

Construction et analyse de réseaux contextuels de co-expression pour des données transcriptomiques sens et anti-sens

Présentation NETBIO

Marc Legeay, Béatrice Duval, Jean-Pierre Renou, Julie Bourbeillon

LERIA - IRHS

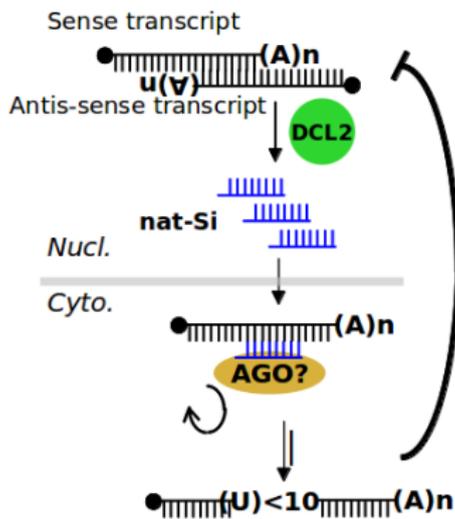
30 septembre 2015



ARN anti-sens

- Transcrit du brin anti-sens
- Promoteur différent du gène sens
⇒ **régulation différente**
- L'ARN anti-sens s'hybride avec l'ARNm
⇒ **dégradation en nat-siRNA**
- Post-transcriptional gene silencing
- nat-siRNA : natural antisense short interfering RNA
 - petit ARN (entre 20 et 25 bases)
 - peuvent interagir avec un ARN complémentaire
 - **inhibent l'action des ARNm**

The nat-SiRNAs pathway



Post Transcriptional Gene Silencing

Motivations

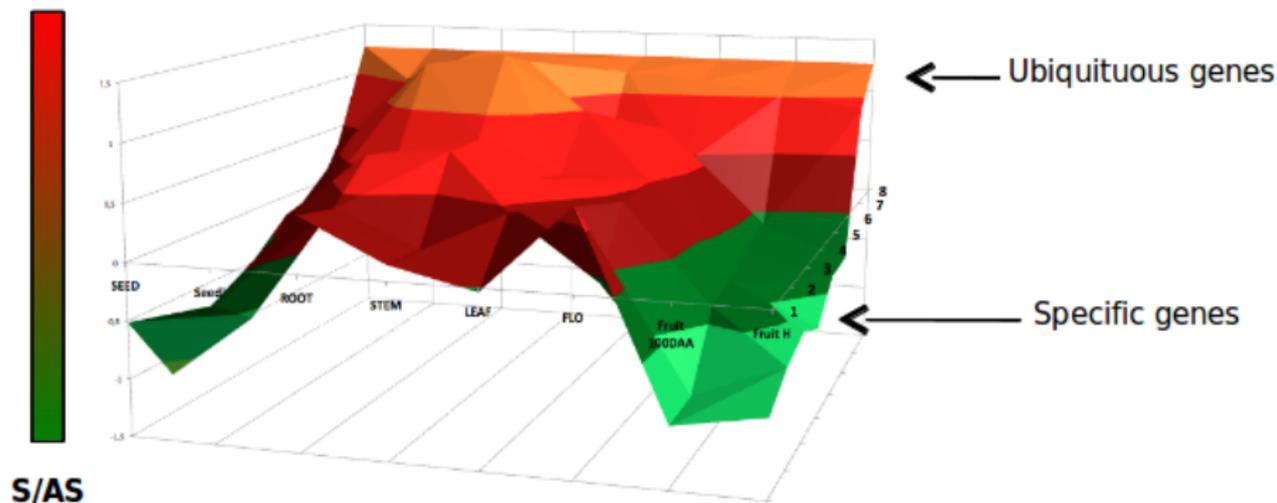
- Transcrits pommier (Velasco *et al.*, 2010) : 57 386 gènes prédits
- Puce AryANE : sonde « sens » et « anti-sens » pour chaque locus identifié : 126 022 sondes

