

# Sprawozdanie 1

## Analiza w programie DIANA microT-CDS

Krzysztof Meler

Gustaw Walaś

Wiktoria Wilman

Ekspresja mRNA i mikroRNA  
oraz ich wzajemne interakcje  
UPWr 2020/2021



# 1 Wstęp

Pęcherzyk jajnikowy zawiera początkowo komórkę jajową o jasnej cytoplazmie. Cykl dojrzewania pęcherzyków rozpoczyna się wraz z powstaniem oogonii, która, otoczona jedną warstwą komórek pęcherzykowych, zwanych też pęcherzykowatymi lub ziarnistymi, tworzy pęcherzyk pierwotny, leżący najbliżej powierzchni jajnika. W czasie dwukrotnego zwiększenia rozmiarów oogonii, zwanej od tego momentu oocytem I rzędu, komórki pęcherzykowe dokonują podziału, w wyniku którego tworzą nabłonek wielowarstwowy, który wraz z oogonią nosi nazwę oocytu II rzędu.

W poroście ekspresji genów dotyczących komórek ziarnistych w pęcherzykach jajnikowych w tych komórkach wykazano istotne różnice ekspresji pomiędzy pęcherzykiem dominującym a pęcherzykiem regresyjnym w komórkach ziarnistych oraz których poziom ekspresji podwyższony był w pęcherzykach dominujących. Wykazujące różnice mikroRNA zostały włączone do analizy *in silico* interakcji miRNA-mRNA.

## 2 Cel ćwiczenia

Celem ćwiczenia było przeprowadzenie analizy *in silico* interakcji miRNA-mRNA używając programu DIANA-microT-CDS poprzez wyszukanie odpowiednich targetów dla konkretnych miRNA – w naszym przypadku były to ludzkie miRNA, które wykazały istotne statystycznie różnice w ekspresji pomiędzy pęcherzykiem dominującym a regresyjnym w komórkach ziarnistych (z pęcherzyków jajnikowych) oraz których poziom ekspresji był podwyższony w pęcherzykach regresyjnych.

## 3 Metodyka

Do wyszukania zostały nam wyznaczone sekwencje miRNA przedstawione w poniższej tabeli:

miRNA name
hsa-miR-4524a-3p
hsa-miR-3934
hsa-miR-555
hsa-miR-1272
hsa-miR-519e-3p
hsa-miR-1226-3p
hsa-miR-1245a
hsa-miR-759
hsa-miR-518d-5p
hsa-miR-3680-3p

hsa-miR-106a-5p
hsa-miR-191-5p
hsa-miR-33a-5p
hsa-miR-597
hsa-miR-17-5p
hsa-miR-1233
hsa-miR-3174
hsa-miR-3142
hsa-miR-1322
hsa-miR-190b
hsa-miRPlu-I320a*
hsa-miR-3175
hsa-miR-636
hsa-miR-873-5p
hsa-miR-4292
hsa-miR-194-5p
hsa-miR-125b-2-3p
hsa-miR-125a-3p
hsa-miR-374b-3p
hsa-miR-876-3p
hsa-miR-18a-5p
hsa-miR-491-5p
hsa-miR-20a-3p
hsa-miR-4320
hsa-miR-340-3p
hsa-miR-1247-5p
hsa-miR-500a-5p
hsa-miR-519d
hsa-miR-187-3p
hsa-miR-99a-3p
hsa-miR-149-5p

Geny, które zostały nam wyznaczone do wyszukania w bazie zostały nam przydzielone zostały przedstawione w poniższej tabeli:

ENSEMBLE ID	GENE ID
ENSG00000050820	BCAR1
ENSG00000137869	CYP19A1
ENSG00000172500	FIBP
ENSG00000145860	RNF145
ENSG00000170820	FSHR
ENSG00000138039	LHCGR
ENSG00000254087	LYN
ENSG00000198400	NTRK1
ENSG00000215021	PHB2
ENSG00000171497	PPID
ENSG00000100401	RANGAP1
ENSG00000213445	SIPA1
ENSG00000069702	TGFBR3
ENSG00000204257	HLA-DMA
ENSG00000185033	SEMA4B
ENSG00000126583	PRKCG
ENSG00000169598	DFFB
ENSG00000081320	STK17B
ENSG00000170775	GPR37
ENSG00000142627	EPHA2
ENSG00000182580	EPHB3
ENSG00000146904	EPHA1
ENSG00000215021	PHB2
ENSG00000108342	CSF3
ENSG00000081041	CXCL2
ENSG00000090339	ICAM1
ENSG00000137070	IL11RA
ENSG00000150782	IL18
ENSG00000115008	IL1A
ENSG00000109471	IL2
ENSG00000136244	IL6
ENSG00000091409	ITGA6

