

Hiirten ja rottien sydännäytteistä tuotetun mikrosirudatan analysointi

Tiedonlouhinnan harjoitustyö 9.6.2013

Antti Kurronen

Irene Pöllänen

antti.kurronen@student.uef.fi

1 YLEISKUVAUS (ANTTI KURRONEN)

Tutkimuksessa louhittiin kahdesta eri Jaakko Pohjoismäen mikrosirututkimuksesta saatuja dataa. Mikrosirumenelmällä selvitetään lähetti-RNA:n määrää, joka kuvaa mitkä geenit ovat aktiivisia näytteessä. Toisessa tutkimuksessa oli neljän tyyppisiä hiiriä, jotka olivat joko normaaleja villityypin hiiriä tai geneettisesti muunneltuja hiiriä. Muuntelujen oletettiin muuttavan eliön vastetta oksidatiiviseen stressiin, eli happiradikaalien neutralointiin ja mitokondrionaalisen DNA:n replikoitumiseen. Toisessa tutkimuksessa oli tutkittu eri-ikäisiä rottia (sikiö - 24kk), joiden vasteissa oksidatiiviseen stressiin toivottiin olevan samankaltaisia eroja kuin geenimuunnelluilla hiirillä.

Molekulaarisen tutkimuksen edetessä on saatu tietoa eri geenien koodaamista proteiineista, kuten mitä ne tekevät ja missä ne sijaitsevat. Nämä tiedot on kerätty Geeni Ontologia (GO) tietokantaan, josta tieto on vapaasti haettavissa. Tässä louhintaprojektissa pyrittiin selvittämään, miten hiirten mutaatiot vaikuttivat GO-profiiliin, eli mitkä GO-luokkien tapahtumat olivat aktiivisempia tai inaktiivisempia eri eläinryhmien välillä. Vastaavasti rotilla tarkasteltiin iän vaikutusta geenien ekspressiotasojen muutoksiin ja miten ne vaikuttavat GO-termien ilmenemiseen. Mielenkiintona oli myös tarkastella, ovatko muutokset GO-luokissa ja geenien ekspressiotasoissa samankaltaiset eri eläinlajien välillä.

2 DATA (ANTTI KURRONEN)

2.1 Hiiridata

- Alkuperäisessä hiiridatassa 29675 riviä ja 21 muuttujaa
- Geeniekspressiodata oli kerätty käsittääksemme 12 eri hiiriyksilön (12 replikaattisirua) sydännäytteestä ja geenitiedot olivat mikrosirun toimittajalta. Data oli kerätty tieteellistä julkaisua varten.
- Data oli staattista ja rakenteellista, eli riveillä oli tiettyyn geeniin liittyviä tietoja sekä geeniekspressioarvoja eri hiiristä
- Muuttujat: kirjalliset geenitiedot
 - RNA-juosteen ID
 - yksilöllinen nimi mRNA:lle, joka on sirulla spesifisesti etsitty
 - Geenisymboli
 - yksilöllinen nimilyhenne kullekin geenille.
 - Nimi
 - Geenin koko nimi
 - Kromosomi
 - Ilmoittaa missä kromosomeissa geeni sijaitsee
 - Swissprot
 - Geenistä tuotetun proteiinin swissprot-nimi (Swissprot-tietokannan oma nimitys)
 - Unigene
 - Yksilöllinen geenitunnus hiirelle. Ei löydy kaikille geneille.
 - GO_Biological process
 - Biologisen prosessin geeniontologialuokkatunnukset tietylle geenille.
 - Kuvaa geenituotteiden yleistä toimintaa
 - GO_Cellular component
 - Solun sijainnin geeniontologialuokkatunnukset tietylle geenille.
 - Kuvaa geenituotteiden sijaintia solussa
 - GO_Molecular function
 - Molekulaarisen toiminnan geeniontologialuokkatunnukset tietylle geenille.
 - Kuvaa tarkemmin geenien toimintaa
 - Numeeriset (liukuluku) ekspresioarvot hiirille
 - JP_control (x3)

-kolme kontrollihiirtä, eli tavallisten villityypin hiirten ekspressioarvot

- JP_MUT (x3)
-Ekspressioarvot kolmesta transgeenisestä hiirestä, jolla ylimääräinen Twinkle-geeni
- JP_S (x3)
-Ekspressioarvot kolmesta transgeenisestä hiirestä, joilta SOD2-geeni poistettu
- JP_ST (x3)
-Ekspressioarvot kolmesta transgeenisestä hiirestä, joilta SOD2-geeni poistettu ja ylimääräinen Twinkle-geeni

➤ Datan laatu

- Alkuperäisessä hiiridatassa oli identtisiä rivejä, joilla ekspressioarvot olivat kahdeksan desimaalin tarkkuudella täydellisesti samat. Tämä on johtunut joko laitteiston vikaantumisesta, kun siruja on ajettu tai sitten kopiointivirhe ohjelmistossa. Lisäksi tuhansilta riveiltä puuttui geenitietoja, joten ne jouduttiin poistamaan. Datojen laatu oli muuten hyvää. Kaikki kolme biologista rinnakkaista sirua tuottivat hyvin lineaarisesti käyttäytyvän datan. Ulkopuolisia datapisteitä oli vähän. Datassa oli useita mittauksia samoista geneistä, joten ne yhdistettiin.

2.2 Rottadata

- Alkuperäisessä rottadatassa oli 31043 riviä ja 27 muuttujaa
- Geeniekspressiodata oli kerätty käsittääksemme 18 eri rottayksilön (18 replikaattisirua) sydännäytteestä ja geenitiedot olivat mikrosirun toimittajalta. Data oli kerätty tieteellistä julkaisua varten.
- Data oli hiiridatan tapaan staattista ja rakenteellista, eli riveillä oli tiettyyn geeniin liittyviä tietoja sekä geeniekspressioarvoja eri rotista
- Muuttujat: kirjalliset geenitiedot (lähes identtiset hiiridatan kanssa)
 - Geenisymboli
-yksilöllinen nimilyhenne kullekin geenille.
 - Nimi
-Geenin koko nimi
 - Kromosomisijainti
-Geenin kromosomaalinen sijainti
 - Swissprot
-Geenistä tuotetun proteiinin swissprot-nimi (Swissprot-tietokannan oma nimitys)

- Unigene
 - Yksilöllinen geenitunnus rotalle. Ei löydy kaikille geeneille.
- Ensembl-tunnus
 - Yksilöllinen geenitunnus. Ei löydy kaikille geeneille.
- Entrez Gene
 - Yksilöllinen geenitunnus. Löytyy lähes kaikille geeneille
- GO_Biological process
 - Biologisen prosessin geeniontologialuokkatunnukset tietyille geeneille.
 - Kuvaa geenituotteiden yleistä toimintaa
- GO_Cellular component
 - Solun sijainnin geeniontologialuokkatunnukset tietyille geeneille.
 - Kuvaa geenituotteiden sijaintia solussa
- GO_Molecular function
 - Molekulaarisen toiminnan geeniontologialuokkatunnukset tietyille geeneille.
 - Kuvaa tarkemmin geenien toimintaa
- Numeeriset (liukuluku) ekspressioarvot erityyppisille rotille
 - ZL_E18_SD (x3)
 - Ekspressioarvot kolmesta 18 päivää vanhasta Sprague-Dawley- rotasta
 - ZL_neo_SD (x3)
 - Ekspressioarvot kolmesta vastasyntyneestä Sprague-Dawley- rotasta
 - ZL_d10 (x3)
 - Ekspressioarvot kolmesta 10 päivää vanhasta Sprague-Dawley- rotasta
 - ZL_adult_SD (x3)
 - Ekspressioarvot kolmesta 3 kk vanhasta Sprague-Dawley- rotasta
 - ZL_adult_WS (x3)
 - Ekspressioarvot kolmesta 3kk vanhasta Wistar-rotasta
 - ZL_old_WS (x3)
 - Ekspressioarvot kolmesta 2 vuotta vanhasta Wistar- rotasta
- Kolmanneksella rottadatan riveistä ei ollut geenitietoja. Nämä jouduttiin poistamaan, koska ei tiedetty mille geeneille ekpressioarvot kuuluvat. Ulkopuolisia datapisteitä oli vähän. Datassa oli useita mittauksia samoista geneistä, joten ne yhdistettiin. Kaikki kolme

biologista rinnakkaista sirua tuottivat hyvin lineaarisesti käyttäytyvän datan, joten kaikkien replikaattisirujen tulokset voitiin ottaa mukaan tarkasteluun.

3 ESIPROSESSOINTI (ANTTI KURRONEN)

3.1 Datan siivous

3.1.1 Hiiridata

Alkuperäisessä hiiridatassa oli n 324 kpl identtisiä rivejä, joilla ekspressioarvot olivat kahdeksan desimaalin tarkkuudella täydellisesti samat (*Mouse_phase_2_excluded_identical_rows.xlsx*). Tämä on johtunut joko laitteiston vikaantumisesta tai kopiointivirheestä ohjelmistoissa. Lisäksi 4400 rivillä ei ollut minkäänlaisia geenitietoja, joten ne jouduttiin poistamaan. Datojen laatu oli muuten hyvää. Kaikki kolme biologista rinnakkaista sirua tuottivat hyvin lineaarisesti käyttäytyvän datan. Ulkopuolisia datapisteitä oli vähän. Datassa oli useita mittauksia samasta geenistä, joten ne yhdistettiin yhdeksi riviksi geenitietoja ja lisäksi numeeristen arvojen keskiarvo, keskihajonta, keskivirhe ja mediaani. Yhdistämisessä otettiin mukaan vain kolmen replikaatin numeeriset arvot, jotka erosivat mediaanista vain 25 %. Jos geenin mediaanista eroavien arvojen lukumäärä oli yli 40 % arvojen kokonaislukumäärästä, poistettiin koko geeni jatkotarkastelusta. Tällaisia geenejä oli 151 kappaletta (*Mouse_phase_6_duplicates_removed.csv*). Geeniontologia termejä oli useita identtisiä kopioita samalla rivillä, joten ylimääräiset kopiot poistettiin.

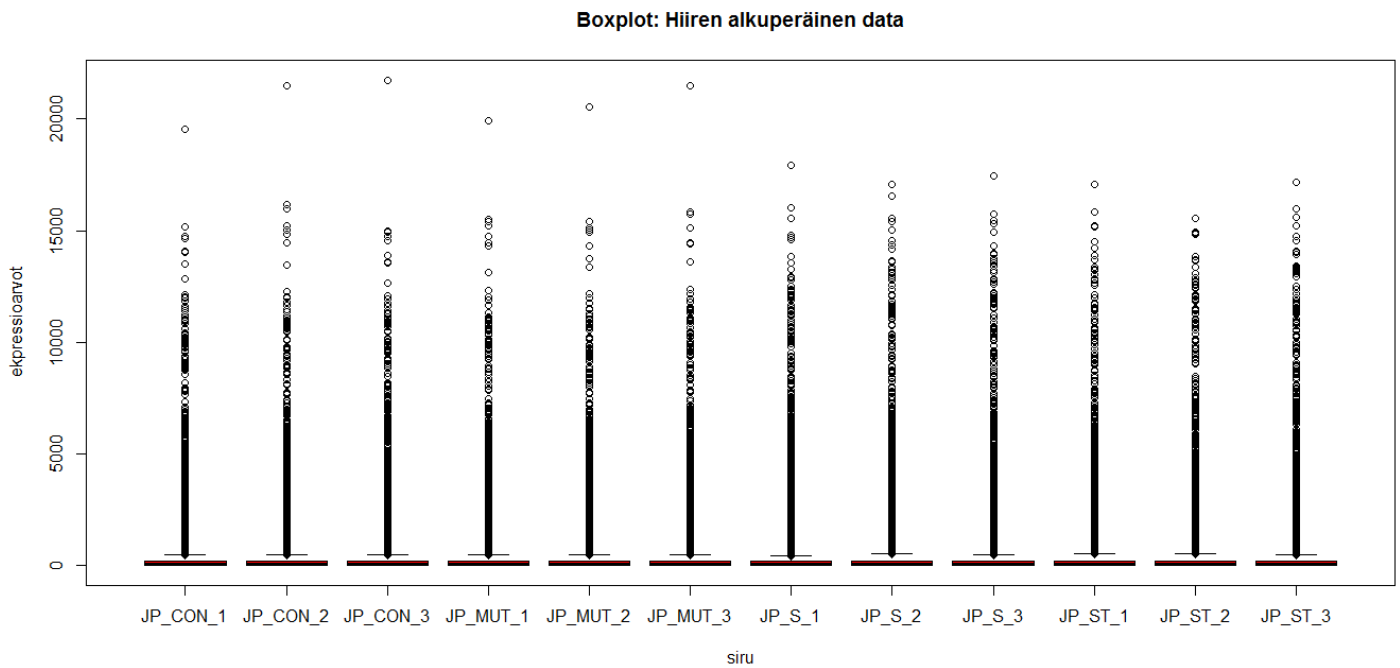
3.1.2 Rottadata

Alkuperäisessä rottadatassa oli lähes 11000 riviä, joilla ei ollut geenitietoja. Eli kolmannes koko datasta. Osalla noista poistetuista rivistä oli unigene-tunnus, jonka avulla olisi voinut täydentää tietoja. Täydennystä ei kuitenkaan tehty. Rottadatassakin oli samasta geenistä useita tulosrivejä ja nämä yhdistettiin samalla tavalla kuin tehtiin hiiren datalle. Geenejä jouduttiin poistamaan jatkotarkasteluista 1100 kappaletta liian suuren hajonnan vuoksi (*Rat_phase_7_removed_genes.csv*). Myös rotalla oli geeniontologia termien identtisiä kopioita, jotka poistettiin.

