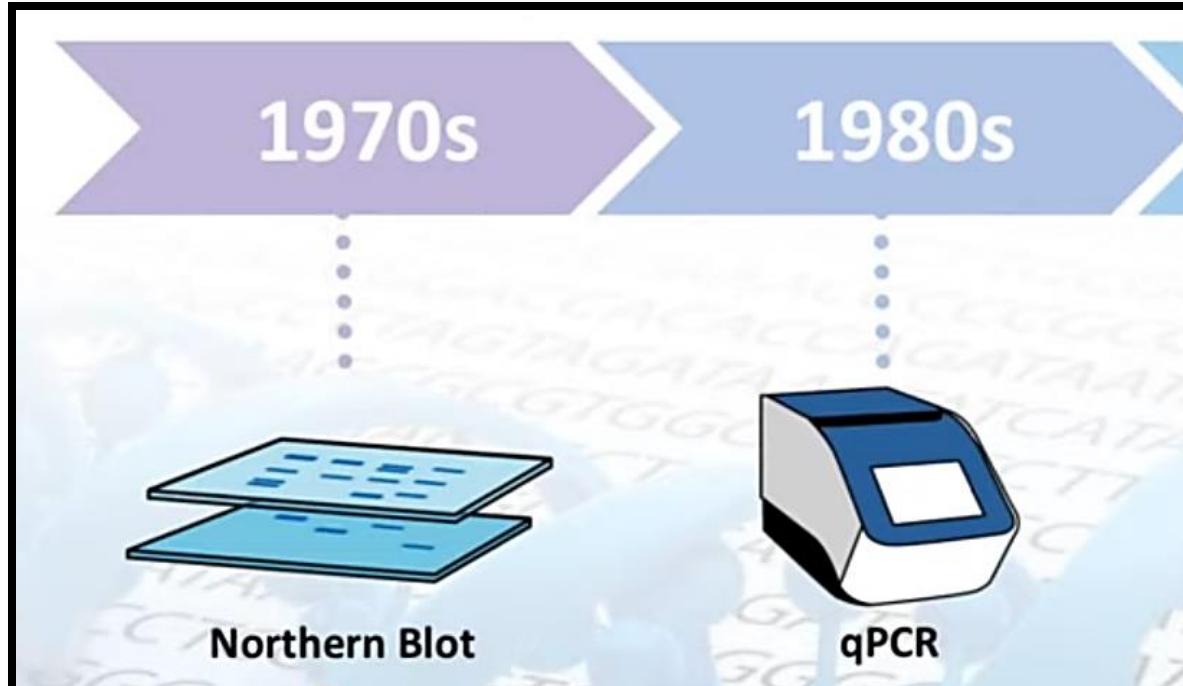


Pretranscriptómica

Toda reacción de PCR cuantitativa requiere de un
“molde” inicial: **ADN / ARN**



Desarrollo de la Transcriptómica



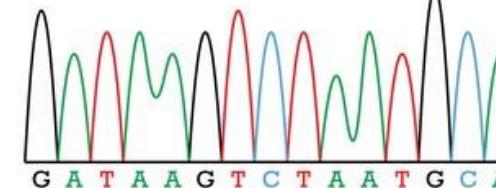
Pretranscriptómica

1

El primer hito podría considerarse el descubrimiento de la **enzima transcriptasa inversa** en los retrovirus (1970).

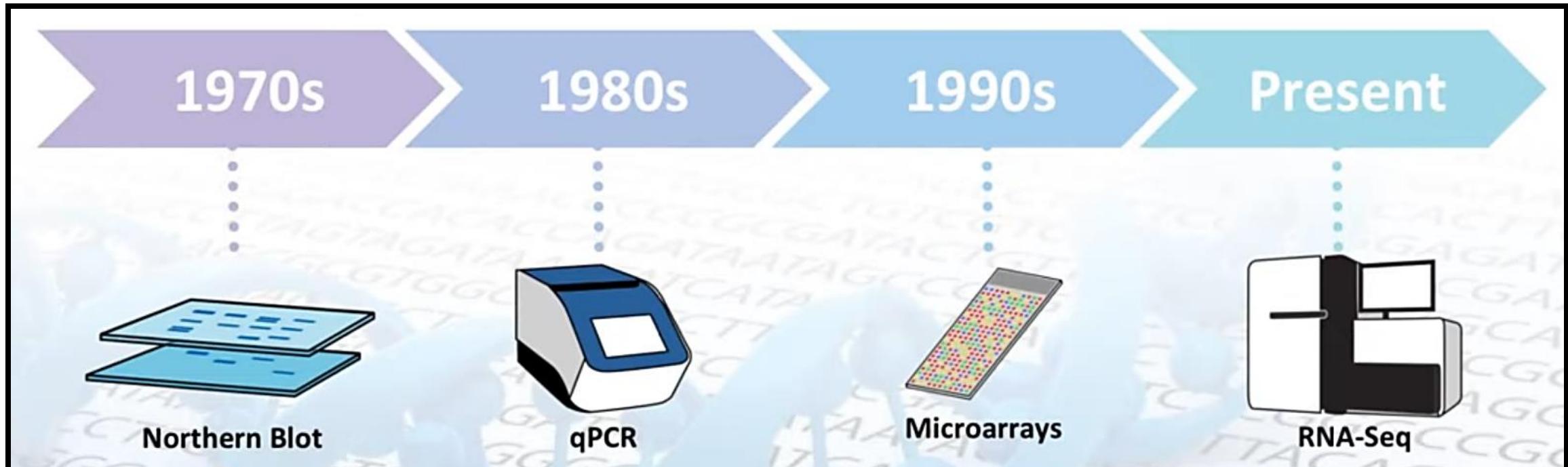
2

Método de secuenciación **Sanger** (1977)



DNA Sequencing

Desarrollo de la Transcriptómica

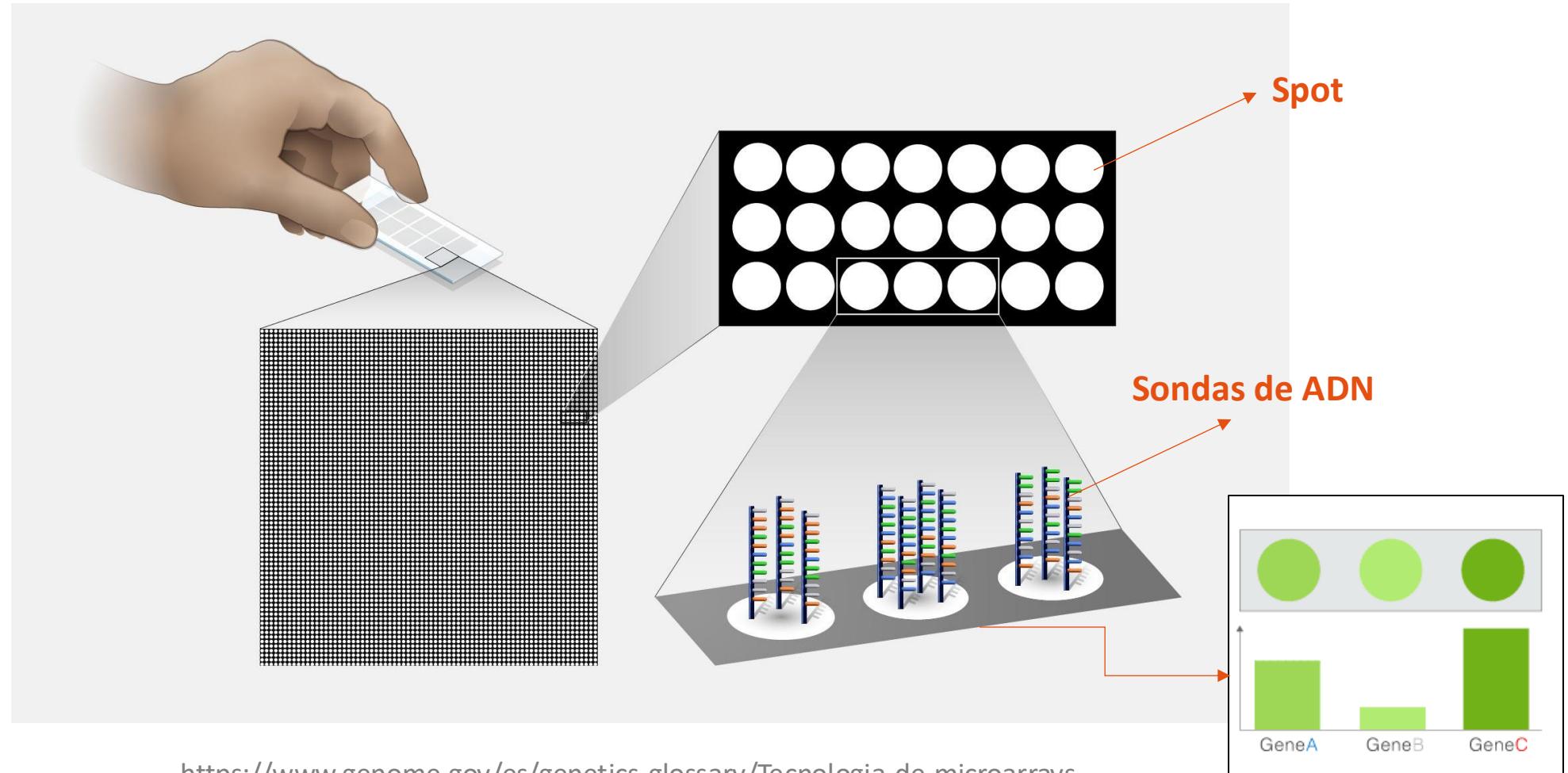


Pretranscriptómica



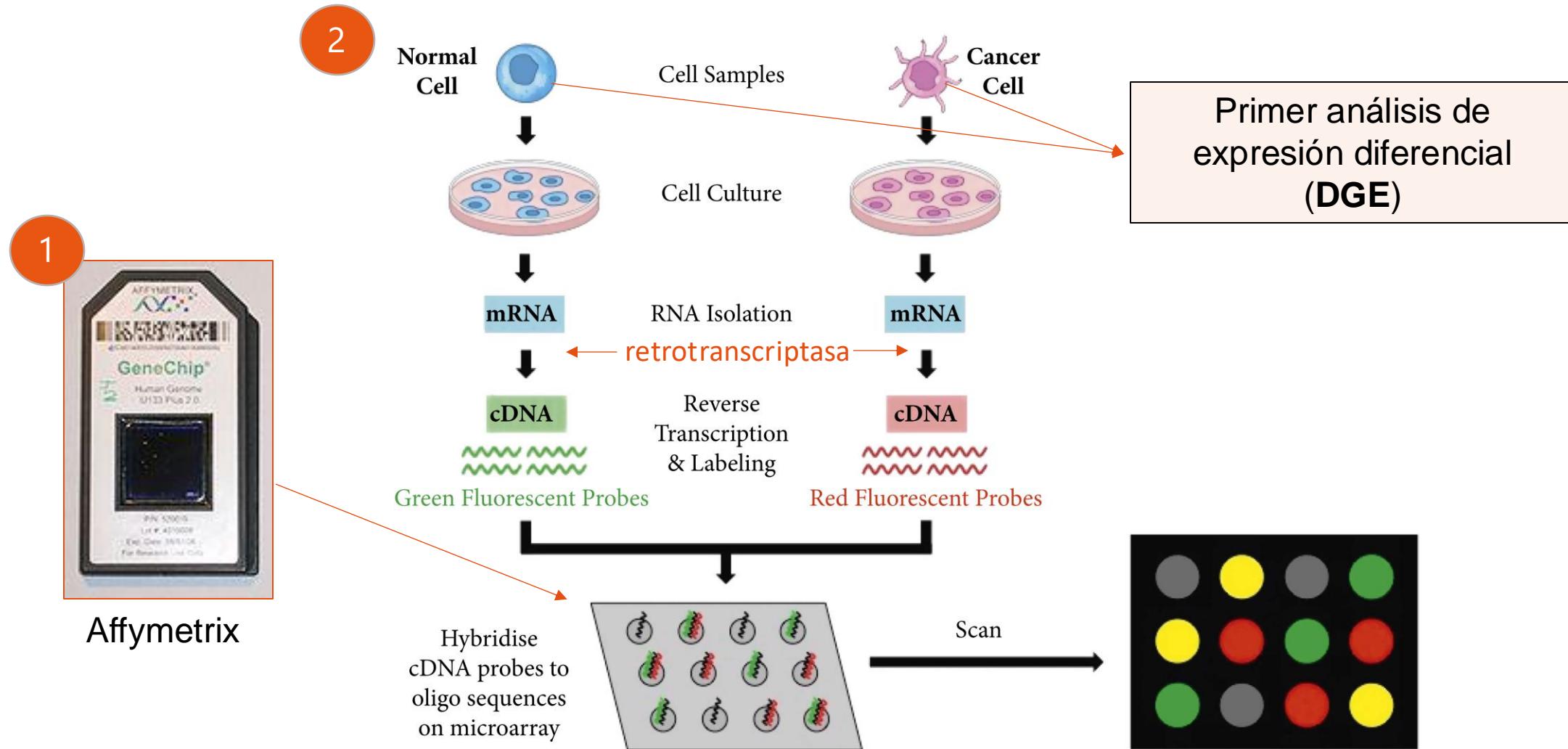
Transcriptómica

Se basan en la **hibridación** por similitud de dos moléculas de ADN de cadena sencilla