Motivations

- Transcrits pommier (Velasco *et al.*, 2010) : 57 386 gènes prédits
- Puce AryANE : sonde « sens » et « anti-sens » pour chaque locus identifié : 126 022 sondes
- Étude menée sur 8 organes du pommier
- Compte les transcrits exprimés dans chaque organe
- Compte le nombre d'organes dans lequel un transcrit est exprimé
- Ratio sens/anti-sens

Motivations

AS RNAs and specificity of expression



- 65.6% transcrits anti-sens exprimés (30-40% chez *Arabidopsis thaliana*)
- Anti-sens plus exprimés pour des gènes spécifiques
- Anti-sens plus exprimés dans des organes spécifiques

Choix des données

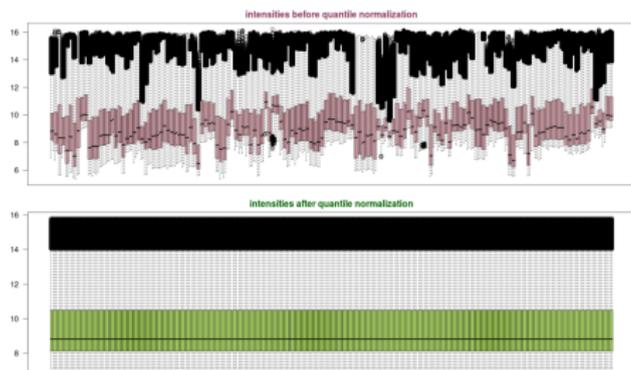
Situations spécifiques à un contexte

- Contexte : Maturation du fruit
- Deux conditions : récolte (H) et 60 jours après la récolte (60DAH)
- 22 échantillons H \longleftrightarrow 22 échantillons 60DAH

Choix des données

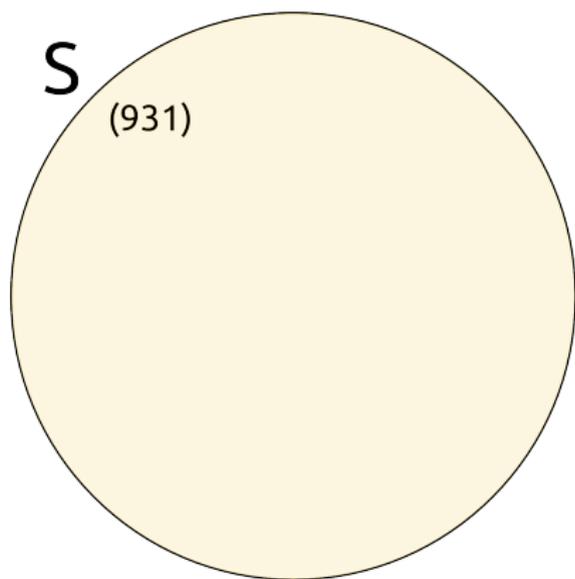
Traitements

- Méthode de normalisation : Normalisation par les Quantiles



- Suppression du bruit de fond

Analyse différentielle



Analyse différentielle des données sens uniquement : 931 diff

Gènes d'intérêt

Definition (Évolution)

Soient une sonde p , les expressions moyennes $E_1(p)$ et $E_2(p)$ de p dans deux conditions expérimentales, et t un seuil d'expression.

L'évolution $e(p)$ d'une sonde p est telle que :

$$e(p) = \begin{cases} -1 & \text{si } E_2(p) - E_1(p) < -t \\ 0 & \text{si } -t < E_2(p) - E_1(p) < t \\ 1 & \text{si } t < E_2(p) - E_1(p) \end{cases}$$