3.2 Hiiren datan tilastollinen perusanalyysi

3.2.1 Siruttainen datan hajonta esitetty Boxplot:illa

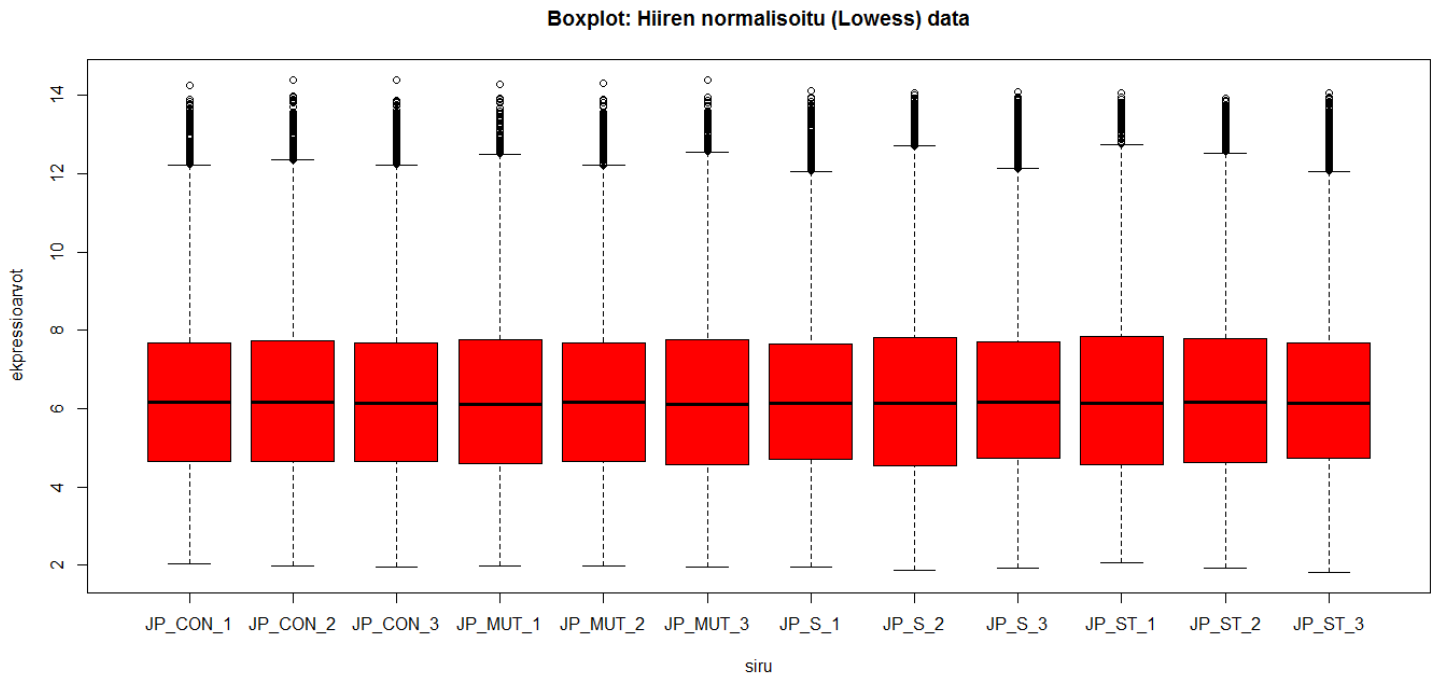
- Alkuperäinen Hiiren data
 - mediaani on esitetty alhaalla laatikon sisällä. Data on jaettu neljään kvartaaliin, joista kaksi keskimmäistä muodostavat punaisen laatikon (ei näy tässä hyvin)
 - ekspressioarvot y-akselilla



Kuva 1. Boxplot hiiren alkuperäisestä datasta.

➤ Lowesin menetelmällä normalisoitu data

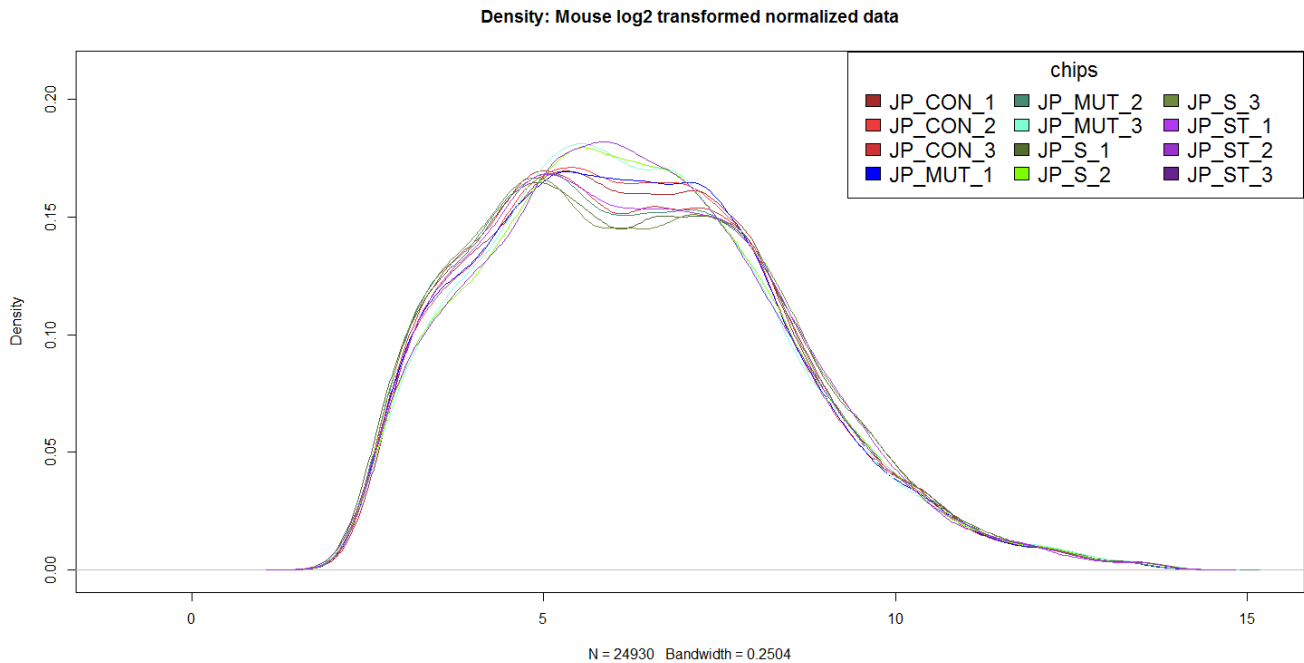
- log2-muunnettu -> näyttää ehkä log2 muunnoksen takia paremmalta
- Ulkopuoliset arvot näkyvät ylhäällä ympyröinä (suuria ekspressioarvoja)
- mediaani esitetty laatikon keskellä olevana viivana



Kuva 2. Boxplot hiiren normalisoidusta datasta

3.2.2 Tiheyskuvaaja: normalisoitu data (log2-muunnettu)

- näyttää datan jakauman eri siruille
- ekpressioarvot x-akselilla ja y-akselilla suhteelliset arvojen esiintyvyydet
- keskivaiheilla pieni notkahdus, mutta muuten normaalijakautunut jakauma

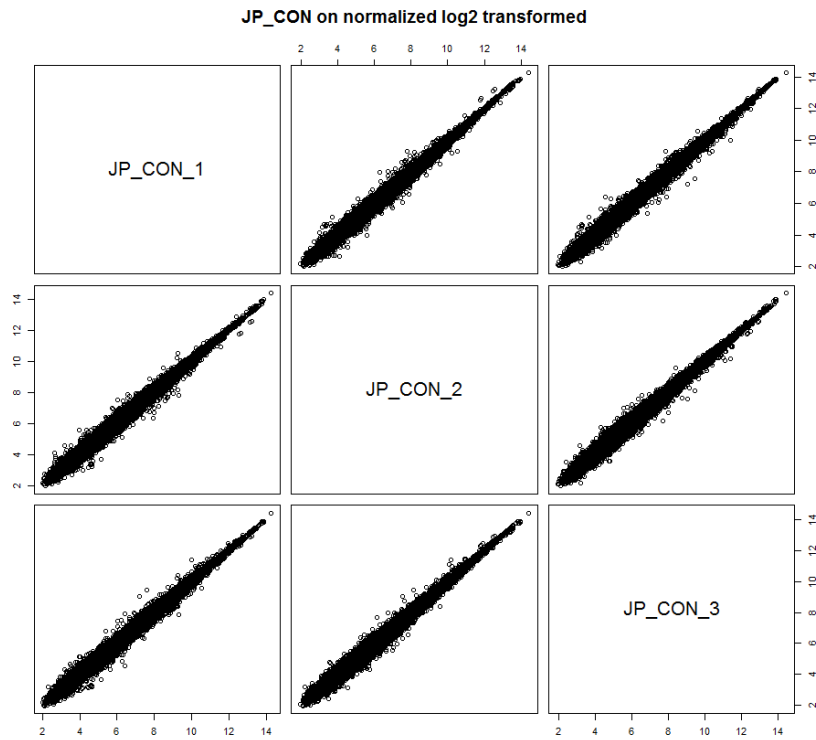


Kuva 3. Hiiren datan tiheyskuvaaja siruttain.

3.3 Sirujen vertailu

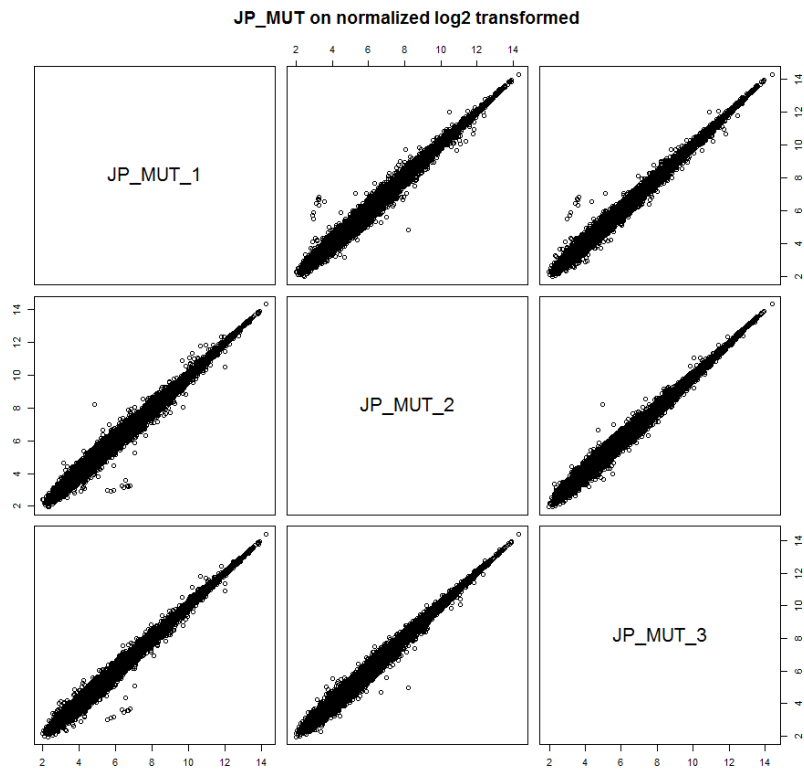
- normalisoitu, log2 muotoon muutettu
- kuvaajien asteikot ekpressioarvoja (y- ja x-akselit)
- kaikki rinnakkaiset sirut vastaavat lineaarisesti toisiaan -> kaikki hiiren sirut voidaan ottaa mukaan analyysiin
- Ulkopuolisia (outliers) arvoja esiintyy harvoin

3.3.1 Kontrolli hiiri



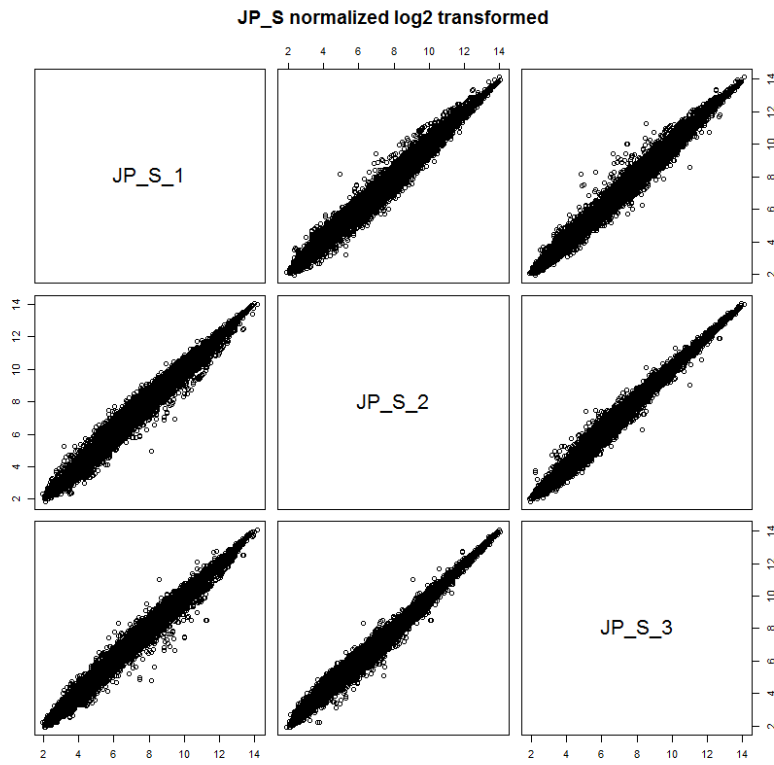
Kuva 4. Kontrollihiirten ekspressiotasojen vertailu toisiinsa