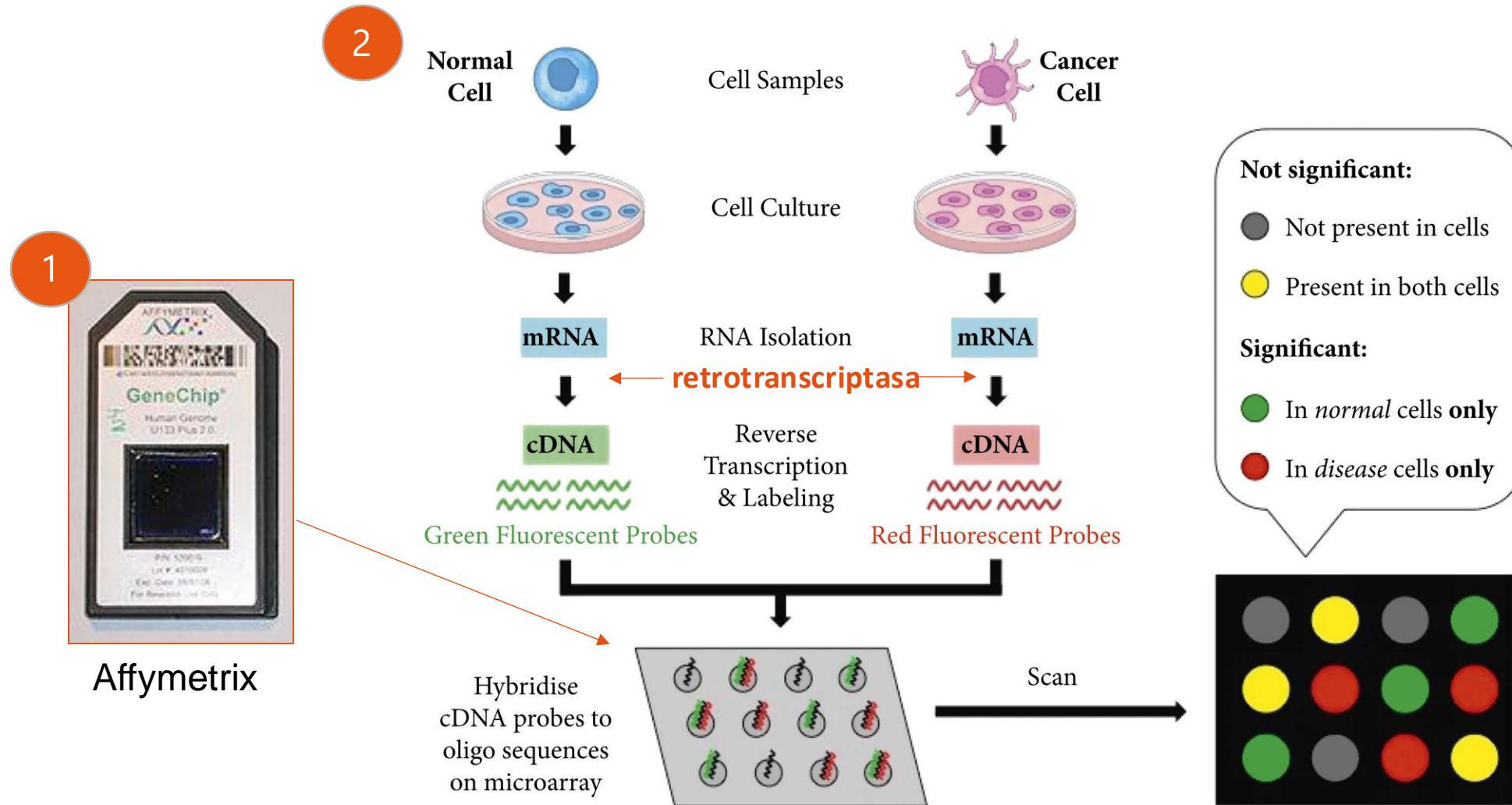


<https://www.genome.gov/es/genetics-glossary/Tecnologia-de-microarrays>

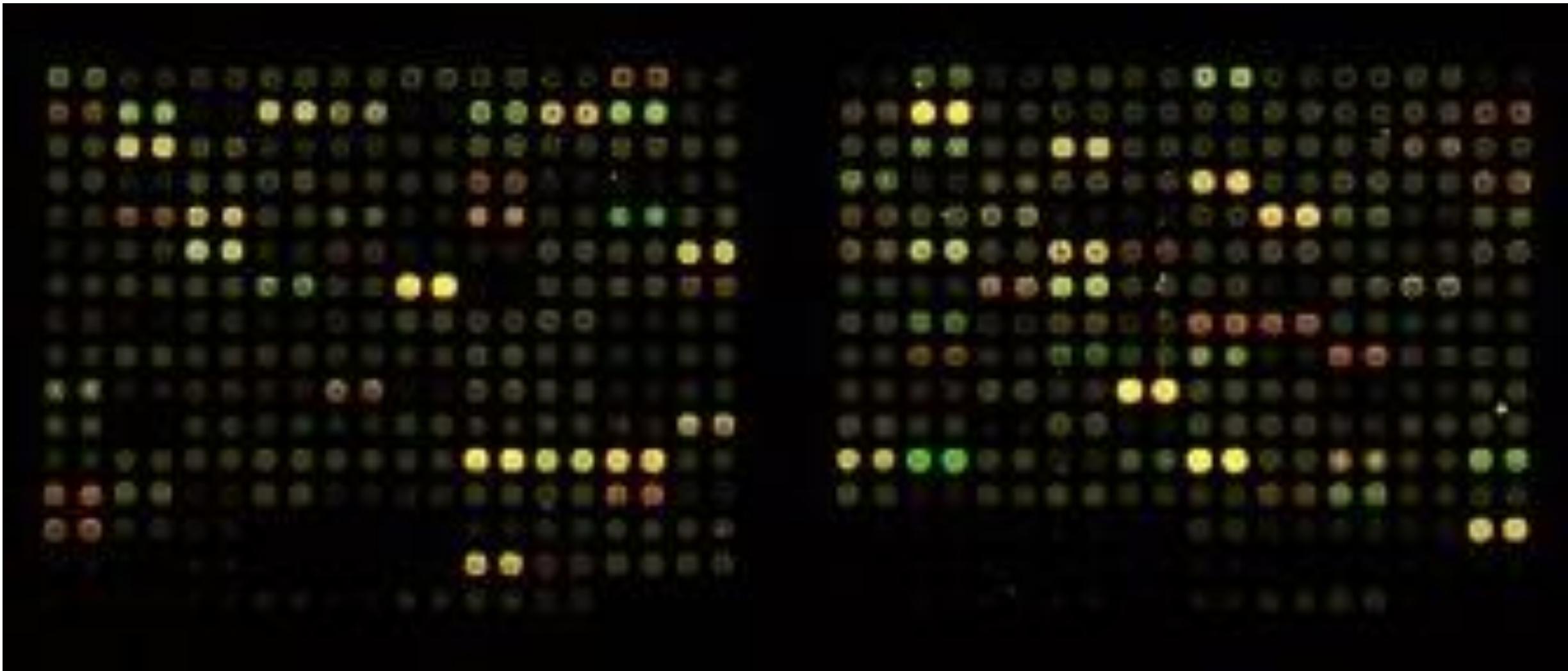
Micromatrices de ADN



Micromatrices de ADN



Micromatrices de ADN



Distinguiendo entre la leucemia linfoblástica aguda (ALL) y la leucemia mieloide aguda (AML)

Science

Current Issue First release papers Archive About ▾ Submit manuscript

HOME > SCIENCE > VOL. 286, NO. 5439 > MOLECULAR CLASSIFICATION OF CANCER: CLASS DISCOVERY AND CLASS PREDICTION BY GENE EXPRESSION...

REPORTS

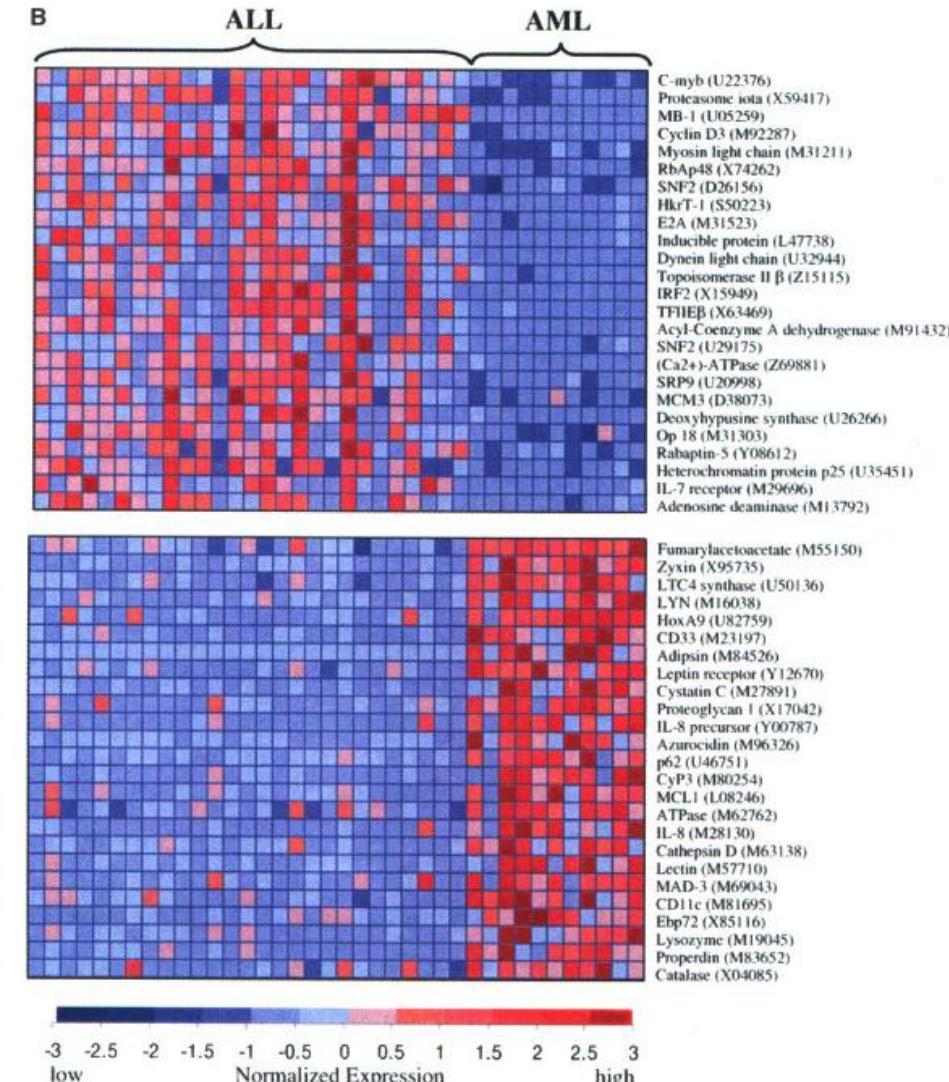
f t in r e

Molecular Classification of Cancer: Class Discovery and Class Prediction by Gene Expression Monitoring

T. R. GOLUB, D. K. SLONIM, P. TAMAYO, C. HUARD, M. GAASENBEEK, J. P. MESIROV, H. COLLER, M. L. LOH, J. R. DOWNING, [...], AND E. S. LANDER +2 authors Authors