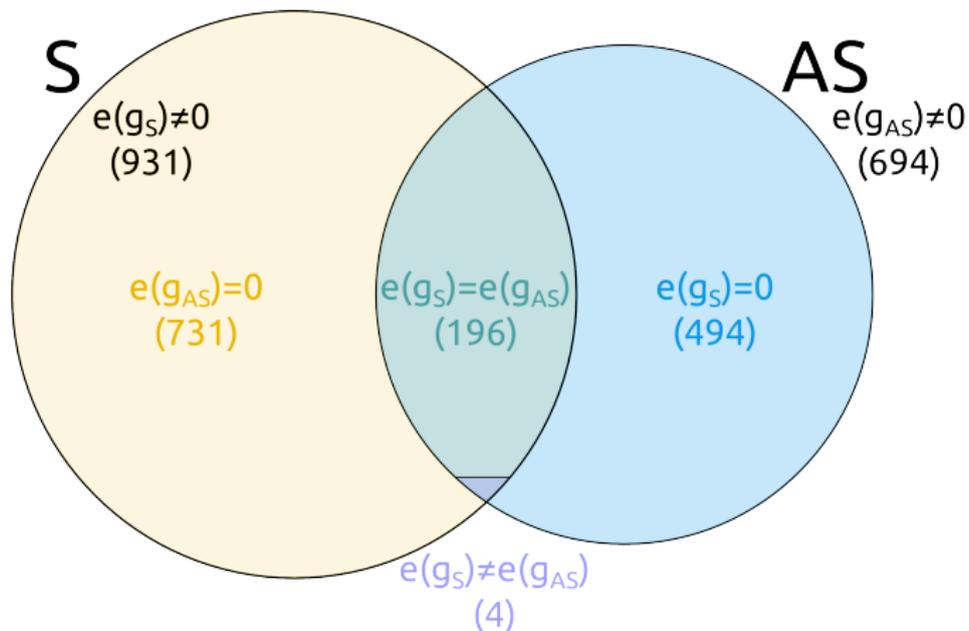
Definition (Couple de gènes d'intérêt)

Soient un couple $c = (S, AS)$ de sondes sens et anti-sens, les évolutions $e(S)$ et $e(AS)$ des sondes de c entre deux conditions expérimentales.

Le couple c est un *couple de gènes d'intérêt* si $e(S) \neq 0$ ou $e(AS) \neq 0$.

Gènes d'intérêt

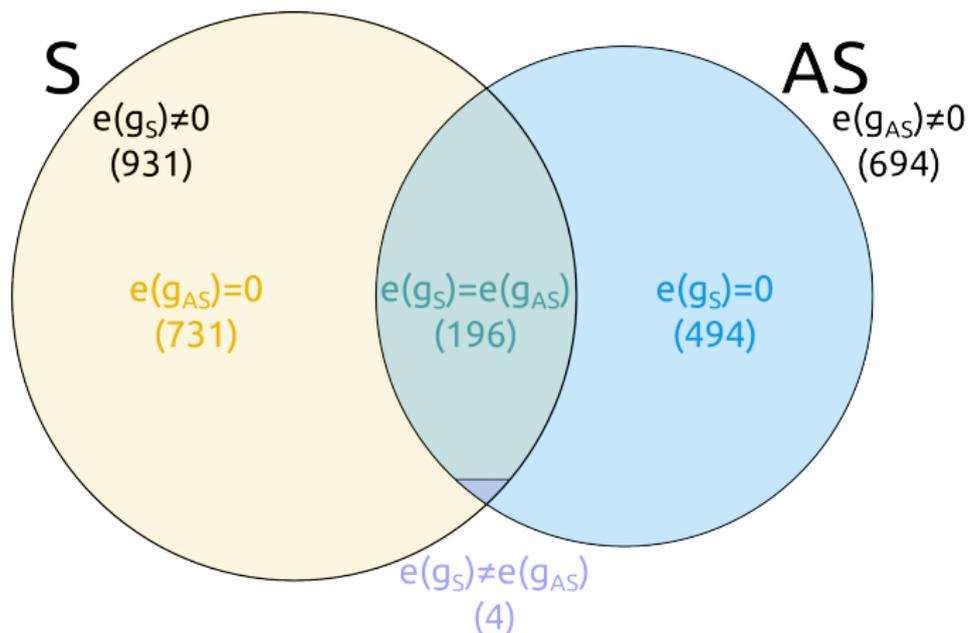
Entre H et 60DAH



- 1 625 sondes évoluent
- 1 425 couples de gènes d'intérêt

Gènes d'intérêt

Entre H et 60DAH

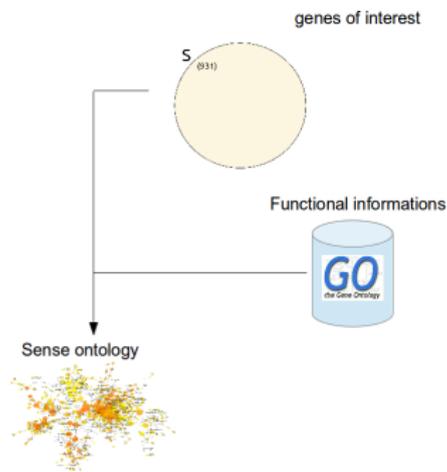


Avec données anti-sens : 494 acteurs supplémentaires

Analyse fonctionnelle

Que nous apportent les données anti-sens ?