3.3.2 Mutantti hiiri (twinkle mutant)



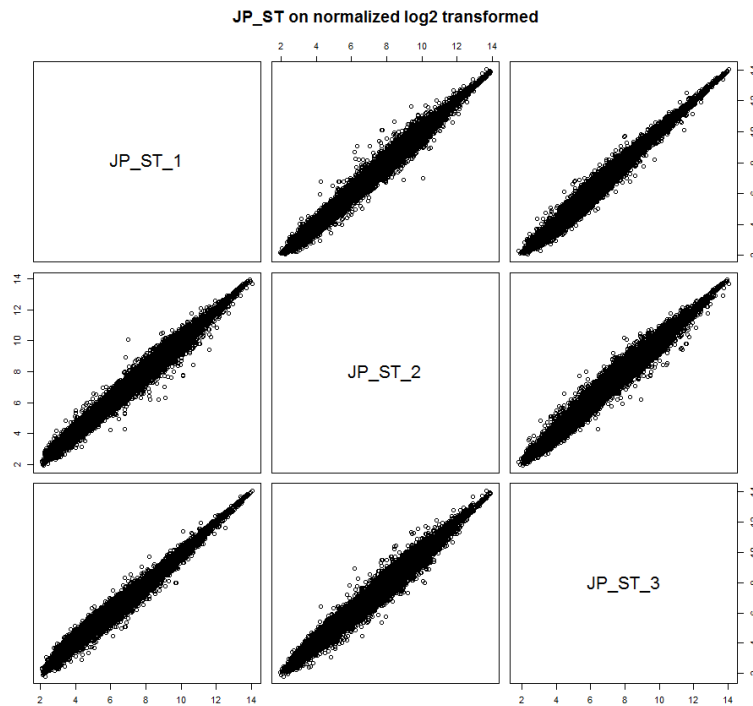
Kuva 5. Mutanttahiirten ekspressiotasojen vertailu toisiinsa

3.3.3 SOD2-hiiri (JP_S)



Kuva 6. SOD hiirten ekspressiotasojen vertailu toisiinsa

3.3.4 SOD2+Twinkle-hiiri (JP_ST)



Kuva 7. SOD+Twinkle hiirten ekspressitasojen vertailu toisiinsa

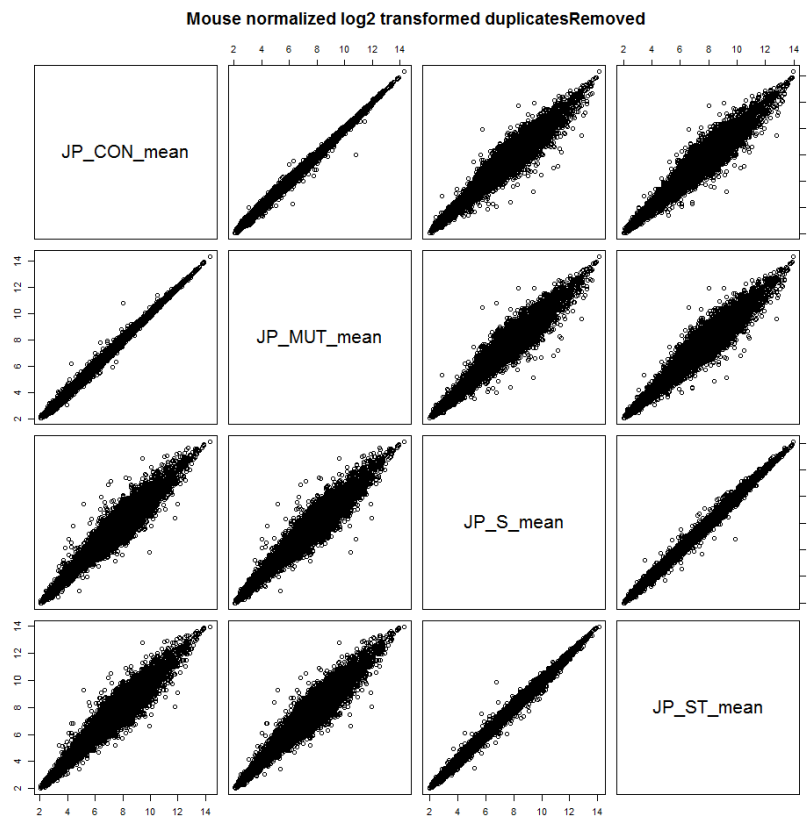
Taulukko 1. Hiiridatan eri sirujen keskiarvot, hajonnat ja mediaani.

	keskiarvo	keskihajonta	keskivirhe	mediaani
JP_CON_1	6.267	2.103	0.013	6.156
JP_CON_2	6.296	2.124	0.013	6.168
JP_CON_3	6.269	2.113	0.013	6.141
JP_MUT_1	6.269	2.151	0.014	6.120
JP_MUT_2	6.272	2.115	0.013	6.154
JP_MUT_3	6.262	2.166	0.014	6.108
JP_S_1	6.288	2.113	0.013	6.127
JP_S_2	6.288	2.201	0.014	6.139
JP_S_3	6.308	2.115	0.013	6.165
JP_ST_1	6.291	2.190	0.014	6.141
JP_ST_2	6.300	2.153	0.014	6.157
JP_ST_3	6.291	2.107	0.013	6.146

➤ keskiarvo lähes sama kuin mediaani. Hajonta on datassa melko alhaista.

3.4 Eri hiirien keskiarvojen vertailu toisiinsa

- Normalisoitu, log2 muotoon muutettu
- Kuvaajien asteikot ekspressioarvoja (y- ja x-akselit)
- Suuria ulkopuolisia arvoja esiintyy harvoin -> ei suuria eroja ryhmien välillä
- Kontrolli ryhmä eroaa eniten S ja ST ryhmistä
- keskiarvojen minimiarvo 1.973579 ja maksimiarvo 14.35043



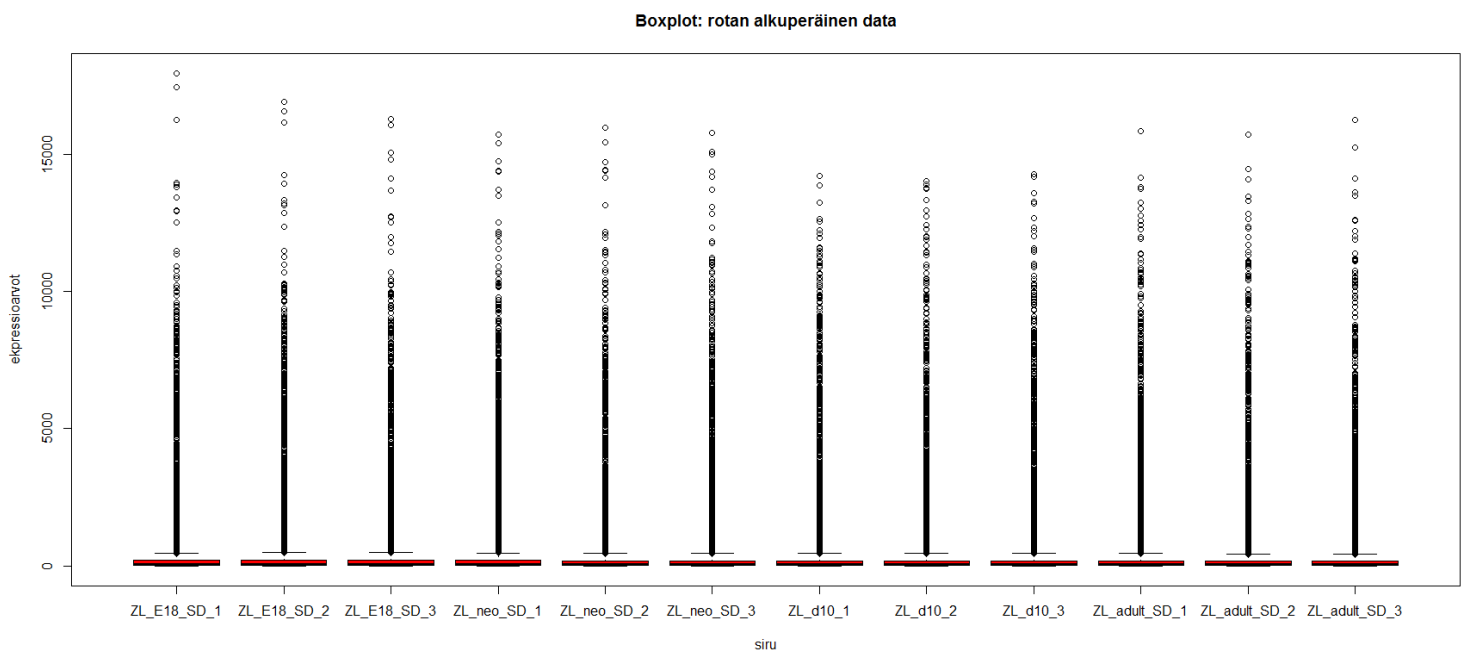
Kuva 8. Eri hiiriryhmien keskiarvojen vertailu toisiinsa

3.5 Rotan datan tilastollinen perusanalyysi

3.5.1 Siruttainen datan hajonta esitetty Boxplot:illa

➤ Alkuperäinen Rotan data

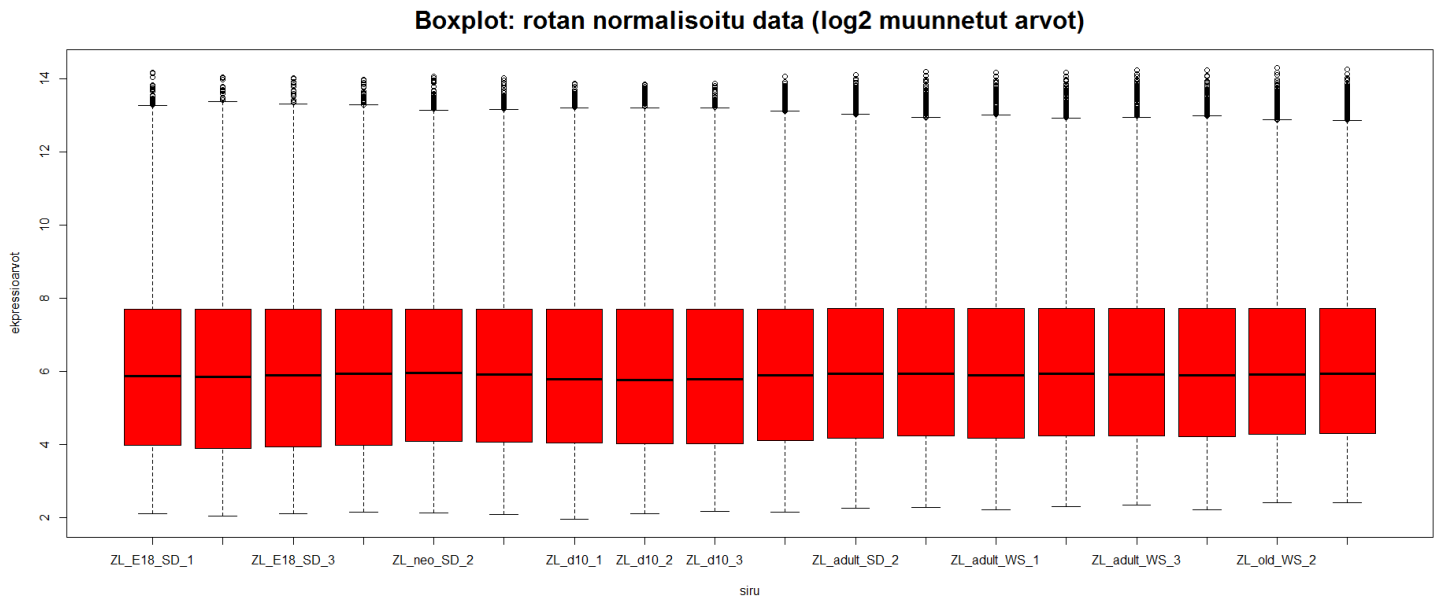
- mediaani on esitetty alhaalla laatikon sisällä. Data on jaettu neljään kvartaaliin, joista kaksi keskimmäistä muodostavat punaisen laatikon (ei näy tässä hyvin)
- ekspressioarvot y-akselilla
- Ulkopuoliset arvot esitetty ympyröinä (suuria ekspressioarvoja)
- Mediaani on n. 70 arvolla -> ulkopuoliset arvot satoja kertoja suurempia



Kuva 9. Boxplot rotan alkuperäisestä datasta.