ENSG00000226979	LTA
ENSG00000134352	IL6ST
ENSG00000112658	SRF
ENSG00000113140	SPARC
ENSG00000232810	TNF
ENSG00000198400	NTRK1
ENSG00000011422	PLAUR
ENSG00000112715	VEGFA
ENSG00000102786	INTS6
ENSG00000121989	ACVR2A
ENSG00000102245	CD40LG
ENSG00000013725	CD6

Do przeszukania bazy laboratorium DIANA zostały wykorzystane skrypty napisane pod system Linux w celu przyspieszenia wyszukiwania odpowiednich rekordów. Do wyszukiwania targetów miRNA i spisywania tych dla wyznaczonych genów oraz ich miTG score został wykorzystany poniższy skrypt:

```
#!/bin/bash

for hsa in hsa-miR-4524a-3p hsa-miR-3934 hsa-miR-555 hsa-miR-1272 hsa-miR-519e-3p
hsa-miR-1226-3p hsa-miR-1245a hsa-miR-759 hsa-miR-518d-5p hsa-miR-3680-3p
hsa-miR-106a-5p hsa-miR-191-5p hsa-miR-33a-5p hsa-miR-597 hsa-miR-17-5p
hsa-miR-1233 hsa-miR-3174 hsa-miR-3142 hsa-miR-1322 hsa-miR-190b
hsa-miRPlus-I320a* hsa-miR-3175 hsa-miR-636 hsa-miR-873-5p
hsa-miR-4292 hsa-miR-194-5p hsa-miR-125b-2-3p hsa-miR-125a-3p hsa-miR-374b-3p
hsa-miR-876-3p hsa-miR-18a-5p hsa-miR-491-5p hsa-miR-20a-3p hsa-miR-4320
hsa-miR-340-3p hsa-miR-1247-5p hsa-miR-500a-5p hsa-miR-519d hsa-miR-187-3p
hsa-miR-99a-3p hsa-miR-149-5p
do
wget -O data.csv 'diana.imis.athena-innovation.gr/DianaTools/index.php?r=download/
microT_CDS&keywords='$hsa'&genes=&mirnas='$hsa'&20&descr=&threshold=0.7'
cat data.csv | egrep 'ENSG00000050820|ENSG00000137869|ENSG00000172500|ENSG00000145860|
ENSG00000170820|ENSG00000138039|ENSG00000254087|ENSG00000198400|ENSG00000215021|
ENSG00000171497|ENSG00000100401|ENSG00000213445|ENSG00000069702|ENSG00000204257|
ENSG00000185033|ENSG00000126583|ENSG00000169598|ENSG00000081320|ENSG00000170775|
ENSG00000142627|ENSG00000182580|ENSG00000146904|ENSG00000215021|ENSG00000108342|
ENSG00000081041|ENSG00000090339|ENSG00000137070|ENSG00000150782|ENSG00000115008|
```

```

ENSG00000109471|ENSG00000136244|ENSG00000091409|ENSG00000226979|ENSG00000134352|
ENSG00000112658|ENSG00000113140|ENSG00000232810|ENSG00000198400|ENSG00000011422|
ENSG00000112715|ENSG00000102786|ENSG00000121989|ENSG00000102245|ENSG00000013725'
> $hsa'_log'
rm data.csv
done