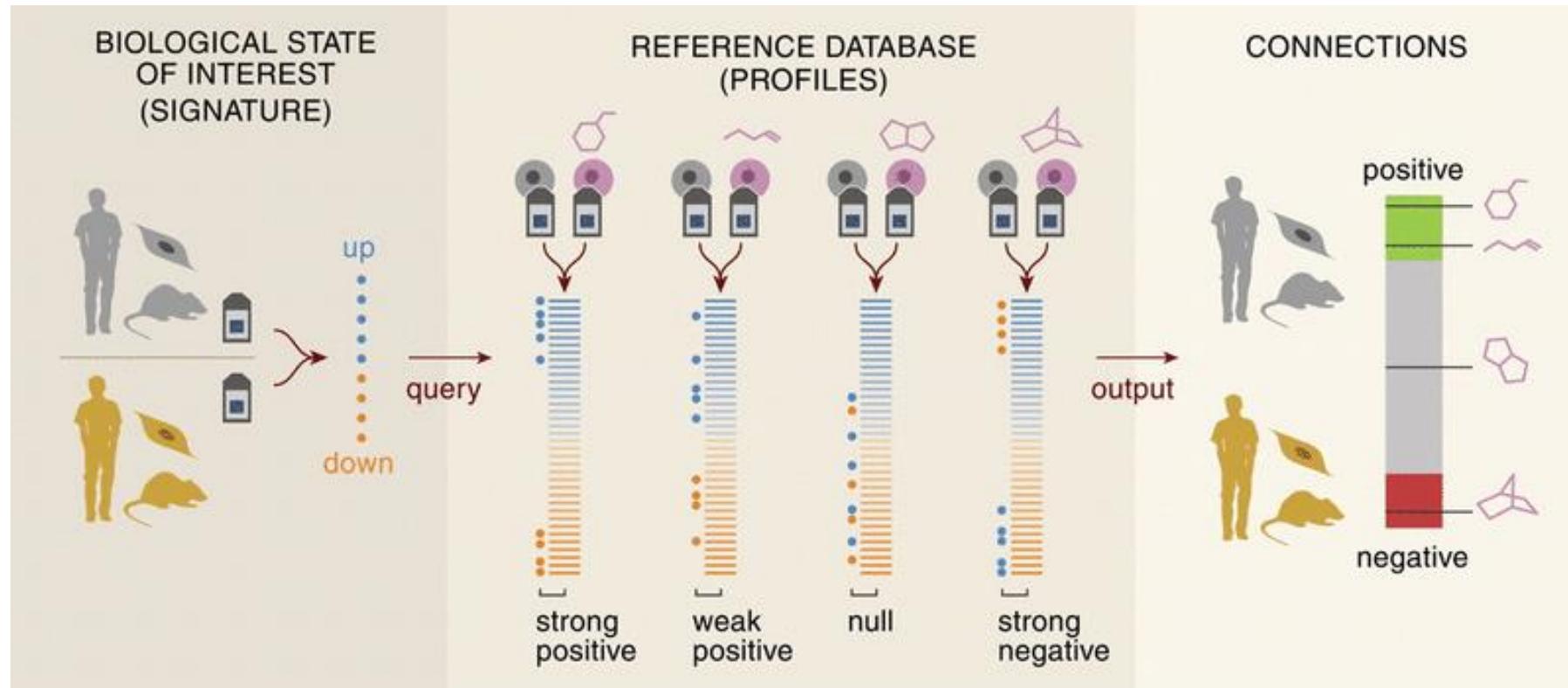
Info & Affiliations

SCIENCE • 15 Oct 1999 • Vol 286, Issue 5439 • pp. 531-537 • DOI: 10.1126/science.286.5439.531

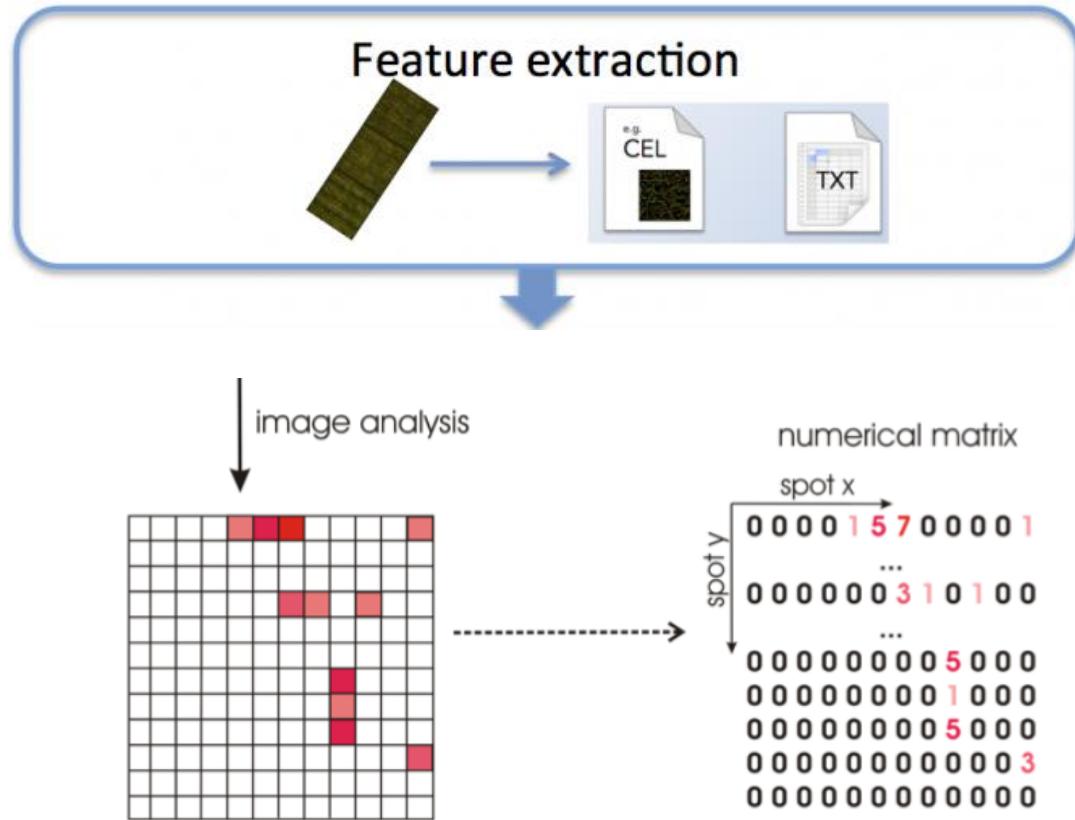


Connectivity Map (CMAP)

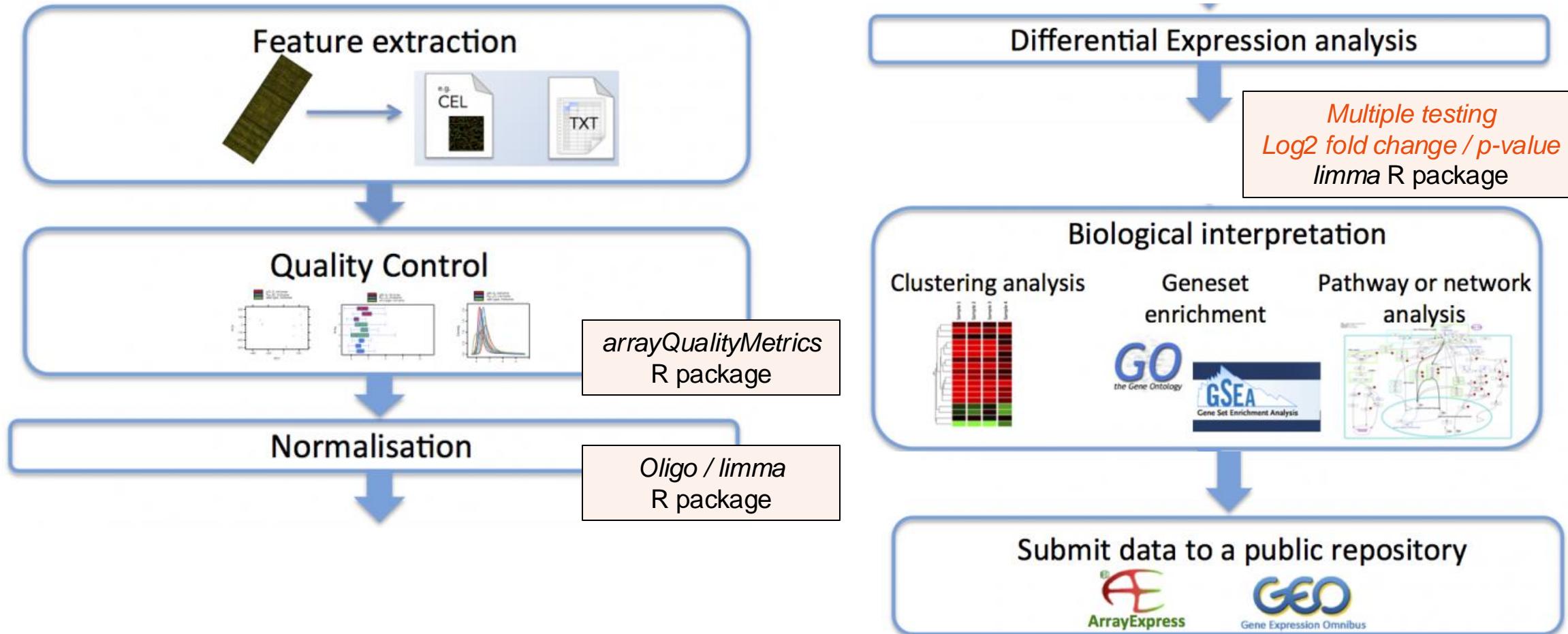
Creating and analyzing large perturbational datasets to aid our understanding of human disease and to accelerate the discovery of novel therapeutics.



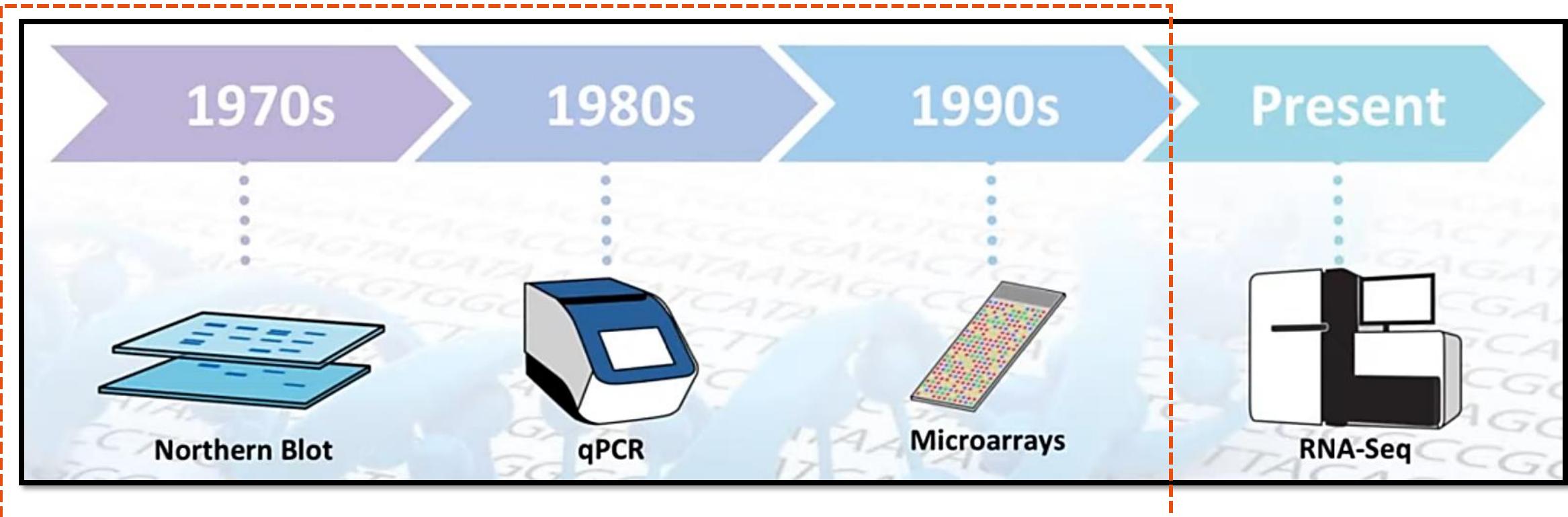
Análisis de las micromatrices de ADN



Análisis de las micromatrices de ADN



Desarrollo de Transcriptómica



Ventajas

- Bajo coste
- Pueden ser desarrollados en cualquier laboratorio

Inconvenientes

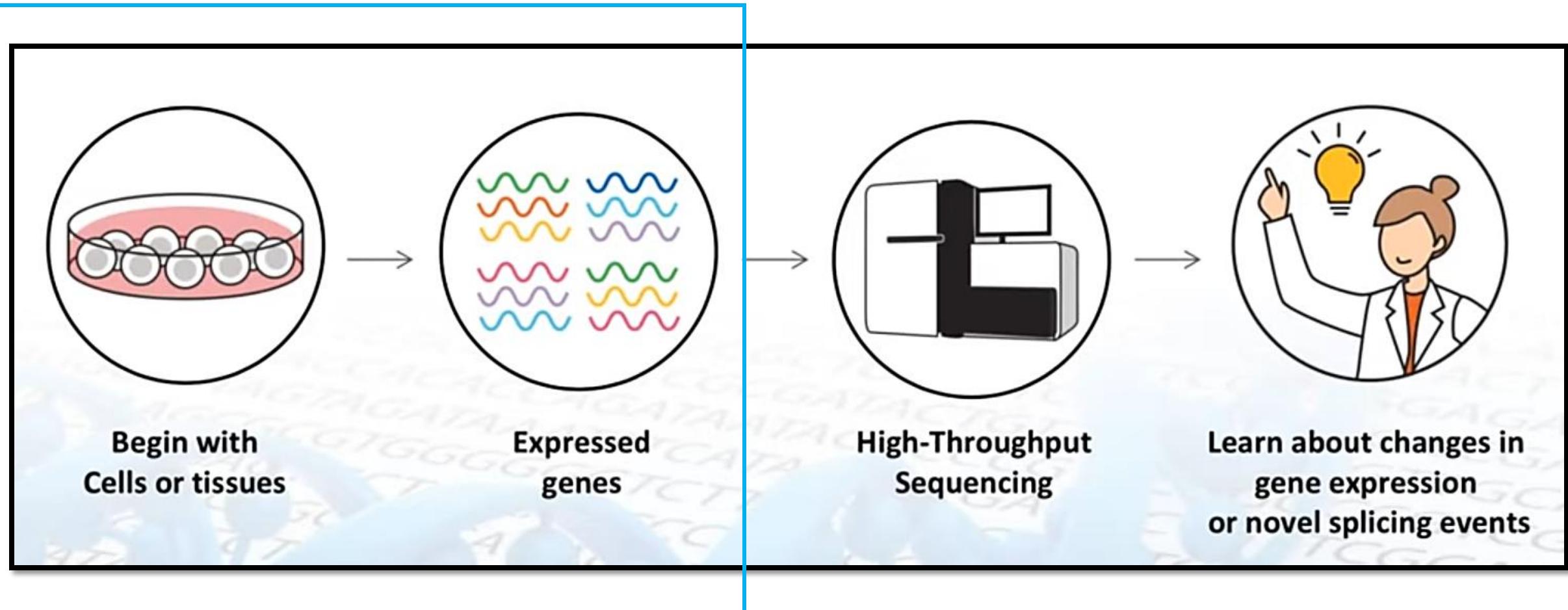
- Requiere un conocimiento a priori del gen/mRNA
- Número limitado de probes/targets



¿Por qué emplear RNA-seq frente microarrays?