➤ Lowesin menetelmällä normalisoitu data

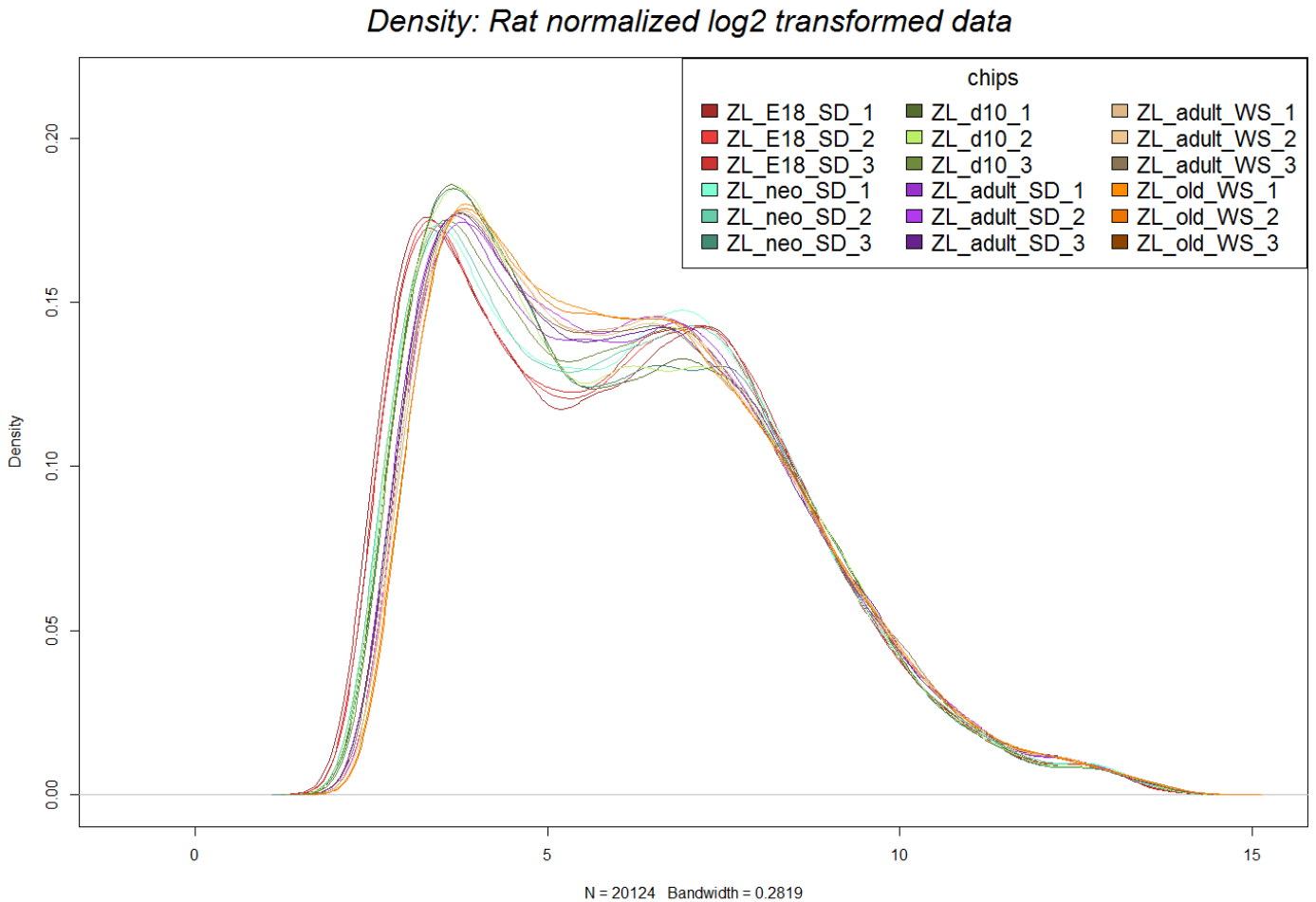
- log2-muunnettu -> näyttää ehkä log2 muunnoksen takia paremmalta
- Ulkopuoliset arvot näkyvät ylhäällä ympyröinä (suuria ekspressioarvoja)
- mediaani esitetty laatikon keskellä olevana viivana



Kuva 10. Boxplot rotan normalisoidusta datasta

3.5.2 Tiheyskuvaaja: normalisoitu data (log2-muunnettu)

- näyttää datan jakauman eri siruille
- ekpressioarvot x-akselilla ja y-akselilla suhteelliset arvojen esiintyvyydet
- keskivaiheilla melko suuri notkahdus, mutta muuten normaalijakautunut jakauma

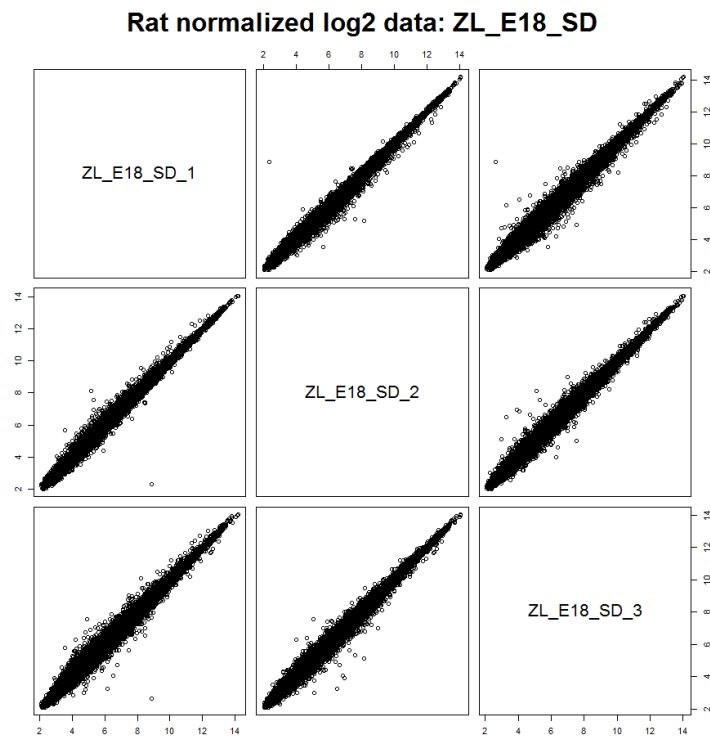


Kuva 11. Rotan datan tiheyskuvaaja siruittain.

3.6 Sirujen vertailu

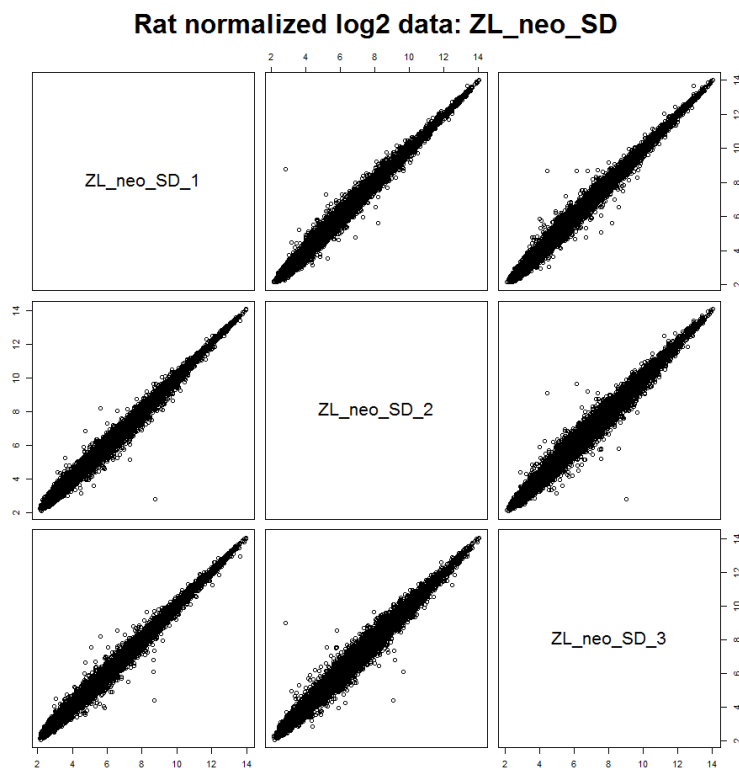
- normalisoitu, log2 muotoon muutettu
- kuvaajien asteikot ekspressioarvoja (y- ja x-akselit)
- kaikki rinnakkaiset sirut vastaavat lineaarisesti toisiaan -> kaikki rotan sirut voidaan ottaa mukaan analyysiin
- Ulkopuolisia arvoja esiintyy jonkin verran

3.6.1 E18_SD –rotta



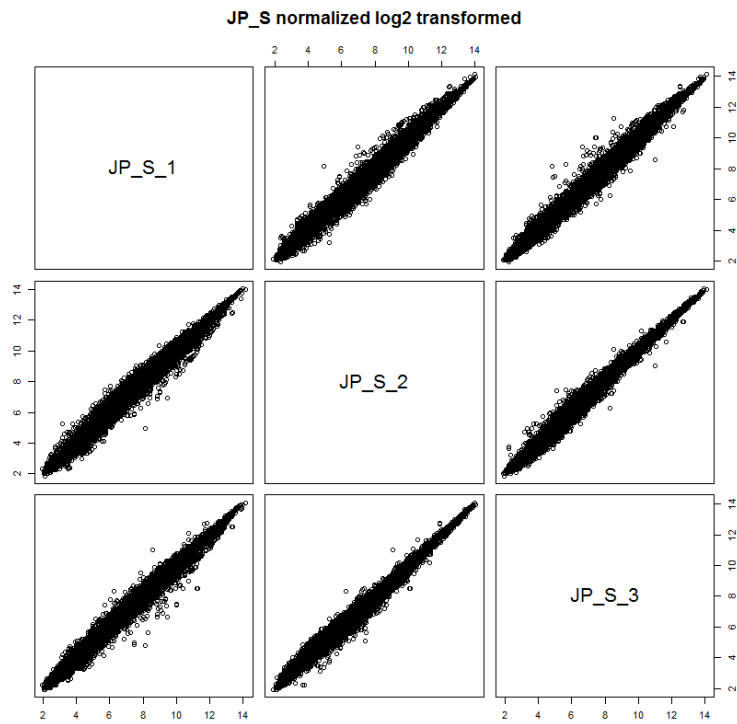
Kuva 12. 18 päivää vanhojen rottien ekspressiotasojen vertailu toisiinsa

3.6.2 neo_SD -rotta



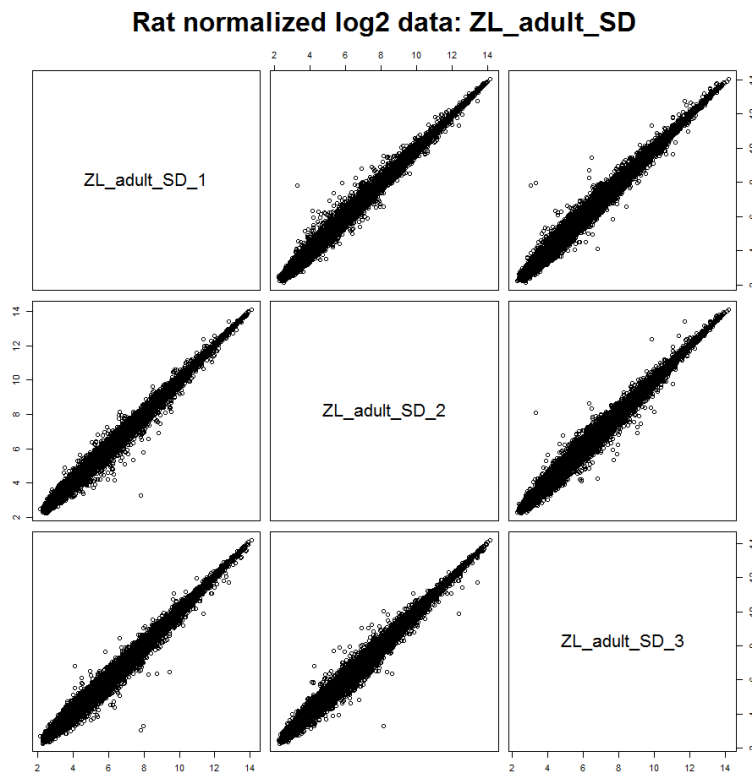
Kuva 13. 10 Vastasyntyneiden rottien ekspressiotasojen vertailu toisiinsa