```

Do wyszukiwania wyników dla wyznaczonych genów i sprawdzenia czy podlegają im konkretne miRNA został wykorzystany poniższy skrypt:

```

#!/bin/bash
for miRNA in ENSG00000050820 ENSG00000137869 ENSG00000172500 ENSG00000145860
ENSG00000170820 ENSG00000138039 ENSG00000254087 ENSG00000198400 ENSG00000215021
ENSG00000171497 ENSG00000100401 ENSG00000213445 ENSG00000069702 ENSG00000204257
ENSG00000185033 ENSG00000126583 ENSG00000169598 ENSG00000081320 ENSG00000170775
ENSG00000142627 ENSG00000182580 ENSG00000146904 ENSG00000215021 ENSG00000108342
ENSG00000081041 ENSG00000090339 ENSG00000137070 ENSG00000150782 ENSG00000115008
ENSG00000109471 ENSG00000136244 ENSG00000091409 ENSG00000226979 ENSG00000134352
ENSG00000112658 ENSG00000113140 ENSG00000232810 ENSG00000198400 ENSG00000011422
ENSG00000112715 ENSG00000102786 ENSG00000121989 ENSG00000102245 ENSG00000013725
do
wget -O data.csv 'diana.imis.athena-innovation.gr/DianaTools/
index.php?r=download/microT_CDS&keywords='$miRNA'&genes='$miRNA
'%20&mirnas=&descr=&threshold=0.7'
cat data.csv | egrep 'hsa-miR-3934|hsa-miR-555|hsa-miR-1272|
hsa-miR-519e-3p|hsa-miR-1226-3p|hsa-miR-1245a|hsa-miR-759|
hsa-miR-518d-5p|hsa-miR-3680-3p|hsa-miR-106a-5p|hsa-miR-191-5p|
hsa-miR-33a-5p|hsa-miR-597|hsa-miR-17-5p|hsa-miR-1233|hsa-miR-3174|
hsa-miR-3142|hsa-miR-1322|hsa-miR-190b|hsa-miRPlus-I320a*|
hsa-miR-3175|hsa-miR-636|hsa-miR-873-5p|hsa-miR-4292|hsa-miR-194-5p|
hsa-miR-125b-2-3p|hsa-miR-125a-3p|hsa-miR-374b-3p|hsa-miR-876-3p|
hsa-miR-18a-5p|hsa-miR-491-5p|hsa-miR-20a-3p|hsa-miR-4320|
hsa-miR-340-3p|hsa-miR-1247-5p|hsa-miR-500a-5p|hsa-miR-519d|
hsa-miR-187-3p|hsa-miR-99a-3p|hsa-miR-149-5p' > $miRNA'_log'
rm data.csv
done

```

## 4 Wyniki

Przy pomocy DianaTools (microT-CDS) wyszukano rekordy targetów dla miRNA. Gdy wśród targetów danego miRNA nie znalazł się żaden z wyznaczonych genów lub brakowało ich w bazie to zostały one w tablicy oznaczone jako NA. W tabeli przedstawiono geny będące targetami danego miRNA oraz prawdopodobieństwo, iż dane miRNA reguluje ekspresję tego genu:

miRNA name	ENSEMBL code	ID	miTG score
hsa-miR-4524a-3p	ENSG00000102786	INTS6	0.984414784818781
hsa-miR-3934	NA	NA	NA
hsa-miR-555	ENSG00000112658	SRF	0.830763716419193
hsa-miR-1272	NA	NA	NA
hsa-miR-519e-3p	NA	NA	NA
hsa-miR-1226-3p	ENSG00000185033	SEMA4B	0.821060545994689
hsa-miR-1226-3p	ENSG00000050820	BCAR1	0.798089207479062
hsa-miR-1226-3p	ENSG00000172500	FIBP	0.775569110425105
hsa-miR-1245a	ENSG00000102786	INTS6	0.8568823365932
hsa-miR-759	ENSG00000145860	RNF145	0.904578255174047
hsa-miR-759	ENSG00000137869	CYP19A1	0.78360403938277
hsa-miR-518d-5p	NA	NA	NA
hsa-miR-3680-3p	ENSG00000170775	GPR37	0.975890951600839
hsa-miR-3680-3p	ENSG00000069702	TGFBR3	0.915951691648718
hsa-miR-3680-3p	ENSG00000102786	INTS6	0.726854273785677
hsa-miR-106a-5p	ENSG00000081320	STK17B	0.994576472578442
hsa-miR-106a-5p	ENSG00000102786	INTS6	0.911815935228175
hsa-miR-106a-5p	ENSG00000145860	RNF145	0.899480649728262
hsa-miR-106a-5p	ENSG00000134352	IL6ST	0.841582242674217
hsa-miR-106a-5p	ENSG00000121989	ACVR2A	0.839138773316678
hsa-miR-106a-5p	ENSG00000112715	VEGFA	0.794897199348354
hsa-miR-191-5p	NA	NA	NA
hsa-miR-33a-5p	NA	NA	NA
hsa-miR-597	NA	NA	NA
hsa-miR-17-5p	NA	NA	NA
hsa-miR-1233	NA	NA	NA
hsa-miR-3174	NA	NA	NA
hsa-miR-3142	ENSG00000102786	INTS6	0.836817094955777
hsa-miR-3142	ENSG00000113140	SPARC	0.758059175478812