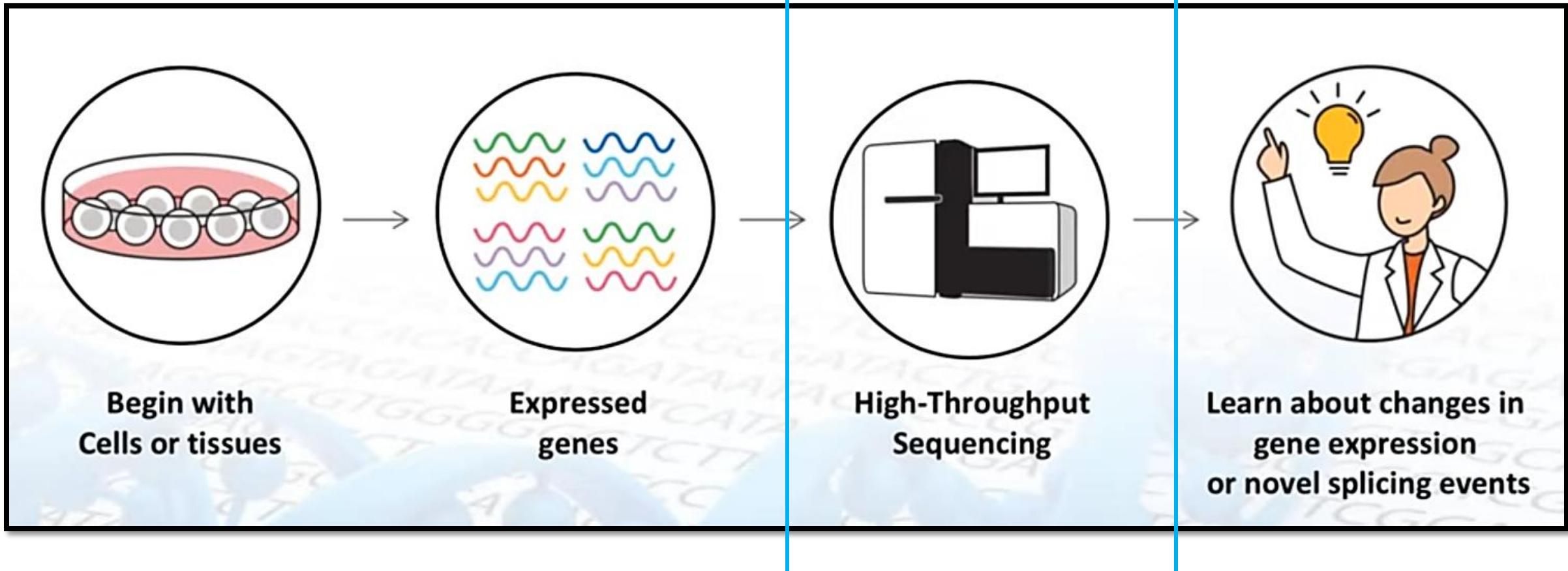
- Requiere cantidades de ARN muy bajas del orden de nanogramos, frente a los microgramos que requerían los microarrays.
- Detección no-dirigida que sucede sin necesidad de sondas específicas.
 - Identificación de una mayor cantidad de genes.
 - Identificación de nuevos transcritos en organismos “no-modelo”.
- Alto nivel de sensibilidad y tasa de error muy baja, lo que permite detectar variantes de un solo nucleótido.
- Alta especificidad, evitando los problemas de hibridación cruzada de los microarrays.
- Detección de genes con umbrales de expresión muy bajos.
- Reproducibilidad técnica muy elevada.

1. Laboratorio



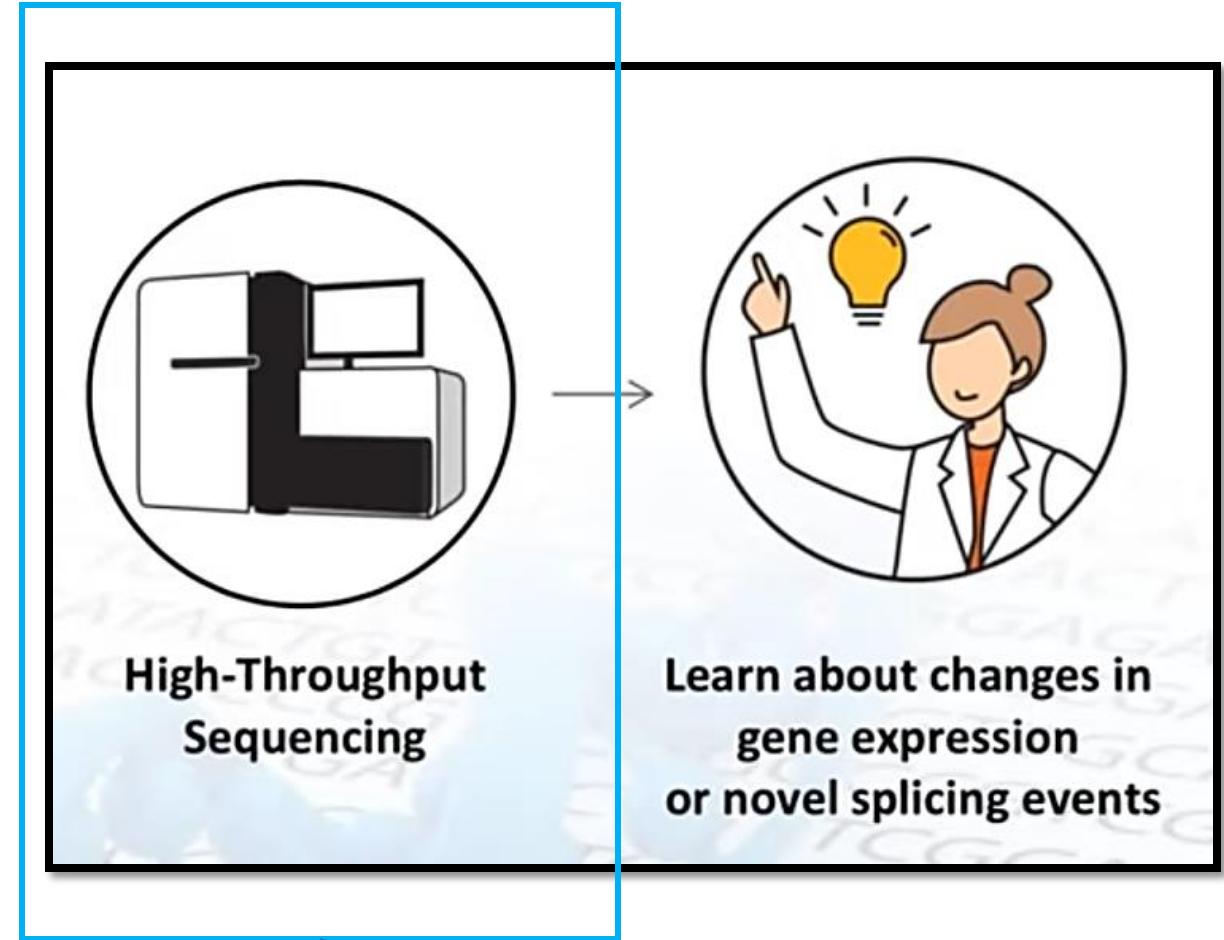
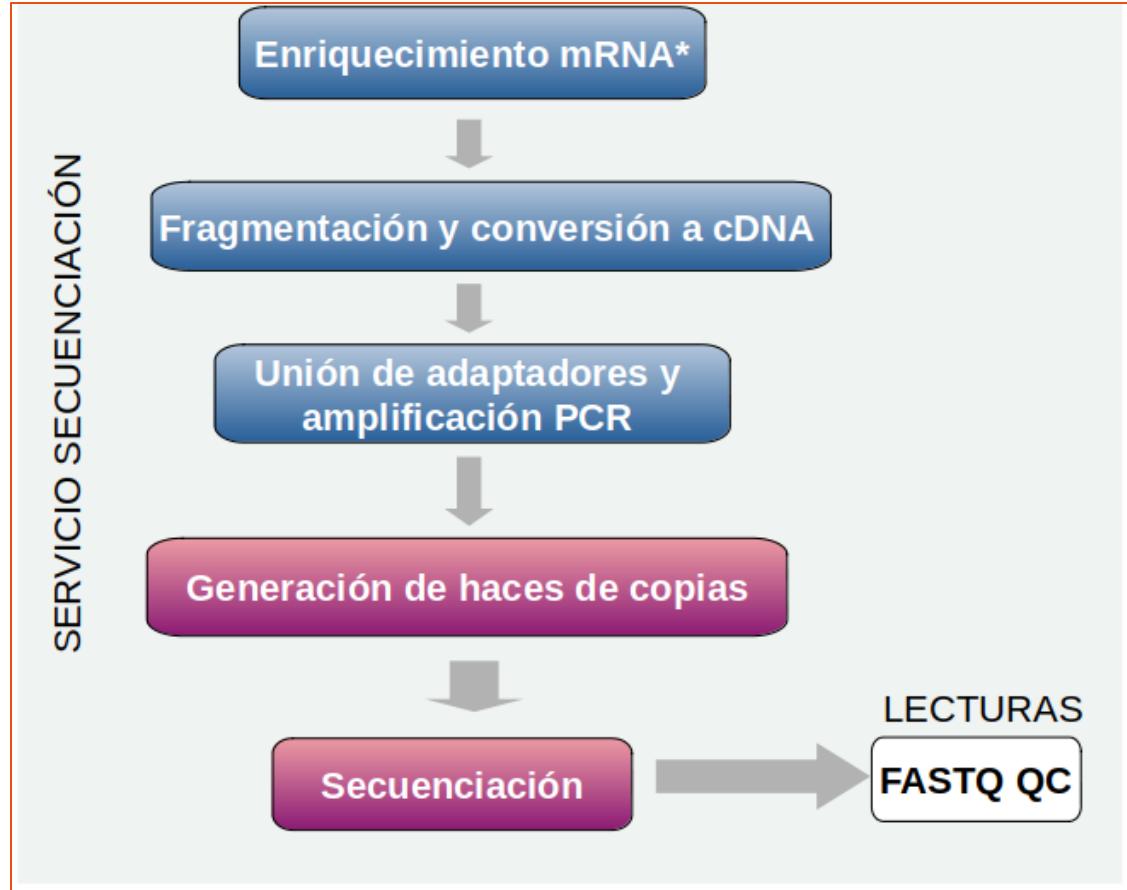
Laboratorio -> Diseño experimental
Extracción del ARN (Control de Calidad e Integridad)

2. Servicio de secuenciación



Servicio de secuenciación -> Preparación de la biblioteca

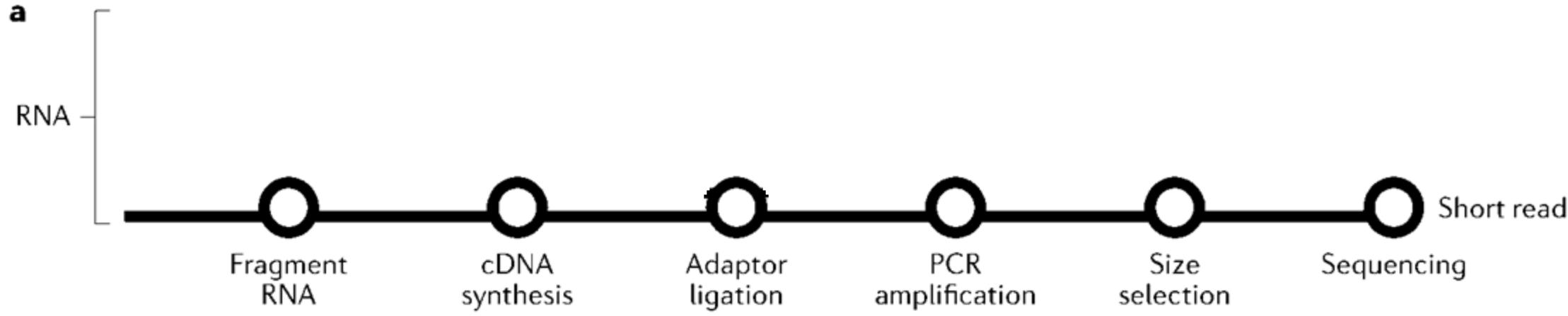
Tecnologías de alto rendimiento



La secuenciación de **segunda** generación
short read o lectura corta

La secuenciación de **tercera** generación
long read o lectura larga

Secuenciación de segunda generación (NGS)