3.6.3 d10 -rotta



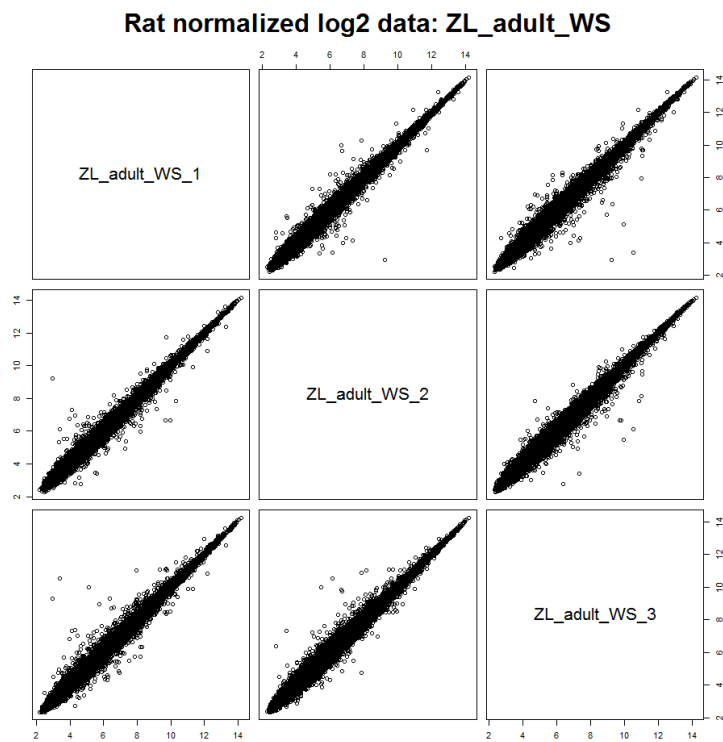
Kuva 14. 10 Päivää vanhojen rottien ekspressiotasojen vertailu toisiinsa

3.6.4 adult_SD



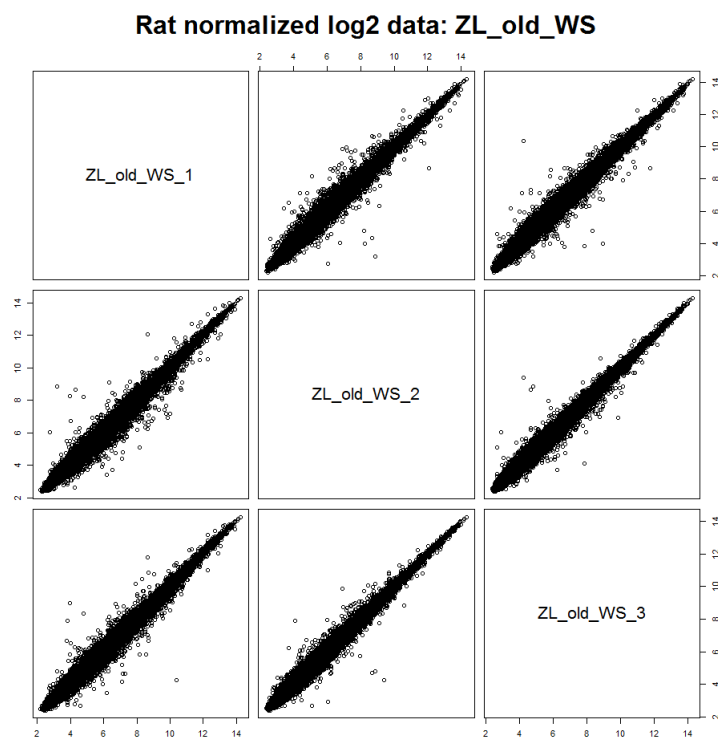
Kuva 15. 3kk vanhojen Sprague-Dawley-rottien ekspressiotasojen vertailu toisiinsa

3.6.5 Adult_WS



Kuva 16. 3kk vanhojen Wistar-rottien ekspressiotasojen vertailu toisiinsa

3.6.6 Old_WS



Kuva 17. 2 vuotta vanhojen rottien ekspressiotasojen vertailu toisiinsa

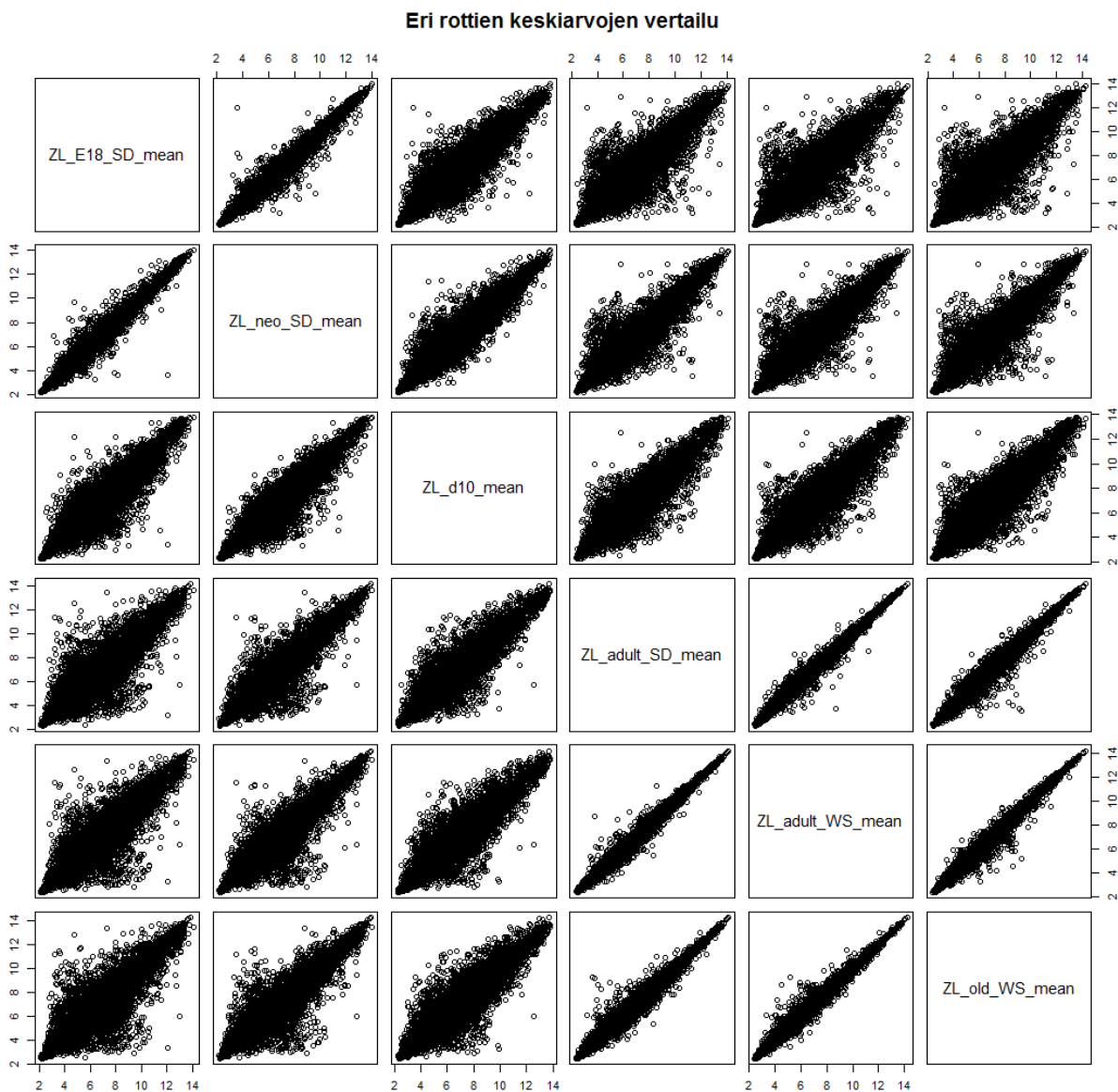
Taulukko 2. Rottadatan eri sirujen keskiarvot, hajonnat ja mediaani.

	keskiarvo	keskihajonta	keskivirhe	mediaani
ZL_E18_SD_1	6.03	2.358	0.017	5.867
ZL_E18_SD_2	5.99	2.379	0.017	5.848
ZL_E18_SD_3	6.026	2.366	0.017	5.899
ZL_neo_SD_1	6.032	2.356	0.017	5.922
ZL_neo_SD_2	6.089	2.327	0.016	5.957
ZL_neo_SD_3	6.072	2.335	0.016	5.913
ZL_d10_1	6.028	2.323	0.016	5.776
ZL_d10_2	6.023	2.333	0.016	5.76
ZL_d10_3	6.023	2.333	0.016	5.776
ZL_adult_SD_1	6.096	2.331	0.016	5.897
ZL_adult_SD_2	6.143	2.308	0.016	5.928
ZL_adult_SD_3	6.17	2.29	0.016	5.943
ZL_adult_WS_1	6.133	2.308	0.016	5.895
ZL_adult_WS_2	6.174	2.288	0.016	5.937
ZL_adult_WS_3	6.161	2.291	0.016	5.918
ZL_old_WS_1	6.143	2.302	0.016	5.895
ZL_old_WS_2	6.188	2.276	0.016	5.92
ZL_old_WS_3	6.198	2.273	0.016	5.943

- keskiarvo lähes sama kuin mediaani ja molemmat lähelle hiiridatan arvoja.
- d10 rotilla mediaanit selvästi alempia kuin muilla rotilla
- Hajonta on datassa melko alhaista.

3.7 Eri rottien keskiarvojen vertailu toisiinsa

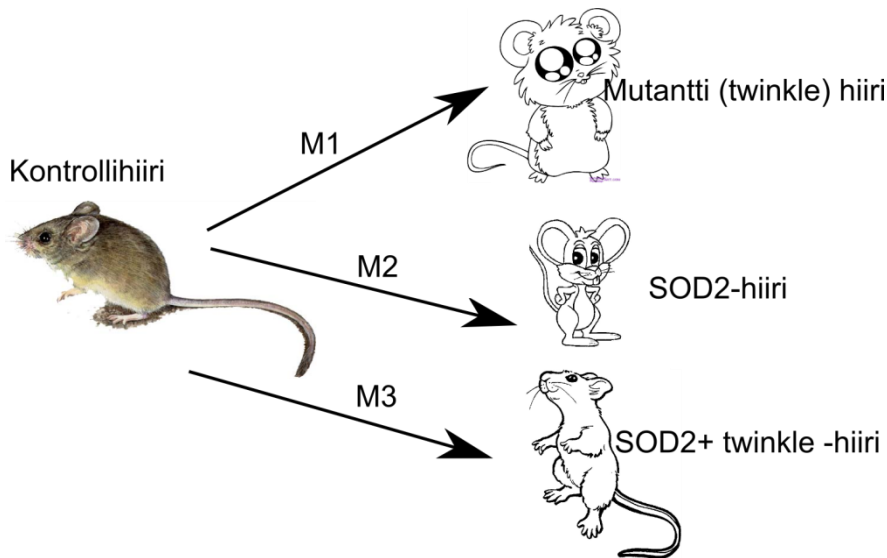
- Normalisoitu, log2 muotoon muutettu
- Kuvaajien asteikot ekspressioarvoja (y- ja x-akselit)
- Linearisesta linjasta poikkeavia arvoja melko paljon
-> paljon ekspressioltaan eroavia geenejä
- Aikuiset (Adult_SD, Adult_WS) ja vanhat rotat (Old_WS) poikkeavat vähiten toisistaan
- Ero E18_SD-alkion ja neo_SD vastasyntyneen rotan välillä melko vähäistä.
- E18_SD alkio ja nuoret rotat (alle 3kk vanhat) eroavat vanhemmista rotista (3kk tai vanhempi) melko paljon
- keskiarvojen minimiarvo 2.122508 ja maksimiarvo 14.26567



Kuva 18. Eri rottaryhmien keskiarvojen vertailu toisiinsa

3.8 Muuttujien muodostus

Numeerisille muuttujille tehtiin normalisoinnissa log2-muunnos ja duplikaattigeenirivien yhdistämisen yhteydessä laskettiin replikaateista keskiarvot. Tilastolliseen analyysiin haluttiin mahdollisimman paljon muuttujia. Eri ryhmien keskiarvoja vertailtiin toisiinsa, jonka avulla luotiin binääriset muuttujat. Hiiridatassa verrattiin kontrollihiiren ekspressiotason keskiarvoa muiden hiirten keskiarvoihin geneittään, eli jokaiselle geenille laskettiin muuttujat. Jos geenille ei laskennassa muodostunut yhtään binääristä muuttujaa, poistettiin geeni tietoineen jatkotarkastelusta.



Kuva 19. Esimerkkinä muuttujien muodostus eri hiiriryhmien välille. Kontrolliryhmää verrataan muihin ryhmiin.

3.8.1 Muuttujat tilastolliseen analyysiin

Ekspressiotasojen vertailu tehtiin kaavalla:

$$M = \begin{cases} UP, \text{ jos } h > k * 1.2 \\ DOWN, \text{ jos } h * 1.2 < k \end{cases}$$

, jossa h = vertailtavan hiiren ekspression keskiarvo

k = kontrollihiiren ekspression keskiarvo

Esimerkiksi mutanttihiiren ekspressiotason keskiarvon ollessa korkeampi kuin kontrollihiiren [keskiarvo * 1.2], niin tällöin vertailueroksi merkittiin MUT_UP, eli mutantilla on vähintään 20 % korkeampi ekspressiotaso. Rotalle tehtiin vertailut samalla tavalla. Rotalla verrattiin 18 päivän alkia kaikkiiin muihin rottaryhmiin. Alkuun käytettiin myös suoraan kolmen replikaatin mediaaniarvojen vertailuja toisiinsa, mutta keskiarvojen ajateltiin olevan tarkempia.

Sekä hiiren, että rotan datasta poistettiin kaikki muut tiedot kuin geeniontologia termit ja ryhmien väliset binääriset vertailumuuttujat. Nämä kaikki muuttujat asetettiin riveittäin tekstitiedostoon välilyönnein erotettuna.