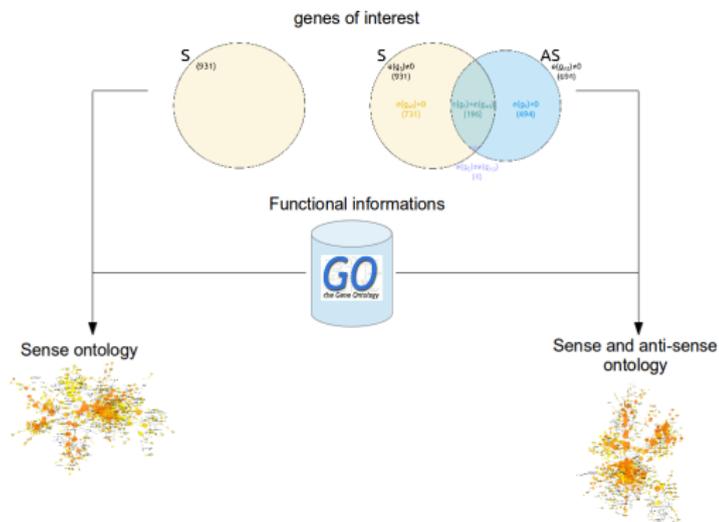
- Ontologie S
- Ontologie $S \cup AS$
- Anti-sens associé au même terme que le sens
- Différence : termes révélés grâce aux données anti-sens



Analyse fonctionnelle

Que nous apportent les données anti-sens ?

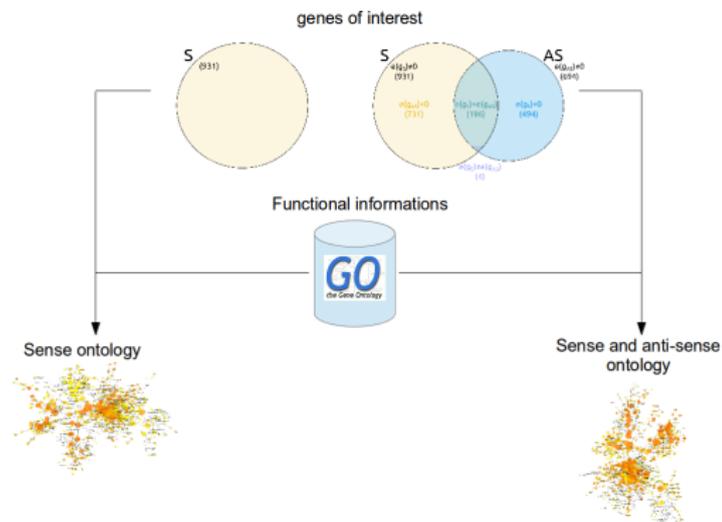
- Ontologie S
- Ontologie $S \cup AS$
- Anti-sens associé au même terme que le sens
- Différence : termes révélés grâce aux données anti-sens



Analyse fonctionnelle

Que nous apportent les données anti-sens ?