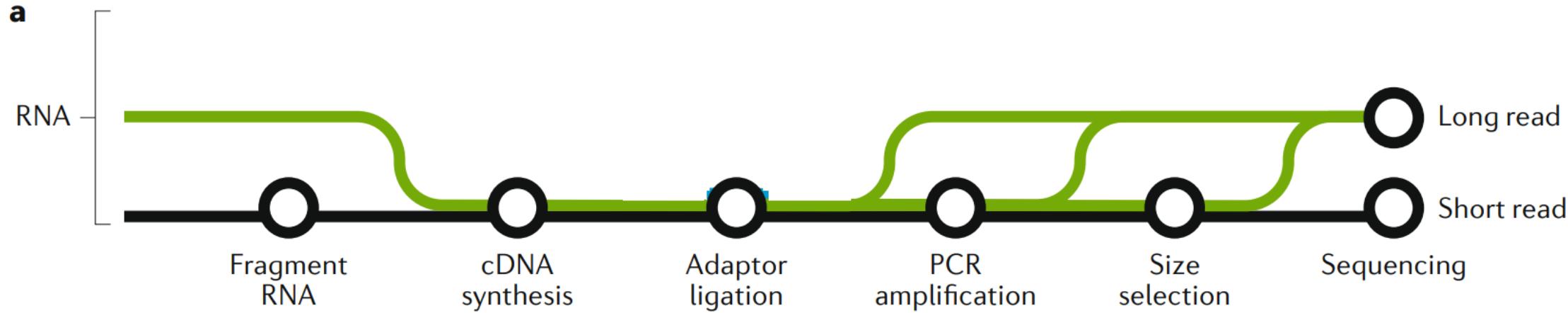


Plataforma	Año	Tipo	Longitud lectura
454 Life Sciences	2005	pirólisis	700 bp
Illumina	2006	síntesis	50–300 bp
SOLiD	2008	ligación	50 bp

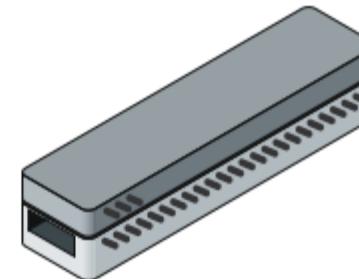


Illumina

Secuenciación de tercera generación

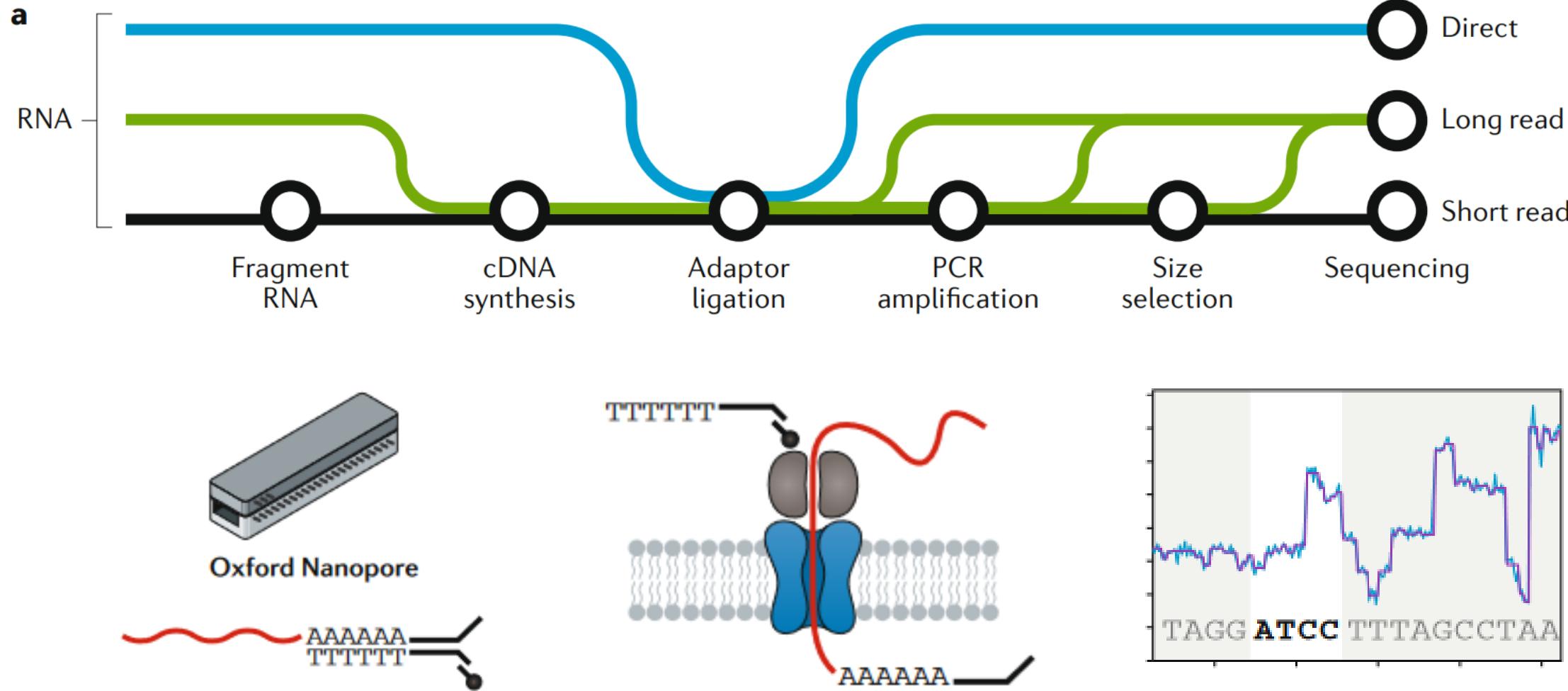


Pacific Biosciences

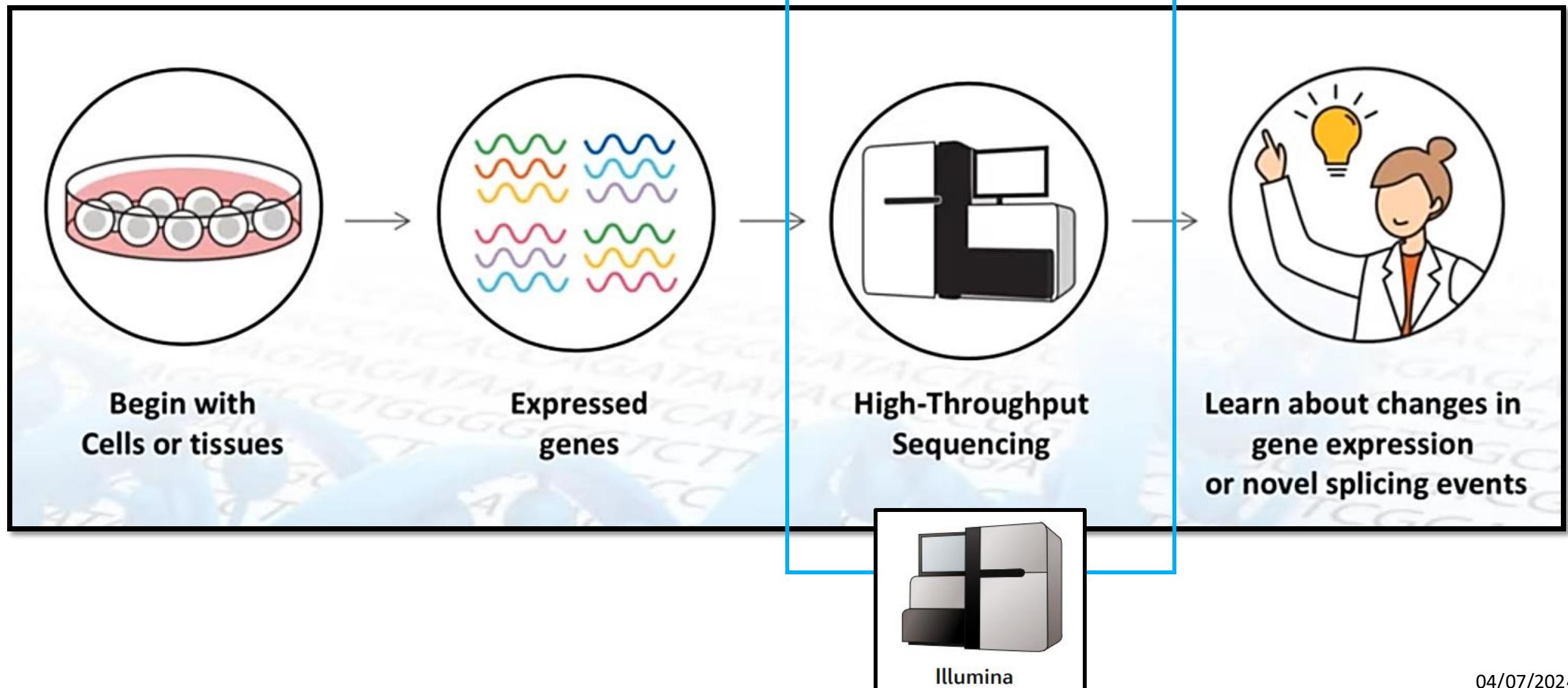


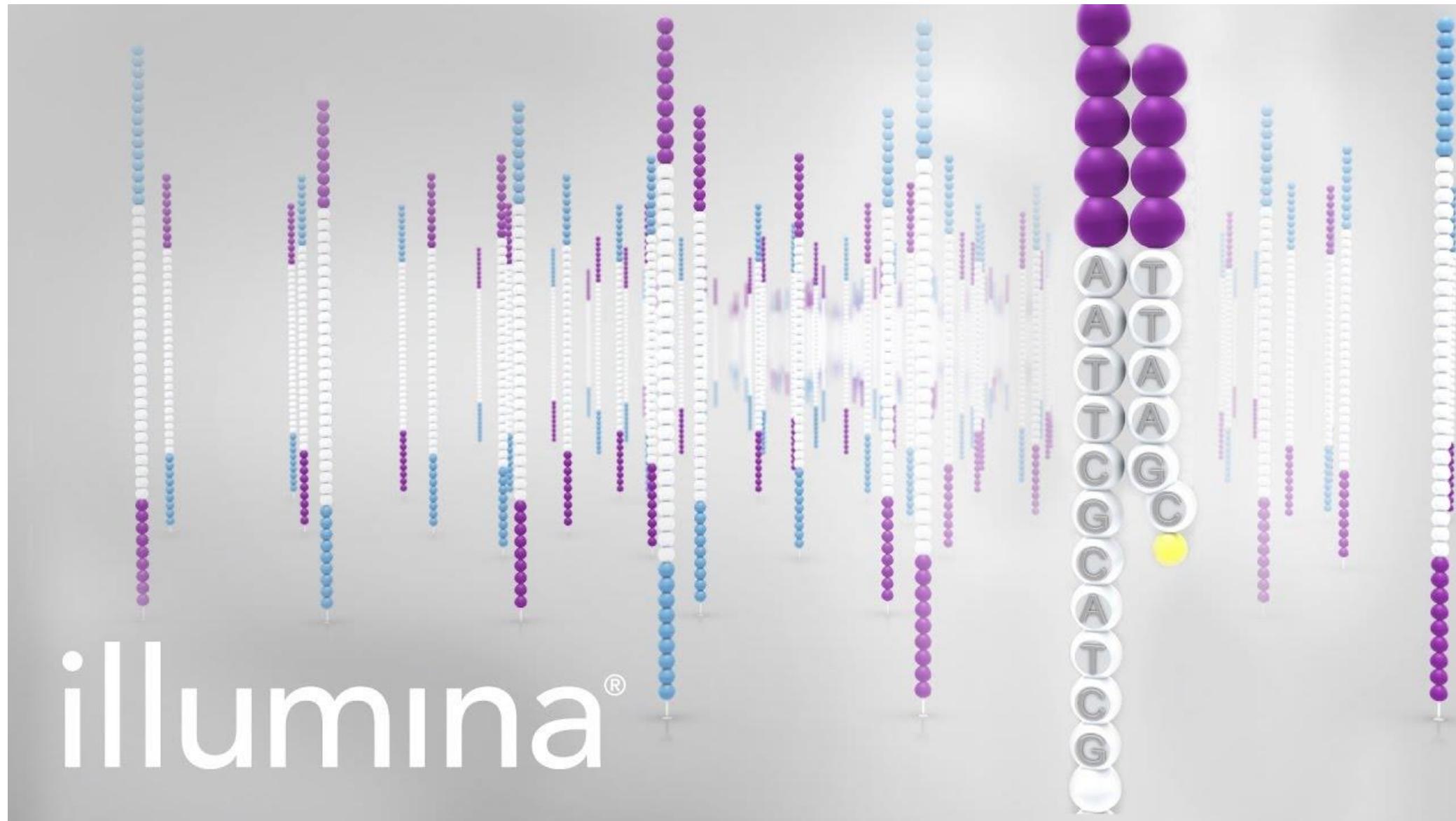
Oxford Nanopore

Secuenciación directa de ARN de lectura larga (dRNA-seq)