3.8.2 Muuttujat ilmenevien GO-termien klusterointiin

Klusterointiosion ekspressiotasojen vertailu tehtiin samankaltaisella kaavalla kuin edellä:

$$M = \begin{cases} 1, \text{jos } h > k * 1.2 \\ -1, \text{jos } h * 1.2 < k \\ \text{muuten}, 0 \end{cases}$$

, jossa h = vertailtavan hiiren ekspression keskiarvo
 k = kontrollihiiren ekspression keskiarvo

Rotilla verrattiin E18-alkion arvoja muiden rottaryhmien arvoihin. Jokaiselle geenille löytyy siis muuttujat kullekin eläinryhmälle, miten ne eroavat kontrolliryhmästä (kontrollihiiri tai E18-alkio).

Tuloksena on esim. hiirelle:

			ero_MUT	ero_S	ero_ST
Geeni1	muut nimet..	GO-termilista..	-1	0	1
Geeni2	muut nimet..	GO-termilista..	0	0	-1

Kunkin geenin GO-termit erotettiin omille riveilleen, joihin lisättiin edellä luodut muuttujat. Esim.

hiirelle:	ero_MUT	ero_S	ero_ST
GO-termi1	-1	0	1
GO-termi2	0	0	-1
GO-termi1	1	1	-1

Nyt useilla riveillä oli duplikaatti GO-termejä lähtöisin eri geneistä (eri vertailuarvoilla).

Duplikaatti GO-termit yhdistettiin termin id:n mukaan ja laskettiin, kuin moni termin muuttujista muuttunut ylipäättään suuntaan tai toiseen, lisääntynyt tai vähentynyt. Eli kolme muuttujaa yhtä eläinryhmää kohden.

Esim. hiirelle saatiin muuttujia:

	MUT_ALTERED	MUT_UP	MUT_DOWN	S_ALTERED	S_UP	S_DOWN	ST_ALTERED	ST_UP	ST_DOWN
GO-termi3	3	3	0	10	9	1	0	0	0
GO-termi4	1	1	0	50	45	5	3	0	3

Rotalle muodostettiin muuttujat samalla tavoin.

Geeneihin liittyvien GO-termien lukumäärät eliöiden koko genomissa vaihtelee suuresti, eli esimerkiksi GO-termi *catalytic activity* (*GO:0003824*) löytyy hiiren yli 5000 geeniltä ja *morphogen activity* (*GO:0016015*) vain kolmelta geeniltä. Pelkkien lukumäärien tarkastelu ei mahdollisesti anna kokonaiskuvaa ilmenevistä GO-termeistä. Täten luotiin vaihtoehtoinen muuttujadata jakamalla edellä luodun taulukon kukin numeerinen arvo kyseisen GO-termin esiintyvyyden lukumäärällä, eli kuinka monella geenillä on kyseinen GO-termi kyseisellä eliölajilla (hiiri tai rotta). GO-termien esiintyvyydet hiiren ja rotan genomissa laskettiin NCBI:n ftp-palvelusta haetusta tiedostosta (<ftp://ftp.ncbi.nlm.nih.gov/gene/DATA/gene2go.gz>).

4 MALLINNUS (ANTTI KURRONEN)

4.1 GO-termien ja ekspressioerojen välinen tilastollinen riippuvuus Kingfisher-ohjelmalla

Mallinnuksessa oli tarkoituksena löytää hahmoja, joissa geeniontologiatermeillä on tilastollinen riippuvuus ekspressiovertailujen kanssa. Data ajettiin Kingfisher-ohjelmalla (v. 1.2; *Hämäläinen 2012*), Käyttäen asetuksia:

- hakukriteerinä Fisherin eksakti testi
 - ✓ käytetään p-arvon laskentaan: $\ln(p)$
- M-raja-arvo: rajoitteiden haussa -10, varsinaisessa hahmon haussa: -20
- Tulosrivien maksimilukumäärä: rajoitehaussa 40000, varsinaisessa haussa: 500

Ennen ajoa diskreetit muuttujat käännettiin Wilhelmiina Hämäläisen tuottaman namescodes-ohjelman avulla diskreeteiksi numerokoodeiksi. Ajo tehtiin kahdessa vaiheessa: ensimmäisessä päämääränä oli hakea mahdollisimman paljon hahmoja. Saaduista hahmoista haettiin kaikki seurauksia vastaavat koodit, jotka vastasivat jotain GO-termiä. Näistä GO-termien koodeista luotiin rajoitetiedosto, joka estää suuren osan GO-termien välisten riippuvuuksien etsimisen. Toisessa vaiheessa haettiin hahmot rajoitetiedoston kanssa ja saatiin lopulliset tulokset. Lopullisiin tuloksiin valittiin vain hahmot, joiden hyvyysmitan arvot olivat -20 tai sitä matalampia ko. säännöllä.

4.2 GO-termien ilmenemisen klusterointi

Louhinnassa pyrittiin myös klusteroimaan muuttujia, jotka kuvastivat mitkä GO-termit olivat olleet aktiivisempia tai inaktiivisempia tietyillä eläinryhmillä. Eli toisin sanoen: vertailtaessa ryhmien välisiä ekspressioeroja, kuinka monta geeniä, joilla sama GO-termi, oli muuttunut ekspressioltaan samalla tavoin. Tämä tehtiin kahden tyyppisillä datoilla: kunkin eläinryhmän GO-termien ilmenemisien lukumäärät (muuttunut ylipäättään, vain lisääntynyt (up), vain vähentynyt (down)) ja lukumäärät suhteessa kyseisen GO-termin esiintyvyyteen koko genomissa. Muuttujina oli kullekin eläinryhmälle lukumääräisenä ja suhteellisina arvoina:

Altered = ekpressiot lisääntyneet tai vähentyneet geeneillä, joilla kyseinen GO-termi

UP = ekpressiot lisääntyneet geeneillä, joilla kyseinen GO-termi

Down= ekpressiot alentuneet geeneillä, joilla kyseinen GO-termi

Klusterointi suoritettiin hierarkkisella klusteroinnilla, jossa

- etäisyysmittana average-link
- Pearsonin korrelaatiokerroimen menetelmää käytettiin GO-termien (muuttujien) samankaltaisuuksien määrittämiseen
- Spearmanin järjestyskorrelaatiokerroimen menetelmää käytettiin eläinryhmien välisten samankaltaisuuksien määrittämiseen
- esitettiin dendrogrammeina

5 TULOKSET JA JOHTOPÄÄTÖKSET (ANTTI KURRONEN)

Mielenkiintoisia tuloksia löydettiin datan kokoon ja monipuolisuuteen nähden melko vähän.

5.1 GO-termien ja ekspressioerojen välinen tilastollinen riippuvuus

Hiirellä ei löydetty tilastollisesti merkitseviä hahmoja (liite 1). Ekspressioarvoltaan eroavia geenejä ryhmien välilläkin oli vähän (~300), joka vaikutti varmasti tilastollisen testin tulosten vähyyteen.

Rotalla todettiin tilastollisessa testissä melko paljon GO-termejä ja ekspressioarvoja sisältäviä hahmoja (liite 2), joiden p-arvot olivat alle 0.001 ja frekvenssi yli 10 (eli hahmo löytyy 10 tai useammalta geeniltä). Hyvyysmitan arvo kyseisille hahmoille oli korkeintaan -20.

E18-alkion ja vastasyntyneen rotan (neo_SD) vertailusta ei löydetty merkittäviä hahmoja (liite 3). Alkion ja kymmenen päivää vanhan rotan vertailusta löytyi viitteitä esim. transkriptioon ja solusykliin vaikuttavien GO-termien matalammasta aktiivisuudesta (liite 4), mikä johtunee ehkä alkion nopeammasta kehitystahdistä. Adult_SD:llä ja Adult_WS:llä näyttäisi olevan DNA-korjaus ja mikrotubulusten toiminta vähäisempää kuin alkioilla (liitteet 5 ja 6). Myös 2 vuotta vanhalla (Old_WS) rotalla oli viitteitä mikrotubulusten vähäisemmästä toiminnasta (liite 7). Lisäksi Old_WS-rotalla oli aktiivisuus korkeampaa rautaionien sitomisessa, happimolekyylien muokkauksessa hydroksyyli-ryhmäksi ja vedeksi (monooxygenase activity) sekä peptidien pilkkomisessa (liite 7). Jos mono-oksygenaasi liittyy oleellisesti oksidatiiviseen stressiin, on tulos kiinnostava.

5.2 GO-termien ilmenemisen klusterointi

GO-termien ilmenemisen klusteroinnissa nähtiin, miten eläinryhmillä GO-termien aktiivisuus on muuttunut verrattuna verrokkiryhmään (hiirelle kontrollihiiriryhmä, rotalla E18-ryhmä). Klusteroinnit tehtiin kahdella datalla, joista toisessa oli laskettu esiintyvien GO-termien lukumäärät (esim. liite 8A) ja toisessa esiintyvät GO-termien lukumäärät suhteessa GO-termien kokonaismäärään eliön genomissa (esim. liite 8B). Klusteroinnit olivat molempien datojen osalta hyvin samankaltaiset, joten suhteellinen GO-termien esiintyvyys ei tuonut klusterointiin uutta tietoa. Klusteroinnissa yhdistettiin hiiren ja rotan datat, joka voinee tuottaa visuaalisia vääristymiä. Hiiren eri ryhmillä oli paljon vähemmän ekspressioltaan eroavia genejä kontrollista kuin rotan eri ryhmillä E18-ryhmästä, mikä saa hiiren GO-profiiliin näyttämään hyvin inaktiiviselta.

5.2.1 Yleinen muutos (joko lisääntynyt tai alentunut GO-aktiivisuus)

Tässä klusteroinnissa (liite 8 A ja B) nähdään, onko muutoksia kontrolliryhmään. Hiirellä vain SOD2 ja SOD2+twinkle -hiirillä näyttäisi olevan jonkin verran muutoksia (vihreä väri) kontrollihiireen verrattuna ja ne klusteroituvat lähekkäin. Twinkle-mutanttihiiren GO-profiili on valtaosaltaan punainen -> ei muutoksia verrattuna kontrolliin.

Rotalla neo_SD-ryhmää lukuun ottamatta kaikkien ryhmien GO-profiilit eroava melkoisesti E18-alkiosta, mikä johtunee ehkä kehityksen muutoksista/tasaantumisesta syntymän jälkeen. Vain 3kk tai sitä vanhemmat rotat klusteroituvat lähekkäin, vaikka d10-rotan profiili on hyvin samankaltainen (liite 8A).

Vaikka twinkle-mutanttihiiren ja vastasyntyneen rotan GO-termien aktiivisuus näyttäisi olevan samankaltaista, ei klusterointimenetelmä klusteroi niitä lähimmäksi toisiaan (liite 8A). Käyttäen Complete-etäisyysmittaa säilyy tulos samankaltaisena (data ei esillä). Tämä johtuu mahdollisesti mutantin twinkle-mutanttihiiren täysin inaktiivisesta GO-profiilista (vähän muutoksia GO-termien aktiivisuudessa), jolloin vähäiset aktiiviset alueet neo_SD-rotan GO-profiilissa saavat aiheuttavat klusteroitumisen d10-rotan kanssa.

5.2.2 Lisääntynyt GO-aktiivisuus

Lisääntynyt GO-aktiivisuus tuottaa jo järkevemmän näköisen klusteroinnin (liite 9A). Tässä klusteroinnissa hiirellä on vähän aktiivisia GO-termejä, eli geenit, joihin GO-termit liittyvät, ovat ekspressioltaan alhaisempia kuin verrokkiryhmällä. Vain SOD2 ja SOD2+twinkle -hiirillä näyttäisi olevan jonkin verran aktiivisempia GO-termejä (vihreä väri) ja ne klusteroituvatkin samaan klusteriin. Mielenkiintoisesti rotan neo_SD klusteroituu hiiriryhmien kanssa, mikä johtunee neo_SD:n ja E18 välisestä vähäisestä eroista ekspressiotasolla sekä hiiriryhmien yleisestä

inaktiivisuudesta verrattuna rottaryhmiin. Muilla rottaryhmillä on melko paljon aktiivisia GO-termejä ja ne klusteroituvatkin lähekkäin

5.2.3 Vähentynyt GO-aktiivisuus

Vähentyneen GO-aktiivisuuden klusterointi (liite 10) on hyvin samankaltainen luvun (5.2.1) yleisen muutoksen klusteroinnin kanssa.

5.3 Lisää johtopäätöksiä

Rotalla vertailu pelkästään E18-ryhmään ei ole tarpeeksi kattava, vaan olisi hyvä tarkastella myös esim. neo_SD:n ja muiden ryhmien välisiä eroja. Hiirellä olivat lukumääräisesti vähän muutoksia ekspressioissa kontrollin ja muiden ryhmien välillä, mikä rajoitti tulosten määrää.

Lähdeluettelo

- Hämäläinen 2012 Hämäläinen, W.: Kingfisher: an efficient algorithm for searching for both positive and negative dependency rules with statistical significance measures. Knowledge and Information Systems: An International Journal (KAIS) 32(2):383-414, 2012

Liite 1. Hiiren GO-termien ja ekspressioarvojen korrelaatioita. Tuloslista Kingfisher ohjelmasta.