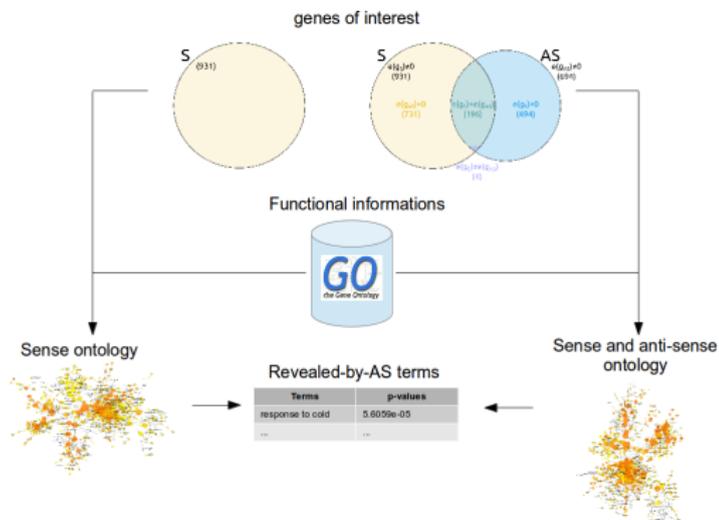
- Ontologie S
- Ontologie $S \cup AS$
- Anti-sens associé au même terme que le sens
- Différence : termes révélés grâce aux données anti-sens



Analyse fonctionnelle

Que nous apportent les données anti-sens ?

- Ontologie S
- Ontologie $S \cup AS$
- Anti-sens associé au même terme que le sens
- Différence : termes révélés grâce aux données anti-sens



Analyse fonctionnelle

- Enrichissement fonctionnel

- Test hypergéométrique

- G : nombre de gènes dans le génome

- g : nombre de gènes associés à la fonction f

- E : nombre de gènes dans l'échantillon

- e : nombre de gènes associés à f dans l'échantillon

$$p(X = e) = \frac{\binom{g}{e} \binom{G-g}{E-e}}{\binom{G}{E}}$$

- Correction Bonferroni

- Utilisation de BiNGO (app Cytoscape)

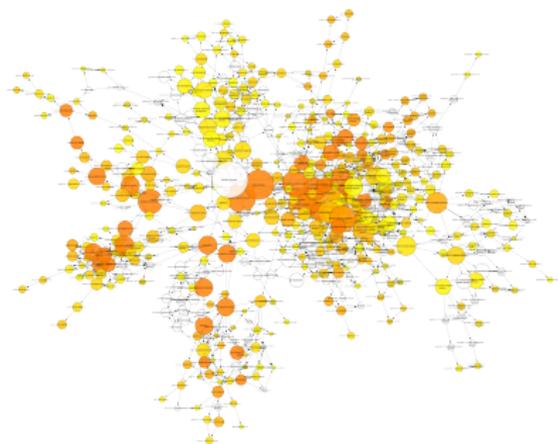
- Représentation graphique de l'ontologie

⇒ Termes significativement représentés par l'ensemble des sondes
(p -value > 0.05)