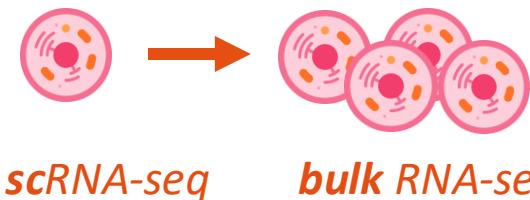
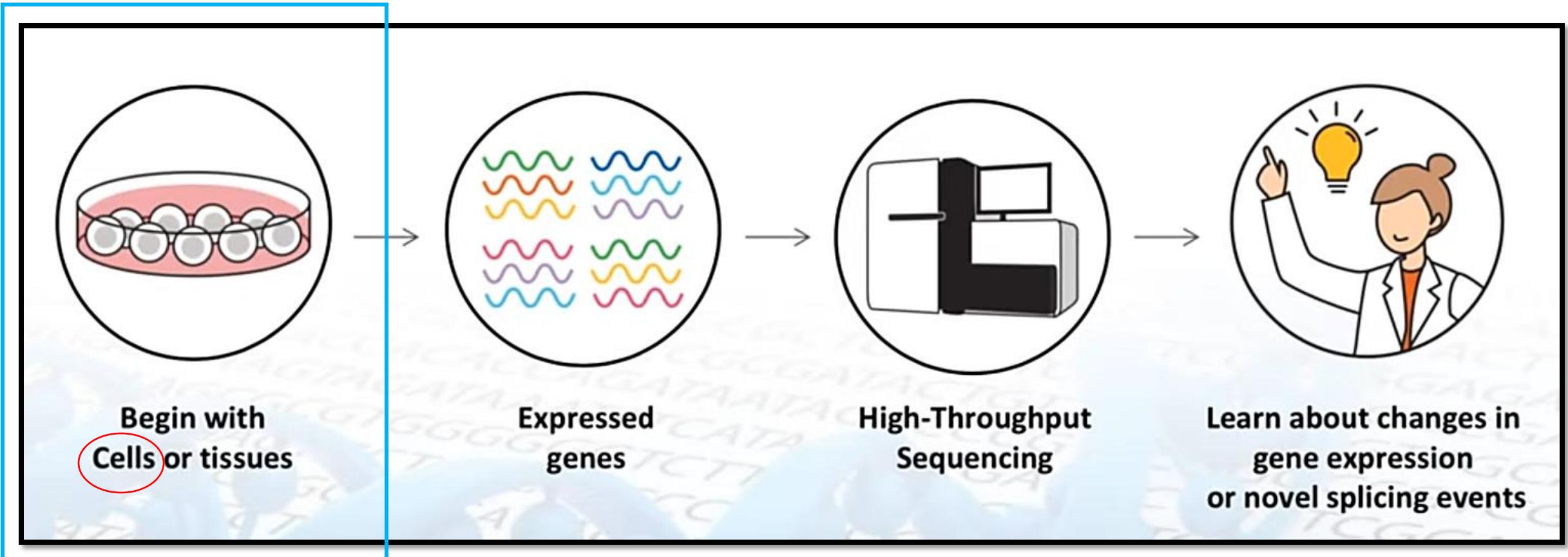
¿Qué es el RNA-seq?





<https://www.youtube.com/watch?v=fCd6B5HRaZ8&t=221s>

¿Qué es el *bulk* RNA-seq vs *single cell* RNA-seq?



Análisis de célula única vs análisis en masa (*Single cell vs Bulk technologies*)

Bulk



VS

Single cell

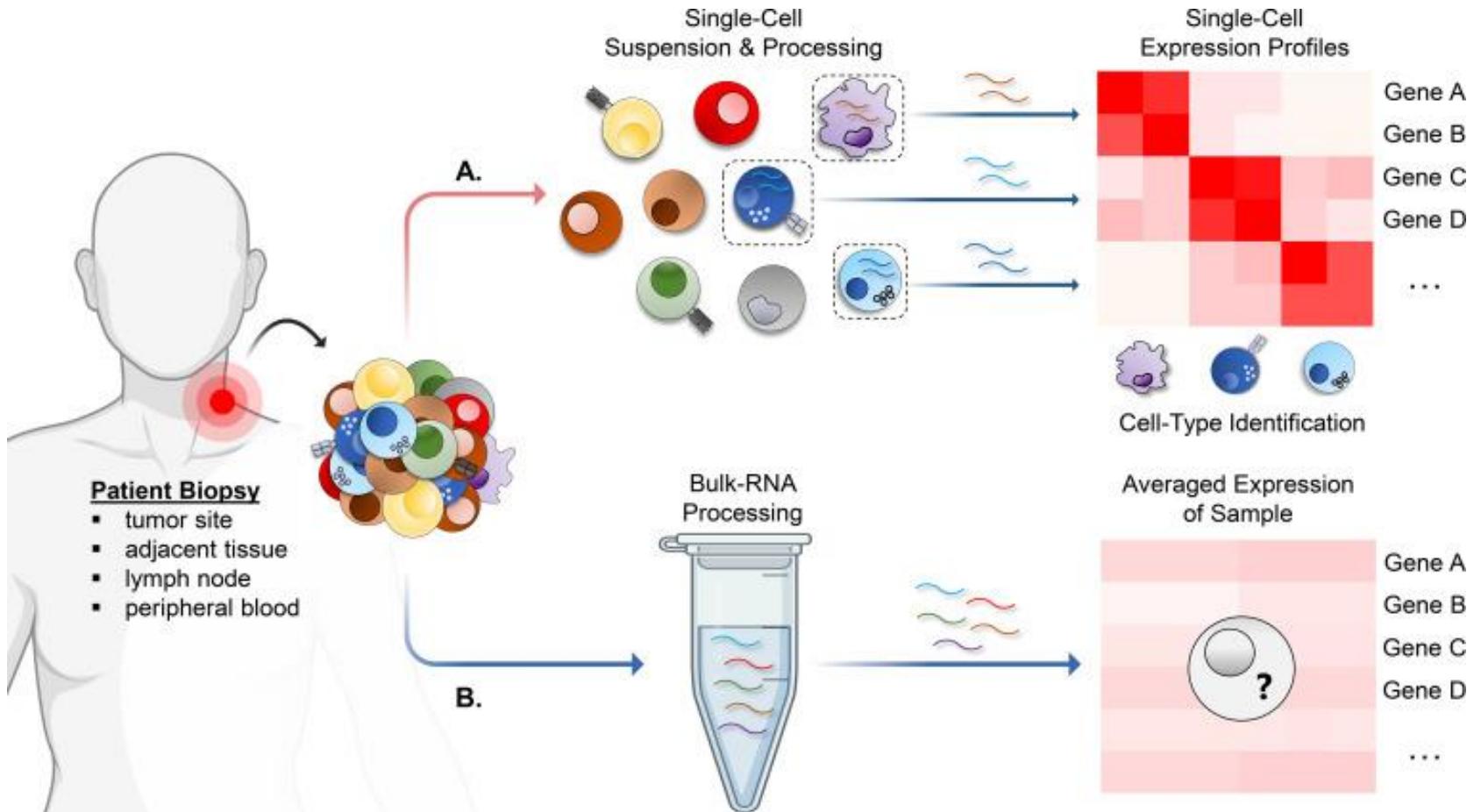


Single cell spatial analysis

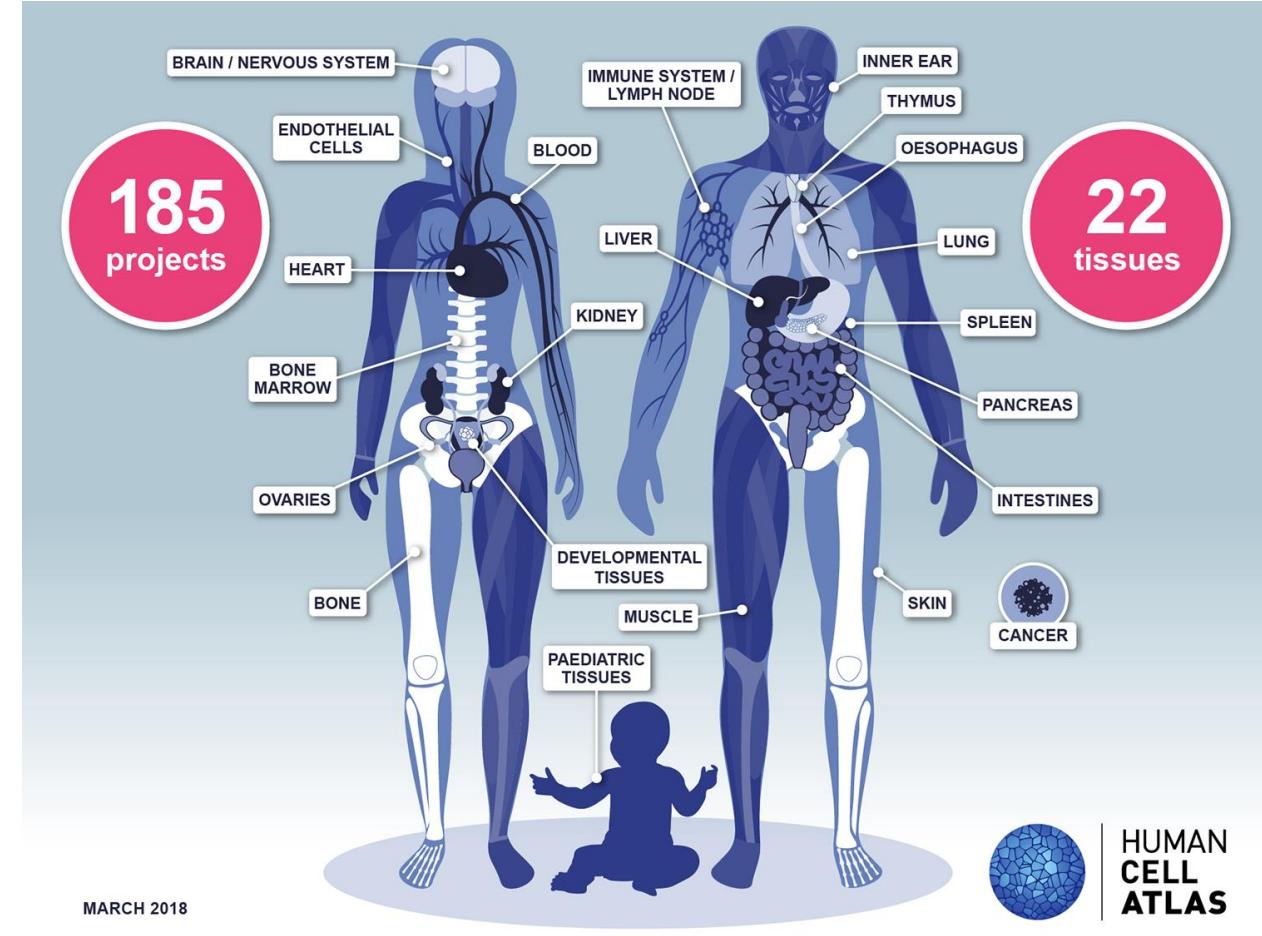
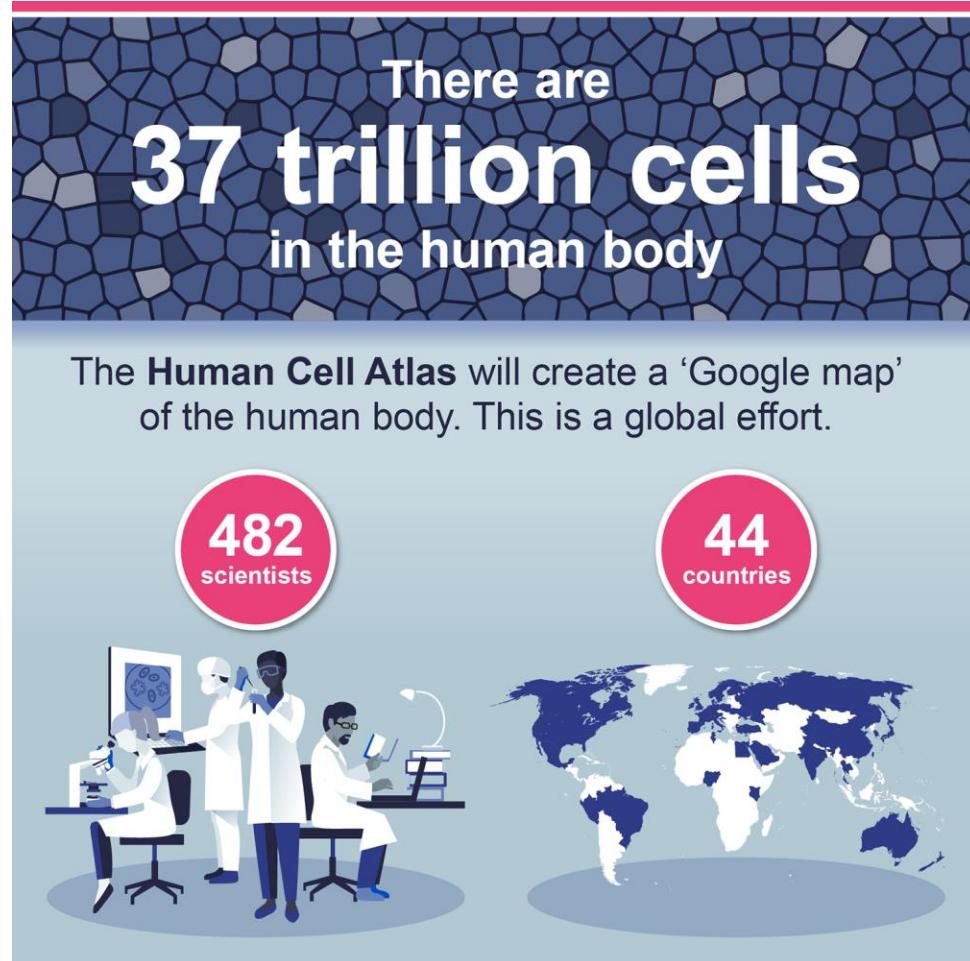
VS