MF_molecular_function_GO:0003674 -> BP_biological_process_GO:0008150 fr=184 (0.6013), cf=0.974, gamma=1.536, delta=0.210, M=-1.444e+02
CC_cellular_component_GO:0005575 -> BP_biological_process_GO:0008150 fr=168 (0.5490), cf=0.971, gamma=1.532, delta=0.191, M=-1.137e+02
S_DOWN -> ST_DOWN fr=60 (0.1961), cf=0.984, gamma=3.272, delta=0.136, M=-8.761e+01
S_UP -> ST_UP fr=87 (0.2843), cf=1.000, gamma=2.040, delta=0.145, M=-8.037e+01
MF_oxidoreductase_activity_GO:0016491 -> BP_oxidation-reduction_process_GO:0055114 fr=10 (0.0327), cf=1.000, gamma=30.600, delta=0.032, M=-4.198e+01
BP_RNA_splicing_GO:0008380 -> BP_mRNA_processing_GO:0006397 fr=6 (0.0196), cf=1.000, gamma=38.250, delta=0.019, M=-2.438e+01
BP_cell_division_GO:0051301 -> BP_mitosis_GO:0007067 fr=5 (0.0163), cf=1.000, gamma=61.200, delta=0.016, M=-2.380e+01
BP_proteolysis_GO:0006508 -> MF_peptidase_activity_GO:0008233 fr=6 (0.0196), cf=1.000, gamma=27.818, delta=0.019, M=-2.158e+01

Liite 2. Rotan GO-termien ja ekspressoarvojen korrelaatioita. Tuloslista Kingfisher-ohjelmasta.

Adult_SD_DOWN Old_WS_DOWN -> Adult_WS_DOWN fr=500 (0.1609), cf=0.963, gamma=5.512, delta=0.132, M=-1.141e+03
Adult_WS_DOWN -> Old_WS_DOWN fr=543 (0.1748), cf=1.000, gamma=4.708, delta=0.138, M=-1.131e+03
Adult_WS_UP -> Old_WS_UP fr=874 (0.2813), cf=1.000, gamma=2.460, delta=0.167, M=-1.066e+03
Adult_WS_DOWN -> Adult_SD_DOWN fr=500 (0.1609), cf=0.921, gamma=5.136, delta=0.130, M=-1.039e+03
Adult_SD_DOWN -> Old_WS_DOWN fr=519 (0.1670), cf=0.932, gamma=4.386, delta=0.129, M=-9.249e+02
Adult_WS_UP -> Adult_SD_UP fr=734 (0.2362), cf=0.840, gamma=2.852, delta=0.153, M=-8.731e+02
Adult_SD_UP -> Old_WS_UP fr=838 (0.2697), cf=0.916, gamma=2.253, delta=0.150, M=-7.593e+02
d10_UP -> Adult_SD_UP fr=412 (0.1326), cf=0.795, gamma=2.701, delta=0.084, M=-3.488e+02
d10_DOWN -> Adult_SD_DOWN fr=246 (0.0792), cf=0.741, gamma=4.133, delta=0.060, M=-3.004e+02
d10_DOWN -> Old_WS_DOWN fr=262 (0.0843), cf=0.789, gamma=3.715, delta=0.062, M=-2.976e+02
d10_UP -> Adult_WS_UP fr=375 (0.1207), cf=0.724, gamma=2.574, delta=0.074, M=-2.748e+02
d10_DOWN -> Adult_WS_DOWN fr=233 (0.0750), cf=0.702, gamma=4.016, delta=0.056, M=-2.686e+02
d10_UP -> Old_WS_UP fr=429 (0.1381), cf=0.828, gamma=2.037, delta=0.070, M=-2.371e+02
d10_UP Adult_WS_UP -> neo_SD_UP fr=102 (0.0328), cf=0.272, gamma=6.124, delta=0.027, M=-1.559e+02
d10_UP Adult_SD_UP -> neo_SD_UP fr=105 (0.0338), cf=0.255, gamma=5.738, delta=0.028, M=-1.551e+02
neo_SD_UP -> d10_UP fr=113 (0.0364), cf=0.819, gamma=4.911, delta=0.029, M=-1.543e+02
Adult_SD_UP Adult_WS_UP -> neo_SD_UP fr=111 (0.0357), cf=0.151, gamma=3.405, delta=0.025, M=-1.074e+02
neo_SD_UP -> Adult_SD_UP fr=119 (0.0383), cf=0.862, gamma=2.928, delta=0.025, M=-1.041e+02
neo_SD_UP -> Adult_WS_UP fr=116 (0.0373), cf=0.841, gamma=2.988, delta=0.025, M=-1.012e+02
neo_SD_DOWN -> d10_DOWN fr=58 (0.0187), cf=0.716, gamma=6.701, delta=0.016, M=-9.059e+01
neo_SD_UP -> Old_WS_UP fr=119 (0.0383), cf=0.862, gamma=2.121, delta=0.020, M=-6.670e+01
neo_SD_DOWN -> Adult_SD_DOWN fr=60 (0.0193), cf=0.741, gamma=4.132, delta=0.015, M=-6.548e+01
BP_negative_regulation_of_ubiquitin-protein_ligase_activity_during_mitotic_cell_cycle_GO:0051436 -> BP_anaphase-promoting_complex-dependent_proteasomal_ubiquitin-dependent_protein_catabolic_process_GO:0031145 fr=10 (0.0032), cf=0.833, gamma=215.764, delta=0.003, M=-5.692e+01
neo_SD_DOWN -> Old_WS_DOWN fr=60 (0.0193), cf=0.741, gamma=3.487, delta=0.014, M=-5.562e+01
BP_negative_regulation_of_ubiquitin-protein_ligase_activity_during_mitotic_cell_cycle_GO:0051436 -> BP_positive_regulation_of_ubiquitin-protein_ligase_activity_during_mitotic_cell_cycle_GO:0051437 fr=10 (0.0032), cf=0.833, gamma=199.167, delta=0.003, M=-5.545e+01
neo_SD_DOWN -> Adult_WS_DOWN fr=55 (0.0177), cf=0.679, gamma=3.885, delta=0.013, M=-5.427e+01
MF_acyltransferase_activity_GO:0008415 -> MF_transferase_activity_GO:0016740 fr=20 (0.0064), cf=0.952, gamma=13.699, delta=0.006, M=-5.119e+01
BP_chromatin_assembly_or_disassembly_GO:0006333 -> CC_chromatin_GO:0000785 fr=10 (0.0032), cf=1.000, gamma=119.500, delta=0.003, M=-4.981e+01
MF_hormone_activity_GO:0005179 -> CC_extracellular_region_GO:0005576 fr=21 (0.0068), cf=0.955, gamma=10.592, delta=0.006, M=-4.823e+01
MF_Rho_guanyl-nucleotide_exchange_factor_activity_GO:0005089 -> BP_regulation_of_Rho_protein_signal_transduction_GO:0035023 fr=7 (0.0023), cf=0.875, gamma=339.828, delta=0.002, M=-4.360e+01
MF_Rab_GTPase_activator_activity_GO:0005097 -> BP_regulation_of_Rab_GTPase_activity_GO:0032313 fr=6 (0.0019), cf=1.000, gamma=517.833, delta=0.002, M=-4.166e+01
BP_chromatin_assembly_or_disassembly_GO:0006333 -> MF_chromatin_binding_GO:0003682 fr=9 (0.0029), cf=0.900, gamma=71.700, delta=0.003, M=-3.809e+01
BP_DNA_replication_GO:0006260 -> Old_WS_DOWN fr=35 (0.0113), cf=0.814, gamma=3.832, delta=0.008, M=-3.792e+01
Adult_SD_DOWN Adult_WS_DOWN -> CC_nucleoplasm_GO:0005654 fr=52 (0.0167), cf=0.104, gamma=3.199, delta=0.012, M=-3.755e+01
CC_nucleoplasm_GO:0005654 -> Adult_WS_DOWN fr=54 (0.0174), cf=0.535, gamma=3.059, delta=0.012, M=-3.732e+01
CC_nucleoplasm_GO:0005654 -> Old_WS_DOWN fr=59 (0.0190), cf=0.584, gamma=2.750, delta=0.012, M=-3.657e+01
MF_unfolded_protein_binding_GO:0051082 -> BP_protein_folding_GO:0006457 fr=8 (0.0026), cf=0.727, gamma=107.602, delta=0.003, M=-3.640e+01
CC_nucleoplasm_GO:0005654 -> Adult_SD_DOWN fr=54 (0.0174), cf=0.535, gamma=2.982, delta=0.012, M=-3.612e+01
BP_DNA_replication_GO:0006260 -> Adult_WS_DOWN fr=32 (0.0103), cf=0.744, gamma=4.258, delta=0.008, M=-3.605e+01
MF_small_conjugating_protein_ligase_activity_GO:0019787 -> BP_regulation_of_protein_metabolic_process_GO:0051246 fr=5 (0.0016), cf=1.000, gamma=621.400, delta=0.002, M=-3.542e+01
MF_small_conjugating_protein_ligase_activity_GO:0019787 -> BP_post-translational_protein_modification_GO:0043687 fr=5 (0.0016), cf=1.000, gamma=621.400, delta=0.002, M=-3.542e+01
BP_positive_regulation_of_tumor_necrosis_factor_production_GO:0032760 -> BP_positive_regulation_of_interleukin-6_production_GO:0032755 fr=6 (0.0019), cf=0.857, gamma=242.104, delta=0.002, M=-3.358e+01
MF_methyltransferase_activity_GO:0008168 -> MF_transferase_activity_GO:0016740 fr=16 (0.0051), cf=0.762, gamma=10.959, delta=0.005, M=-3.358e+01
MF_extracellular_matrix_binding_GO:0050840 -> BP_positive_regulation_of_cell-substrate_adhesion_GO:0010811 fr=6 (0.0019), cf=0.750, gamma=233.025, delta=0.002, M=-3.299e+01
Old_WS_DOWN -> CC_nucleus_GO:0005634 fr=221 (0.0711), cf=0.335, gamma=1.525, delta=0.025, M=-3.292e+01
BP_DNA_replication_GO:0006260 -> Adult_SD_DOWN fr=31 (0.0100), cf=0.721, gamma=4.021, delta=0.007, M=-3.271e+01
MF_extracellular_matrix_binding_GO:0050840 -> BP_extracellular_matrix_organization_GO:0030198 fr=7 (0.0023), cf=0.875, gamma=100.690, delta=0.002, M=-3.199e+01
BP_cell_cycle_GO:0007049 BP_cell_division_GO:0051301 -> Adult_SD_DOWN fr=28 (0.0090), cf=0.757, gamma=4.221, delta=0.007, M=-3.169e+01
Adult_SD_DOWN Adult_WS_DOWN -> BP_cell_division_GO:0051301 fr=28 (0.0090), cf=0.056, gamma=4.350, delta=0.007, M=-3.128e+01
BP_cell_division_GO:0051301 -> Adult_SD_DOWN fr=29 (0.0093), cf=0.725, gamma=4.044, delta=0.007, M=-3.089e+01
MF_ubiquitin_thiolesterase_activity_GO:0004221 -> BP_ubiquitin-dependent_protein_catabolic_process_GO:0006511 fr=6 (0.0019), cf=1.000, gamma=147.952, delta=0.002, M=-3.076e+01
MF_protein_tyrosine/serine/threonine_phosphatase_activity_GO:0008138 -> BP_protein_amino_acid_dephosphorylation_GO:0006470 fr=6 (0.0019), cf=1.000, gamma=147.952, delta=0.002, M=-3.076e+01
BP_visual_perception_GO:0007601 -> BP_response_to_stimulus_GO:0050896 fr=7 (0.0023), cf=0.467, gamma=96.662, delta=0.002, M=-3.024e+01
BP_negative_regulation_of_ubiquitin-protein_ligase_activity_during_mitotic_cell_cycle_GO:0051436 -> CC_cytosol_GO:0005829 fr=12 (0.0039), cf=1.000, gamma=11.859, delta=0.004, M=-2.991e+01
MF_amino_acid_transmembrane_transporter_activity_GO:0015171 -> BP_amino_acid_transport_GO:0006865 fr=5 (0.0016), cf=1.000, gamma=310.700, delta=0.002, M=-2.989e+01
MF_Rho_guanyl-nucleotide_exchange_factor_activity_GO:0005089 -> MF_guanyl-nucleotide_exchange_factor_activity_GO:0005085 fr=6 (0.0019), cf=0.750, gamma=155.350, delta=0.002, M=-2.982e+01
BP_cell_cycle_GO:0007049 BP_cell_division_GO:0051301 -> Adult_WS_DOWN fr=27 (0.0087), cf=0.730, gamma=4.175, delta=0.007, M=-2.973e+01
BP_cell_cycle_GO:0007049 BP_cell_division_GO:0051301 -> Old_WS_DOWN fr=29 (0.0093), cf=0.784, gamma=3.690, delta=0.007, M=-2.972e+01
Adult_SD_DOWN Adult_WS_DOWN -> CC_chromosome_centromeric_region_GO:0000775 fr=16 (0.0051), cf=0.032, gamma=6.214, delta=0.004, M=-2.943e+01
BP_cell_division_GO:0051301 -> Adult_WS_DOWN fr=28 (0.0090), cf=0.700, gamma=4.005, delta=0.007, M=-2.910e+01
Adult_SD_DOWN Old_WS_DOWN -> CC_chromosome_centromeric_region_GO:0000775 fr=16 (0.0051), cf=0.031, gamma=5.987, delta=0.004, M=-2.883e+01
BP_cell_division_GO:0051301 -> Old_WS_DOWN fr=30 (0.0097), cf=0.750, gamma=3.531, delta=0.007, M=-2.865e+01
Adult_SD_DOWN Adult_WS_DOWN -> BP_cell_cycle_GO:0007049 fr=38 (0.0122), cf=0.076, gamma=3.280, delta=0.009, M=-2.862e+01
BP_cell_cycle_GO:0007049 -> Adult_SD_DOWN fr=40 (0.0129), cf=0.556, gamma=3.099, delta=0.009, M=-2.860e+01
CC_interstitial_matrix_GO:0005614 -> CC_extracellular_matrix_GO:0031012 fr=6 (0.0019), cf=1.000, gamma=107.138, delta=0.002, M=-2.859e+01
CC_endoplasmic_reticulum_lumen_GO:0005788 -> CC_endoplasmic_reticulum_GO:0005783 fr=12 (0.0039), cf=0.750, gamma=14.209, delta=0.004, M=-2.837e+01
CC_chromosome_centromeric_region_GO:0000775 -> Adult_WS_DOWN fr=16 (0.0051), cf=1.000, gamma=5.722, delta=0.004, M=-2.809e+01
Adult_WS_DOWN -> CC_nucleus_GO:0005634 fr=184 (0.0592), cf=0.339, gamma=1.544, delta=0.021, M=-2.779e+01
BP_negative_regulation_of_cell_growth_GO:0030308 -> BP_negative_regulation_of_cell_proliferation_GO:0008285 fr=9 (0.0029), cf=0.529, gamma=32.253, delta=0.003, M=-2.772e+01
CC_chromosome_centromeric_region_GO:0000775 -> Adult_SD_DOWN fr=16 (0.0051), cf=1.000, gamma=5.578, delta=0.004, M=-2.768e+01
CC_extracellular_region_GO:0005576 -> Old_WS_UP fr=170 (0.0547), cf=0.607, gamma=1.494, delta=0.018, M=-2.759e+01
MF_cation_transmembrane_transporter_activity_GO:0008324 -> BP_cation_transport_GO:0006812 fr=5 (0.0016), cf=1.000, gamma=207.133, delta=0.002, M=-2.741e+01
Adult_SD_DOWN -> CC_nucleus_GO:0005634 fr=187 (0.0602), cf=0.336, gamma=1.529, delta=0.021, M=-2.729e+01
MF_protein_binding_GO:0005515 BP_cell_cycle_GO:0007049 -> Old_WS_DOWN fr=34 (0.0109), cf=0.667, gamma=3.138, delta=0.007, M=-2.678e+01
Adult_SD_DOWN Adult_WS_DOWN -> BP_mitosis_GO:0007067 fr=25 (0.0080), cf=0.050, gamma=4.199, delta=0.006, M=-2.677e+01
CC_platelet_alpha_granule_lumen_GO:0031093 -> CC_extracellular_region_GO:0005576 fr=11 (0.0035), cf=1.000, gamma=11.096, delta=0.003, M=-2.665e+01
BP_mitosis_GO:0007067 -> Adult_SD_DOWN fr=26 (0.0084), cf=0.703, gamma=3.920, delta=0.006, M=-2.661e+01