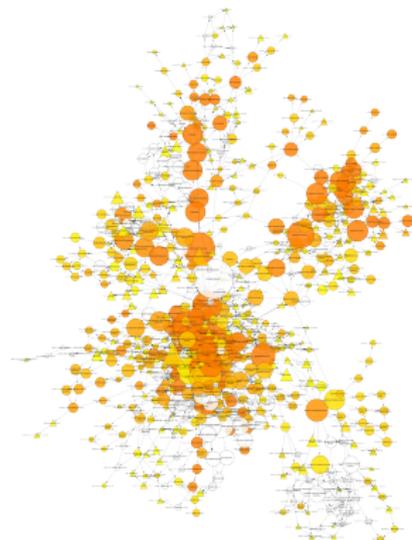
Analyse fonctionnelle

Sur les données pommier

Utilisation des orthologues Pommier → Arabette



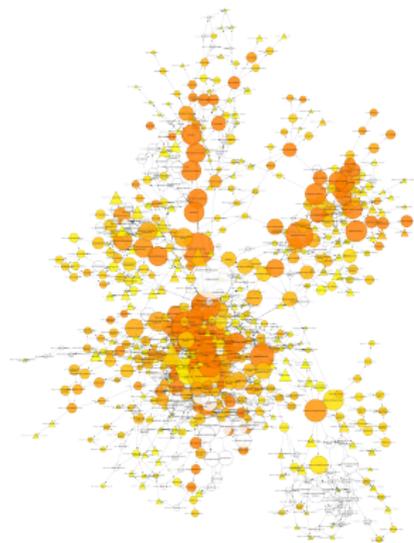
Sens



Sens et Anti-sens

Analyse fonctionnelle

Sur les données pommier



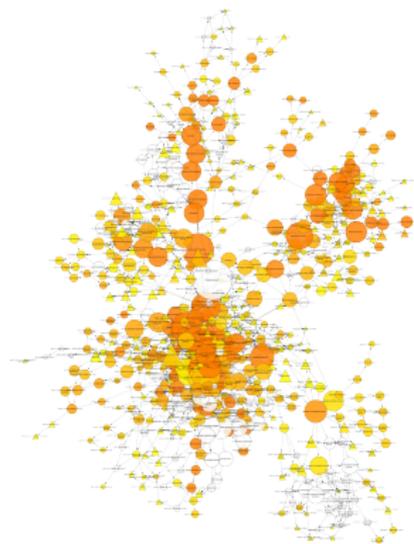
Sens et Anti-sens



Différence

Analyse fonctionnelle

Sur les données pommier



Sens et Anti-sens



Différence

Les termes révélés par les anti-sens sont répartis dans l'ontologie.

Premiers résultats de l'analyse

129 termes révélés par les anti-sens

GO	p-values	#Couples
"hyperosmotic response"	1.7083e-05	31
"response to cold"	5.6059e-05	56
"multicellular organismal process"	0.00010098	226
"response to high light intensity"	0.00055827	25
"cellular biosynthetic process"	0.0012868	331
"growth"	0.0017393	56
"cell growth"	0.0019204	51
"salicylic acid mediated signaling pathway"	0.0021681	30
"jasmonic acid mediated signaling pathway"	0.0023462	27
"response to oxidative stress"	0.0024307	45

Premiers résultats de l'analyse

- "response to cold" : conservation du fruit en frigo
- 56 couples : 24 ont un profil "Sens →,
Anti-sens ↘"
- Hypothèse : « Activation » du gène par l'inhibition de l'anti-sens

Premiers résultats de l'analyse

- "response to cold" : conservation du fruit en frigo
- 56 couples : 24 ont un profil "Sens →, Anti-sens ↘"
- Hypothèse : « Activation » du gène par l'inhibition de l'anti-sens

ANTISENS	EVOLUTION	SENS	AT
MDP0000151721		MDP0000151721	ATS667590
MDP0000223905	-1 -1	MDP0000223905	AT2G39730
MDP0000272802	-1 -1	MDP0000272802	ATS667590
MDP0000561026	-1 -1	MDP0000561026	AT2G36830
MDP0000944409	-1 -1	MDP0000944409	AT2G39730
MDP0000132480	-1 0	MDP0000132480	AT2G27710
MDP0000134273	-1 0	MDP0000134273	AT2G26250
MDP0000134685	-1 0	MDP0000134685	AT4G37530
MDP0000146698	-1 0	MDP0000146698	AT5G38480
MDP0000151190	-1 0	MDP0000151190	AT3G24120
MDP0000169619	-1 0	MDP0000169619	AT1G56070
MDP0000206093	-1 0	MDP0000206093	AT4G04330
MDP0000206314	-1 0	MDP0000206314	AT3G05990
MDP0000215630	-1 0	MDP0000215630	AT3G51780
MDP0000224974	-1 0	MDP0000224974	AT3G61580
MDP0000231051	-1 0	MDP0000231051	AT2G46210
MDP0000234570	-1 0	MDP0000234570	AT4G37930
MDP0000237499	-1 0	MDP0000237499	AT3G23050
MDP0000268045	-1 0	MDP0000268045	AT1G15950
MDP0000267425	-1 0	MDP0000267425	AT4G03280
MDP0000324254	-1 0	MDP0000324254	AT4G26960
MDP0000325574	-1 0	MDP0000325574	AT3G62410
MDP0000325582	-1 0	MDP0000325582	AT3G62410
MDP0000564897	-1 0	MDP0000564897	AT2G22430
MDP0000642609	-1 0	MDP0000642609	AT3G53990
MDP0000760376	-1 0	MDP0000760376	AT2G46210
MDP0000777793	-1 0	MDP0000777793	AT1G56070
MDP0000877759	-1 0	MDP0000877759	AT1G64060
MDP0000920069	-1 0	MDP0000920069	AT1G64060
MDP0000310152	-1 1	MDP0000310152	ATS665730
MDP0000126738	0 -1	MDP0000126738	AT3G18990
MDP0000132477	0 -1	MDP0000132477	AT4G37930
MDP0000148186	0 -1	MDP0000148186	AT1G32860
MDP0000241245	0 -1	MDP0000241245	AT1G49480
MDP0000284771	0 -1	MDP0000284771	AT1G01060
MDP0000287992	0 -1	MDP0000287992	AT1G01060
MDP0000300321	0 -1	MDP0000300321	AT3G45140
MDP0000317816	0 -1	MDP0000317816	AT5G01600
MDP0000321244	0 -1	MDP0000321244	AT2G39730
MDP0000429215	0 -1	MDP0000429215	AT2G46590
MDP0000647652	0 -1	MDP0000647652	AT4G17090
MDP0000835914	0 -1	MDP0000835914	AT1G42970
MDP0000122458	0 1	MDP0000122458	AT4G25140
MDP0000205588	0 1	MDP0000205588	AT3G11710
MDP0000210504	0 1	MDP0000210504	AT3G01570
MDP0000253300	0 1	MDP0000253300	AT2G38560
MDP0000302532	0 1	MDP0000302532	AT3G18990
MDP0000671144	0 1	MDP0000671144	ATS654770
MDP0000813339	0 1	MDP0000813339	AT4G34710
MDP0000151030	1 0	MDP0000151030	AT4G02510
MDP0000191203	1 0	MDP0000191203	AT3G16785
MDP0000253809	1 0	MDP0000253809	ATS665020
MDP0000281110	1 0	MDP0000281110	AT1G22770
MDP0000728753	1 0	MDP0000728753	ATS606860
MDP0000766240	1 0	MDP0000766240	AT4G01370
MDP0000836165	1 1	MDP0000836165	AT4G02330