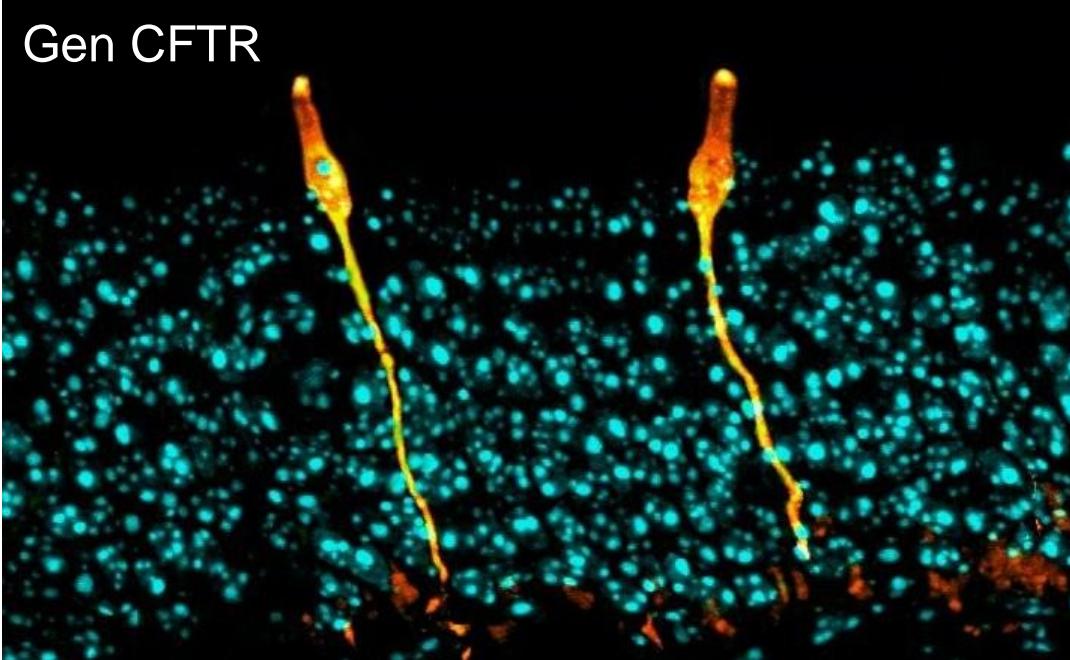
Análisis de célula única vs análisis en masa (*Single cell vs Bulk technologies*)



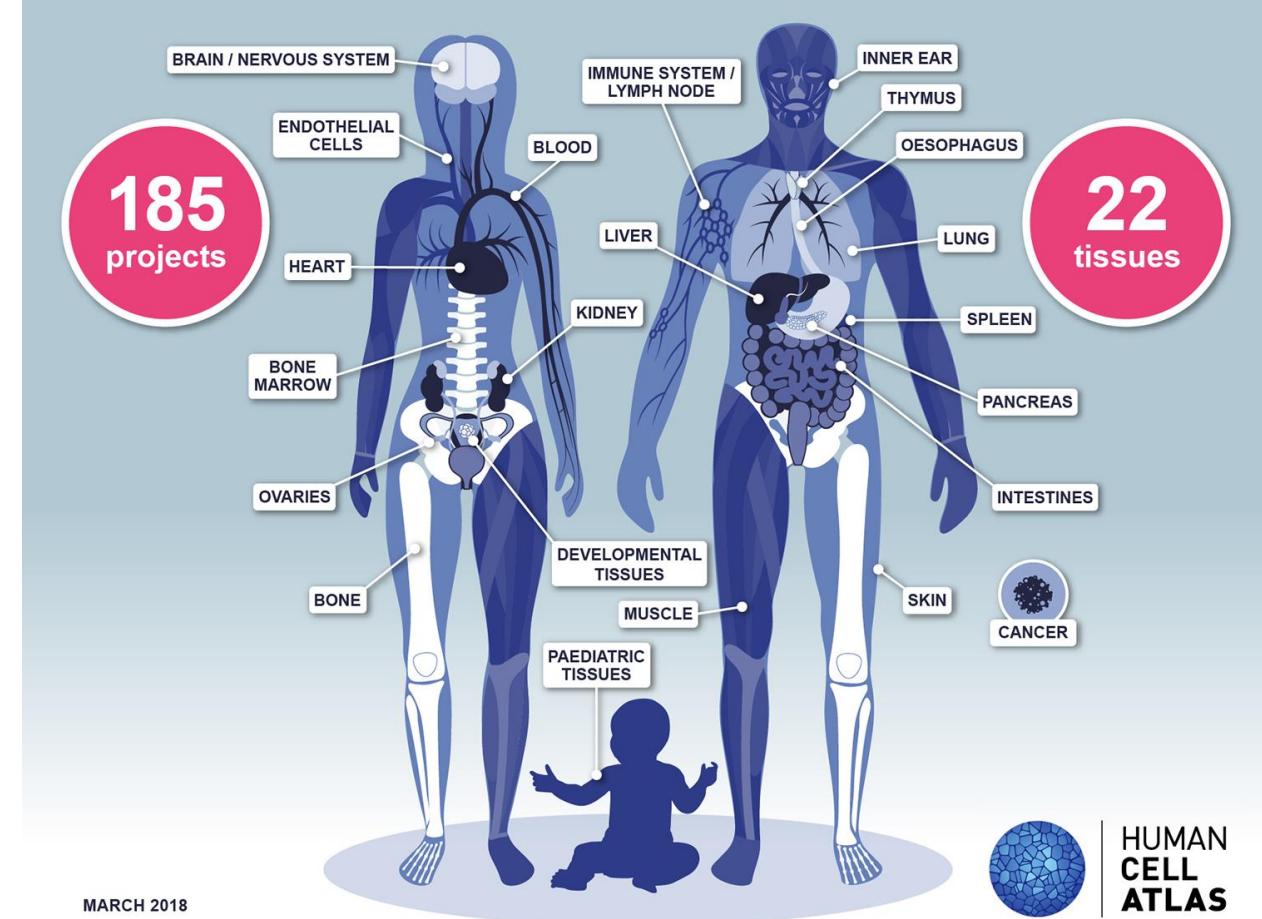
El atlas del ser humano / El *Google Maps* del cuerpo humano



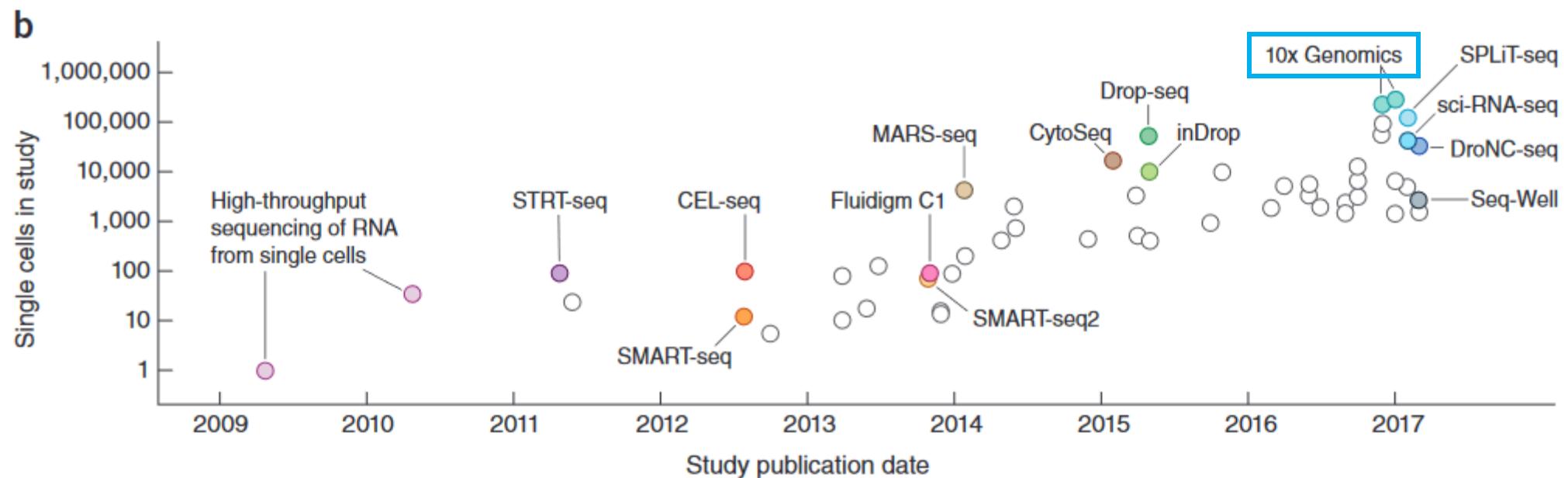
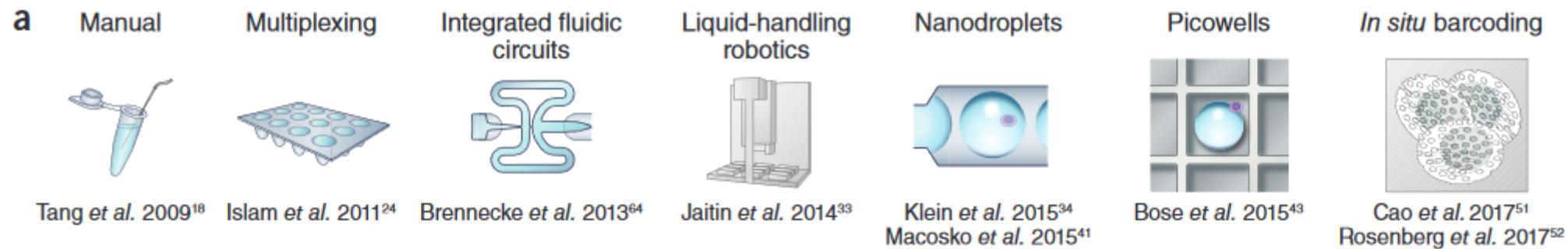
El atlas del ser humano / Nuevo tipo celular: Ionocito pulmonares



Los ionocitos pulmonares (en naranja) se encuentran en la superficie del epitelio de las partes superiores del tracto respiratorio de ratón. Imagen: Montoro et al./Nature 2018.