hsa-miR-1322	NA	NA	NA
hsa-miR-190b	ENSG00000081320	STK17B	0.952454747420135
hsa-miRPlus-I320a*	NA	NA	NA
hsa-miR-3175	ENSG00000112658	SRF	0.823993856272306
hsa-miR-3175	ENSG00000226979	LTA	0.736682073225328
hsa-miR-636	NA	NA	NA
hsa-miR-873-5p	ENSG00000185033	SEMA4B	0.941683938969071
hsa-miR-873-5p	ENSG00000069702	TGFBR3	0.866075399398373
hsa-miR-873-5p	ENSG00000198400	NTRK1	0.854100127474069
hsa-miR-873-5p	ENSG00000108342	CSF3	0.79995108930012
hsa-miR-873-5p	ENSG00000011422	PLAUR	0.709746698132113
hsa-miR-4292	ENSG00000226979	LTA	0.764773210097836
hsa-miR-4292	ENSG00000112658	SRF	0.756991367471522
hsa-miR-4292	ENSG00000069702	TGFBR3	0.72167916966248
hsa-miR-194-5p	ENSG00000134352	IL6ST	0.88061680379721
hsa-miR-194-5p	ENSG00000115008	IL1A	0.714643411469367
hsa-miR-125b-2-3p	ENSG00000121989	ACVR2A	0.951121419896464
hsa-miR-125b-2-3p	ENSG00000232810	TNF	0.912674413799123
hsa-miR-125a-3p	NA	NA	NA
hsa-miR-374b-3p	ENSG00000112715	VEGFA	0.9541392759626
hsa-miR-374b-3p	ENSG00000121989	ACVR2A	0.887789353731748
hsa-miR-374b-3p	ENSG00000113140	SPARC	0.777042037028704
hsa-miR-876-3p	ENSG00000011422	PLAUR	0.869870050709195
hsa-miR-876-3p	ENSG00000138039	LHCGR	0.721236114585811
hsa-miR-876-3p	ENSG00000013725	CD6	0.705246749348718
hsa-miR-18a-5p	ENSG00000145860	RNF145	0.962373368679541
hsa-miR-491-5p	ENSG00000069702	TGFBR3	0.876076709690482
hsa-miR-491-5p	ENSG00000138039	LHCGR	0.843716226758242
hsa-miR-20a-3p	ENSG00000121989	ACVR2A	0.76208524590582
hsa-miR-4320	NA	NA	NA
hsa-miR-340-3p	NA	NA	NA
hsa-miR-1247-5p	NA	NA	NA
hsa-miR-500a-5p	NA	NA	NA
hsa-miR-519d	NA	NA	NA
hsa-miR-187-3p	NA	NA	NA
hsa-miR-99a-3p	NA	NA	NA



hsa-miR-149-5p	ENSG00000182580	EPHB3	0.986451569395694
hsa-miR-149-5p	ENSG00000137070	IL11RA	0.968897839809697
hsa-miR-149-5p	ENSG00000069702	TGFBR3	0.923456854319675
hsa-miR-149-5p	ENSG00000102786	INTS6	0.919942367448306
hsa-miR-149-5p	ENSG00000112658	SRF	0.855964885933535

Następnie przy pomocy DianaTools (microT-CDS) wyszukano rekordy dla zadanych genów będących targetami dla miRNA. Gdy dla danego genu nie znalazł się żaden z wyznaczonych miRNA to zostały one w tablicy oznaczone jako NA. W tabeli przedstawiono geny oraz miRNA z prawdopodobieństwem, iż dane miRNA reguluje ekspresję tego genu:

Ensembl CODE	ID	miRNA	miTG score
ENSG00000050820	BCAR1	hsa-miR-1226-3p	0.798089207479062
ENSG00000137869	CYP19A1	hsa-miR-1233-3p	0.803419053960132
ENSG00000137869	CYP19A1	hsa-miR-759	0.78360403938277
ENSG00000137869	CYP19A1	hsa-miR-519d-5p	0.723881782801112
ENSG00000172500	FIBP	hsa-miR-1226-3p	0.775569110425105
ENSG00000145860	RNF145	hsa-miR-18a-5p	0.962373368679541
ENSG00000145860	RNF145	hsa-miR-519d-3p	0.912826536897348
ENSG00000145860	RNF145	hsa-miR-759	0.904578255174047
ENSG00000145860	RNF145	hsa-miR-106a-5p	0.899480649728262
ENSG00000145860	RNF145	hsa-miR-519d-5p	0.819195165187955
ENSG00000170820	FSHR	NA	NA
ENSG00000138039	LHCGR	hsa-miR-491-5p	0.843716226758242
ENSG00000138039	LHCGR	hsa-miR-876-3p	0.721236114585811
ENSG00000254087	LYN	NA	NA
ENSG00000198400	NTRK1	hsa-miR-873-5p	0.854100127474069
ENSG00000215021	PHB2	NA	NA
ENSG00000171497	PPID	hsa-miR-597-5p	0.864831441161281
ENSG00000100401	RANGAP1	NA	NA
ENSG00000213445	SIPA1	NA	NA
ENSG00000069702	TGFBR3	hsa-miR-149-5p	0.923456854319675
ENSG00000069702	TGFBR3	hsa-miR-3680-3p	0.915951691648718

ENSG00000069702	TGFBR3	hsa-miR-491-5p	0.876076709690482
ENSG00000069702	TGFBR3	hsa-miR-873-5p	0.866075399398373
ENSG00000069702	TGFBR3	hsa-miR-3934-5p	0.77611002738452
ENSG00000069702	TGFBR3	hsa-miR-519d-5p	0.748878678705429
ENSG00000069702	TGFBR3	hsa-miR-4292	0.72167916966248
ENSG00000204257	HLA-DMA	NA	NA
ENSG00000185033	SEMA4B	hsa-miR-873-5p	0.941683938969071
ENSG00000185033	SEMA4B	hsa-miR-1226-3p	0.821060545994689
ENSG00000126583	PRKCG	NA	NA
ENSG00000169598	DFFB	hsa-miR-1233-3p	0.908033426675173
ENSG00000081320	STK17B	hsa-miR-106a-5p	0.994576472578442
ENSG00000081320	STK17B	hsa-miR-519d-3p	0.956171123413014
ENSG00000081320	STK17B	hsa-miR-190b	0.952454747420135
ENSG00000170775	GPR37	hsa-miR-3680-3p	0.975890951600839
ENSG00000142627	EPHA2	NA	NA
ENSG00000182580	EPHB3	hsa-miR-149-5p	0.986451569395694
ENSG00000146904	EPHA1	NA	NA
ENSG00000215021	PHB2	NA	NA
ENSG00000108342	CSF3	hsa-miR-873-5p	0.79995108930012
ENSG00000081041	CXCL2	NA	NA
ENSG00000090339	ICAM1	NA	NA
ENSG00000137070	IL11RA	hsa-miR-149-5p	0.968897839809697
ENSG00000150782	IL18	NA	NA
ENSG00000115008	IL1A	hsa-miR-194-5p	0.714643411469367
ENSG00000109471	IL2	NA	NA
ENSG00000136244	IL6	NA	NA
ENSG00000091409	ITGA6	NA	NA
ENSG00000226979	LTA	hsa-miR-4292	0.764773210097836
ENSG00000226979	LTA	hsa-miR-3175	0.736682073225328
ENSG00000134352	IL6ST	hsa-miR-597-5p	0.911154808095316
ENSG00000134352	IL6ST	hsa-miR-194-5p	0.88061680379721
ENSG00000134352	IL6ST	hsa-miR-106a-5p	0.841582242674217
ENSG00000134352	IL6ST	hsa-miR-519d-3p	0.760855100414993
ENSG00000112658	SRF	hsa-miR-149-5p	0.855964885933535
ENSG00000112658	SRF	hsa-miR-555	0.830763716419193
ENSG00000112658	SRF	hsa-miR-3175	0.823993856272306
ENSG00000112658	SRF	hsa-miR-4292	0.756991367471522