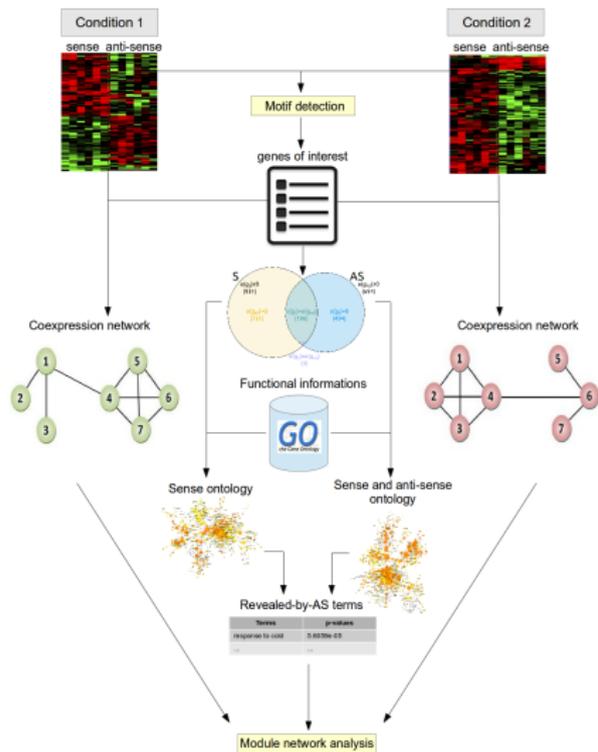
Premiers résultats de l'analyse

- "response to cold" : conservation du fruit en frigo
- 56 couples : 24 ont un profil "Sens →, Anti-sens ↘"
- Hypothèse : « Activation » du gène par l'inhibition de l'anti-sens