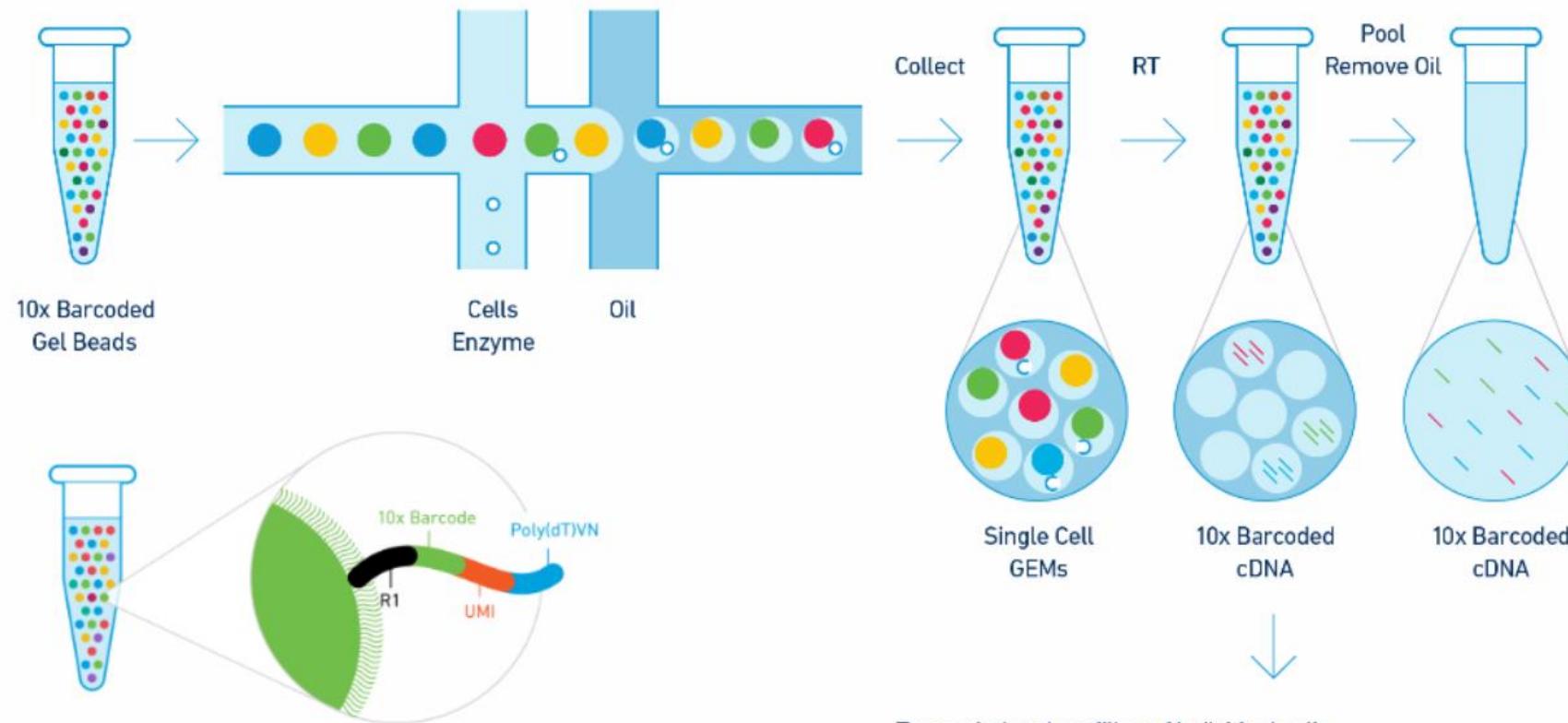


Escalado de los experimentos scRNA-seq

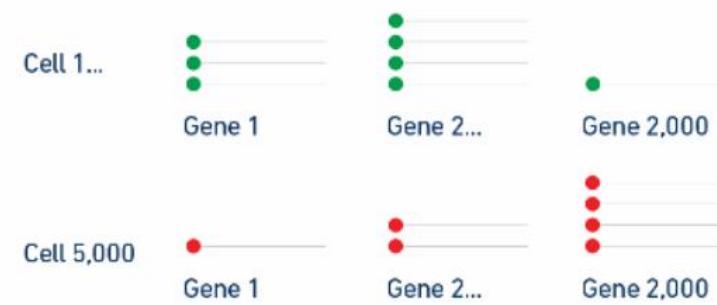


Svensson, Valentine; Vento-Tormo, Roser; Teichmann, Sarah A (2018). Exponential scaling of single-cell RNA-seq in the past decade. *Nature Protocols*, 13(4), 599–604.
doi:10.1038/nprot.2017.149

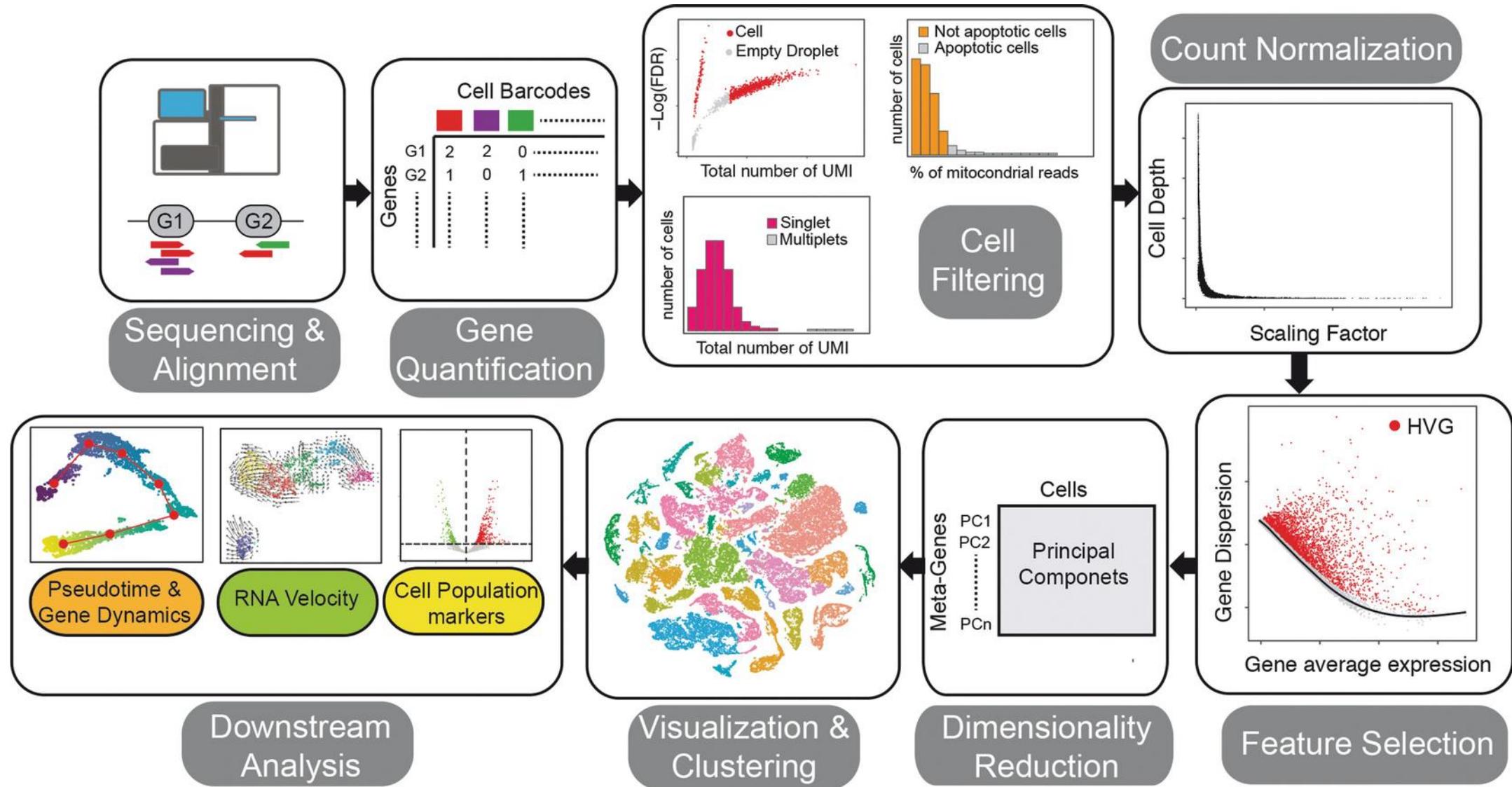
10X Genomics: scRNA-seq



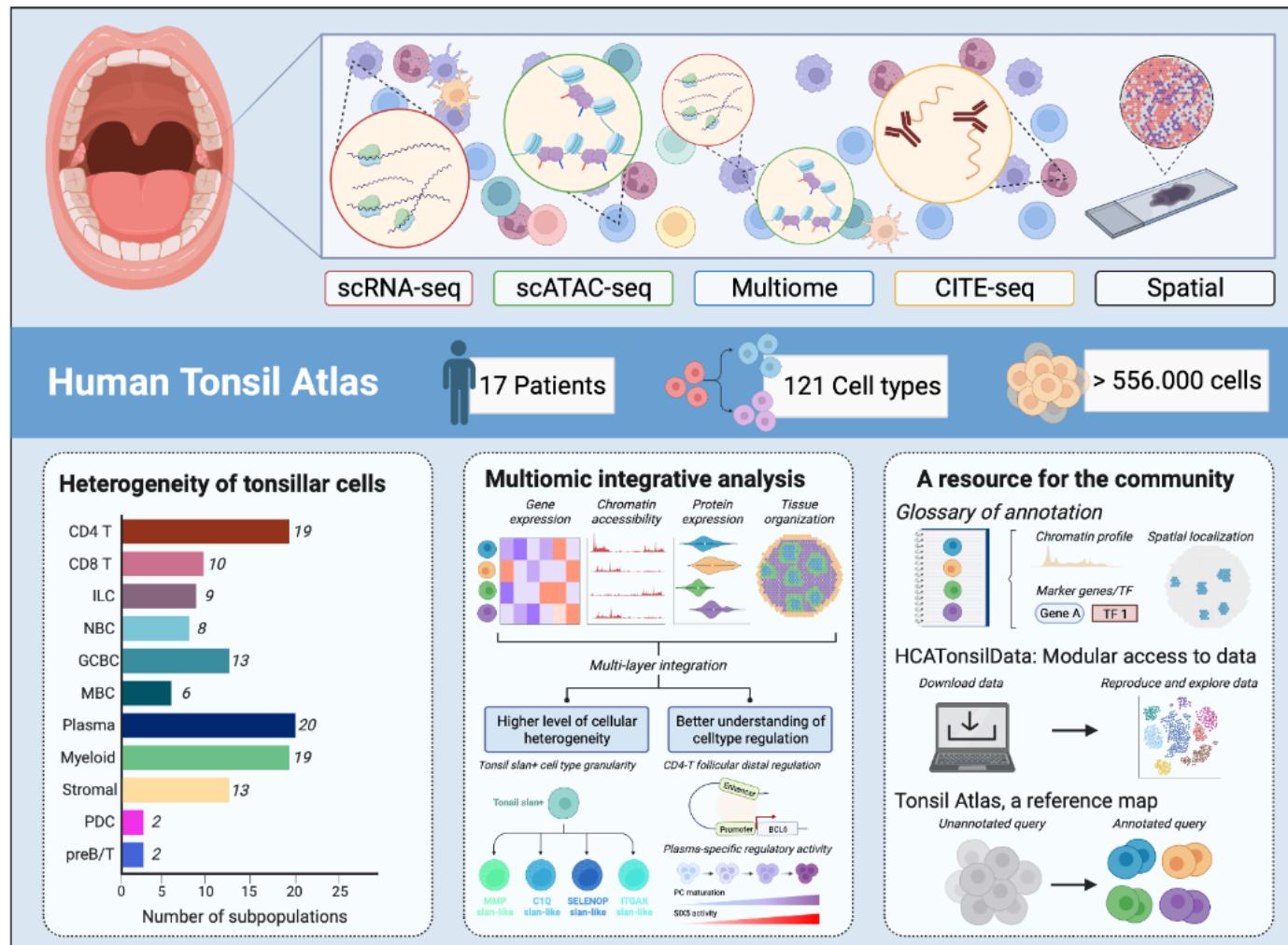
- Input: Single cells in suspension + 10x Gel Beads and Reagents
- Output: Digital gene expression profiles from every partitioned cell



10X Genomics: Análisis Bioinformático



El atlas humano de las amígdalas



Massoni-Badosa, R., Aguilar-Fernández, S., Nieto, J. C., Soler-Vila, P., Elosua-Bayes, M., Marchese, D., ... & Heyn, H. (2024). An atlas of cells in the human tonsil. *Immunity*, 57(2), 379-399.

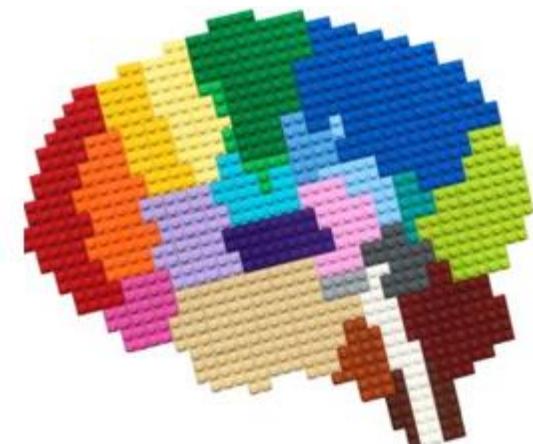
Análisis de una única célula RNA-seq: scRNA-seq



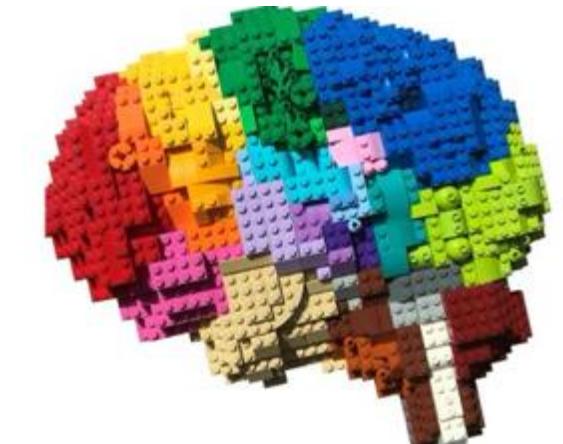
bulk RNA-seq



single-cell RNA-seq



spatial transcriptomics



functional tissue

@BoXia7 boxia2018.wixsite.com/boxia



viu

**Universidad
Internacional
de Valencia**

universidadviu.com

De:
 Planeta Formación y Universidades