ENSG00000113140	SPARC	hsa-miR-374b-3p	0.777042037028704
ENSG00000113140	SPARC	hsa-miR-3142	0.758059175478812
ENSG00000232810	TNF	hsa-miR-125b-2-3p	0.912674413799123
ENSG00000198400	NTRK1	hsa-miR-873-5p	0.854100127474069
ENSG00000011422	PLAUR	hsa-miR-876-3p	0.869870050709195
ENSG00000011422	PLAUR	hsa-miR-873-5p	0.709746698132113
ENSG00000112715	VEGFA	hsa-miR-374b-3p	0.9541392759626
ENSG00000112715	VEGFA	hsa-miR-106a-5p	0.794897199348354
ENSG00000112715	VEGFA	hsa-miR-519d-3p	0.720717364783436
ENSG00000102786	INTS6	hsa-miR-519d-3p	0.948312650046338
ENSG00000102786	INTS6	hsa-miR-149-5p	0.919942367448306
ENSG00000102786	INTS6	hsa-miR-106a-5p	0.911815935228175
ENSG00000102786	INTS6	hsa-miR-1245a	0.8568823365932
ENSG00000102786	INTS6	hsa-miR-3142	0.836817094955777
ENSG00000102786	INTS6	hsa-miR-3680-3p	0.726854273785677
ENSG00000121989	ACVR2A	hsa-miR-125b-2-3p	0.951121419896464
ENSG00000121989	ACVR2A	hsa-miR-374b-3p	0.887789353731748
ENSG00000121989	ACVR2A	hsa-miR-106a-5p	0.839138773316678
ENSG00000121989	ACVR2A	hsa-miR-597-5p	0.822346423253518
ENSG00000121989	ACVR2A	hsa-miR-20a-3p	0.76208524590582
ENSG00000102245	CD40LG	NA	NA
ENSG00000013725	CD6	hsa-miR-876-3p	0.705246749348718

## 5 Podsumowanie

Nie dla wszystkich miRNA udało się znaleźć odpowiednie targety w bazie, jednak dla większości z nich udało się uzyskać wyniki – najwięcej dopasowań zostało znalezione dla microRNA hsa-miR-106a-5p, było to aż 6 genów: STK17B,INTS6,RNF145,IL6ST,ACVR2A,VEGFA. Podsumowanie ilości znalezionych miRNA dla konkretnych sekwencji zostało przedstawione w poniższej tabeli:

miRNA ID	Ilość
hsa-miR-4524a-3p	1
hsa-miR-555	1
hsa-miR-1245a	1
hsa-miR-759	2
hsa-miR-3680-3p	3
hsa-miR-106a-5p	6
hsa-miR-3142	2
hsa-miR-190b	1
hsa-miR-3175	2
hsa-miR-3175	1
hsa-miR-873-5p	1
hsa-miR-873-5p	1
hsa-miR-873-5p	1
hsa-miR-873-5p	1
hsa-miR-873-5p	5
hsa-miR-4292	1
hsa-miR-4292	1
hsa-miR-4292	3
hsa-miR-194-5p	1
hsa-miR-194-5p	2
hsa-miR-125b-2-3p	1
hsa-miR-125b-2-3p	2
hsa-miR-374b-3p	4
hsa-miR-876-3p	3
hsa-miR-18a-5p	1
hsa-miR-491-5p	2
hsa-miR-20a-3p	1
hsa-miR-149-5p	5

DianaTools jest wygodnym i szybkim narzędziem ułatwiającym pracę naukowców, jednak największym utrudnieniem jest wyszukiwanie tylu sekwencji na raz - co ułatwia nasz skrypt.

## 6 Bibliografia

- [1] Wprowadzenie o pęcherzykach jajnikowych  
(<https://pl.wikipedia.org/wiki/Pecherzyk-jajnikowy>)