ANTISENS	EVOLUTION	SENS	AT
MDP0000151721		MDP0000151721	ATS667590
MDP0000223905	-1 -1	MDP0000223905	AT2G39730
MDP0000272802	-1 -1	MDP0000272802	ATS667590
MDP0000561026	-1 -1	MDP0000561026	AT2G36830
MDP0000944409	-1 -1	MDP0000944409	AT2G39730
MDP0000132480	-1 0	MDP0000132480	AT2G27710
MDP0000134273	-1 0	MDP0000134273	AT2G26250
MDP0000134685	-1 0	MDP0000134685	AT4G37530
MDP0000146698	-1 0	MDP0000146698	AT5G38480
MDP0000151190	-1 0	MDP0000151190	AT3G24120
MDP0000169619	-1 0	MDP0000169619	AT1G56070
MDP0000206093	-1 0	MDP0000206093	AT4G04330
MDP0000206314	-1 0	MDP0000206314	AT3G05990
MDP0000215630	-1 0	MDP0000215630	AT3G51780
MDP0000224974	-1 0	MDP0000224974	AT3G61580
MDP0000231051	-1 0	MDP0000231051	AT2G46210
MDP0000234570	-1 0	MDP0000234570	AT4G37930
MDP0000237499	-1 0	MDP0000237499	AT3G23050
MDP0000268045	-1 0	MDP0000268045	AT1G15950
MDP0000297425	-1 0	MDP0000297425	AT4G03280
MDP0000324254	-1 0	MDP0000324254	AT4G26960
MDP0000325574	-1 0	MDP0000325574	AT3G62410
MDP0000325582	-1 0	MDP0000325582	AT3G62410
MDP0000564897	-1 0	MDP0000564897	AT2G22430
MDP0000642609	-1 0	MDP0000642609	AT3G53990
MDP0000760376	-1 0	MDP0000760376	AT2G46210
MDP0000777933	-1 0	MDP0000777933	AT1G56070
MDP0000877759	-1 0	MDP0000877759	AT4G26960
MDP0000920069	-1 0	MDP0000920069	AT1G64060
MDP0000310152	-1 1	MDP0000310152	ATS665730
MDP0000126738	0 -1	MDP0000126738	AT3G18990
MDP0000132477	0 -1	MDP0000132477	AT4G37930
MDP0000148186	0 -1	MDP0000148186	AT1G32060
MDP00002841245	0 -1	MDP00002841245	AT1G49480
MDP0000284771	0 -1	MDP0000284771	AT1G42970
MDP0000287992	0 -1	MDP0000287992	AT1G01060
MDP0000300321	0 -1	MDP0000300321	AT3G45140
MDP0000317816	0 -1	MDP0000317816	AT5G01600
MDP0000321244	0 -1	MDP0000321244	AT2G39730
MDP0000429215	0 -1	MDP0000429215	AT2G46590
MDP0000647652	0 -1	MDP0000647652	AT4G17090
MDP0000835914	0 -1	MDP0000835914	AT1G42970
MDP0000122458	0 1	MDP0000122458	AT4G25140
MDP0000205588	0 1	MDP0000205588	AT3G11170
MDP0000210504	0 1	MDP0000210504	AT3G01570
MDP0000253300	0 1	MDP0000253300	AT2G38560
MDP0000302532	0 1	MDP0000302532	AT3G18990
MDP0000671114	0 1	MDP0000671114	ATS654770
MDP0000813339	0 1	MDP0000813339	AT4G34710
MDP0000151030	1 0	MDP0000151030	AT4G02510
MDP0000191203	1 0	MDP0000191203	AT3G16785
MDP0000253809	1 0	MDP0000253809	ATS665020
MDP0000281110	1 0	MDP0000281110	AT1G22770
MDP0000728753	1 0	MDP0000728753	ATS606860
MDP0000766240	1 0	MDP0000766240	AT4G01370
MDP0000836165	1 1	MDP0000836165	AT4G02330

Construction de réseaux

Travail en cours



- Différentes méthodes d'inférence de réseau : WGCNA, C3NET
- Comparaison des réseaux S-AS avec les réseaux S
- Comparaison des réseaux H avec 60DAH

Poursuites

- Intégration de connaissances *a priori* pour valider l'effet post-transcriptionnel
- Utilisation de la méthodologie sur d'autres contextes chez le pommier
- Utilisation de la méthodologie sur des données *Arabidopsis thaliana*

Construction et analyse de réseaux contextuels de co-expression pour des données transcriptomiques sens et anti-sens

Présentation NETBIO

Marc Legeay, Béatrice Duval, Jean-Pierre Renou, Julie Bourbeillon

LERIA - IRHS

30 septembre 2015