MF_protein_binding_GO:0005515 BP_cell_cycle_GO:0007049 -> Adult_WS_DOWN fr=31 (0.0100), cf=0.608, gamma=3.478, delta=0.007, M=-2.633e+01
BP_positive_regulation_of_nitric_oxide_biosynthetic_process_GO:0045429 -> BP_positive_regulation_of_protein_amino_acid_phosphorylation_GO:0001934 fr=6 (0.0019), cf=0.462, gamma=102.429, delta=0.002, M=-2.622e+01
BP_immune_response_GO:0006955 -> Adult_SD_UP fr=60 (0.0193), cf=0.632, gamma=2.145, delta=0.010, M=-2.605e+01
BP_cell_cycle_GO:0007049 -> Adult_WS_DOWN fr=38 (0.0122), cf=0.528, gamma=3.020, delta=0.008, M=-2.591e+01
CC_heterotrimeric_G-protein_complex_GO:0005834 -> MF_signal_transducer_activity_GO:0004871 fr=8 (0.0026), cf=0.889, gamma=26.556, delta=0.002, M=-2.527e+01
CC_lyosomal_membrane_GO:0005765 -> CC_lyosome_GO:0005764 fr=6 (0.0019), cf=0.857, gamma=73.976, delta=0.002, M=-2.524e+01
MF_iron-sulfur_cluster_binding_GO:0051536 -> MF_iron_ion_binding_GO:0005506 fr=7 (0.0023), cf=0.875, gamma=41.191, delta=0.002, M=-2.522e+01
CC_membrane_GO:0016020 -> Old_WS_UP fr=426 (0.1371), cf=0.504, gamma=1.239, delta=0.026, M=-2.503e+01
CC_chromosome_centromeric_region_GO:0000775 -> Old_WS_DOWN fr=16 (0.0051), cf=1.000, gamma=4.708, delta=0.004, M=-2.493e+01
BP_mitosis_GO:0007067 -> Adult_WS_DOWN fr=25 (0.0080), cf=0.676, gamma=3.866, delta=0.006, M=-2.485e+01
BP_mitosis_GO:0007067 -> Old_WS_DOWN fr=27 (0.0087), cf=0.730, gamma=3.435, delta=0.006, M=-2.479e+01
BP_cell_cycle_GO:0007049 -> Old_WS_DOWN fr=41 (0.0132), cf=0.569, gamma=2.681, delta=0.008, M=-2.449e+01
BP_cytoskeleton_organization_GO:0007010 -> MF_actin_binding_GO:0003779 fr=8 (0.0026), cf=0.571, gamma=30.611, delta=0.002, M=-2.442e+01
BP_regulation_of_long-term_neuronal_synaptic_plasticity_GO:0048169 -> BP_negative_regulation_of_neuron_apoptosis_GO:0043524 fr=5 (0.0016), cf=0.833, gamma=136.272, delta=0.002, M=-2.427e+01
BP_fibroblast_growth_factor_receptor_signaling_pathway_GO:0008543 -> MF_growth_factor_activity_GO:0008083 fr=5 (0.0016), cf=1.000, gamma=115.074, delta=0.002, M=-2.412e+01
BP_immune_response_GO:0006955 -> Old_WS_UP fr=70 (0.0225), cf=0.737, gamma=1.813, delta=0.010, M=-2.409e+01
BP_defense_response_to_Gram-negative_bacterium_GO:0050829 -> BP_defense_response_to_bacterium_GO:0042742 fr=5 (0.0016), cf=0.833, gamma=129.458, delta=0.002, M=-2.398e+01
MF_peptidyl-prolyl_cis-trans_isomerase_activity_GO:0003755 -> BP_protein_folding_GO:0006457 fr=5 (0.0016), cf=0.833, gamma=123.294, delta=0.002, M=-2.371e+01
MF_hydrolase_activity_acting_on_ester_bonds_GO:0016788 -> MF_hydrolase_activity_GO:0016787 fr=10 (0.0032), cf=0.909, gamma=11.529, delta=0.003, M=-2.325e+01
BP_response_to_cAMP_GO:0051591 -> BP_response_to_glucocorticoid_stimulus_GO:0051384 fr=8 (0.0026), cf=0.381, gamma=28.869, delta=0.002, M=-2.324e+01
MF_cysteine-type_endopeptidase_inhibitor_activity_GO:0004869 -> MF_peptidase_inhibitor_activity_GO:0030414 fr=5 (0.0016), cf=0.556, gamma=123.294, delta=0.002, M=-2.299e+01
MF_protein_tyrosine/serine/threonine_phosphatase_activity_GO:0008138 -> MF_phosphatase_activity_GO:0016791 fr=5 (0.0016), cf=0.833, gamma=107.882, delta=0.002, M=-2.297e+01
MF_nucleotidyltransferase_activity_GO:0016779 -> MF_transferase_activity_GO:0016740 fr=10 (0.0032), cf=0.833, gamma=11.987, delta=0.003, M=-2.279e+01
MF_nucleotide_binding_GO:0000166 -> d10_DOWN fr=93 (0.0299), cf=0.272, gamma=1.845, delta=0.014, M=-2.274e+01
BP_cell_cycle_arrest_GO:0007050 -> BP_negative_regulation_of_cell_proliferation_GO:0008285 fr=7 (0.0023), cf=0.583, gamma=35.538, delta=0.002, M=-2.258e+01
CC_midbody_GO:0030496 -> CC_spindle_GO:0005819 fr=5 (0.0016), cf=0.714, gamma=105.680, delta=0.002, M=-2.246e+01
CC_interstitial_matrix_GO:0005614 -> BP_extracellular_matrix_organization_GO:0030198 fr=5 (0.0016), cf=0.833, gamma=95.895, delta=0.002, M=-2.233e+01
MF_hydrolase_activity_hydrolyzing_O-glycosyl_compounds_GO:0004553 -> BP_carbohydrate_metabolic_process_GO:0005975 fr=5 (0.0016), cf=1.000, gamma=81.763, delta=0.002, M=-2.229e+01
CC_membrane_GO:0016020 -> Adult_SD_UP fr=321 (0.1033), cf=0.379, gamma=1.288, delta=0.023, M=-2.213e+01
BP_double-strand_break_repair_GO:0006302 -> BP_response_to_DNA_damage_stimulus_GO:0006974 fr=6 (0.0019), cf=0.667, gamma=51.783, delta=0.002, M=-2.210e+01
Adult_SD_DOWN Adult_WS_DOWN -> CC_centrosome_GO:0005813 fr=24 (0.0077), cf=0.048, gamma=3.728, delta=0.006, M=-2.202e+01
CC_heterotrimeric_G-protein_complex_GO:0005834 -> BP_G-protein_coupled_receptor_protein_signaling_pathway_GO:0007186 fr=7 (0.0023), cf=0.778, gamma=28.099, delta=0.002, M=-2.181e+01
CC_centrosome_GO:0005813 -> Adult_SD_DOWN fr=25 (0.0080), cf=0.625, gamma=3.486, delta=0.006, M=-2.173e+01
CC_receptor_complex_GO:0043235 -> MF_receptor_activity_GO:0004872 fr=8 (0.0026), cf=1.000, gamma=14.795, delta=0.002, M=-2.168e+01
BP_response_to_cAMP_GO:0051591 -> BP_response_to_peptide_hormone_stimulus_GO:0043434 fr=7 (0.0023), cf=0.333, gamma=33.409, delta=0.002, M=-2.141e+01
MF_unfolded_protein_binding_GO:0051082 -> MF_heat_shock_protein_binding_GO:0031072 fr=5 (0.0016), cf=0.455, gamma=94.152, delta=0.002, M=-2.129e+01
BP_DNA_recombination_GO:0006310 -> BP_DNA_repair_GO:0006281 fr=5 (0.0016), cf=0.833, gamma=69.977, delta=0.002, M=-2.065e+01
BP_regulation_of_immune_response_GO:0050776 -> CC_external_side_of_plasma_membrane_GO:0009897 fr=6 (0.0019), cf=0.750, gamma=38.838, delta=0.002, M=-2.063e+01
BP_positive_regulation_of_insulin_secretion_GO:0032024 -> BP_response_to_glucose_stimulus_GO:0009749 fr=5 (0.0016), cf=0.455, gamma=83.075, delta=0.002, M=-2.057e+01
MF_carboxylesterase_activity_GO:0004091 -> MF_hydrolase_activity_GO:0016787 fr=8 (0.0026), cf=1.000, gamma=12.682, delta=0.002, M=-2.043e+01
Adult_SD_DOWN Adult_WS_DOWN -> CC_spindle_GO:0005819 fr=16 (0.0051), cf=0.032, gamma=4.734, delta=0.004, M=-2.031e+01
BP_embryonic_development_GO:0009790 -> BP_lung_development_GO:0030324 fr=6 (0.0019), cf=0.300, gamma=44.386, delta=0.002, M=-2.026e+01
CC_centrosome_GO:0005813 -> Adult_WS_DOWN fr=24 (0.0077), cf=0.600, gamma=3.433, delta=0.005, M=-2.024e+01
BP_double-strand_break_repair_via_homologous_recombination_GO:0000724 -> BP_response_to_DNA_damage_stimulus_GO:0006974 fr=5 (0.0016), cf=0.833, gamma=64.729, delta=0.002, M=-2.024e+01
BP_cell_development_GO:0048468 -> BP_positive_regulation_of_transcription_from_RNA_polymerase_II_promoter_GO:0045944 fr=6 (0.0019), cf=0.750, gamma=36.410, delta=0.002, M=-2.023e+01
CC_chromosome_GO:0005694 -> Old_WS_DOWN fr=20 (0.0064), cf=0.769, gamma=3.621, delta=0.005, M=-2.018e+01
MF_protein_binding_GO:0005515 BP_DNA_repair_GO:0006281 -> Old_WS_DOWN fr=20 (0.0064), cf=0.769, gamma=3.621, delta=0.005, M=-2.018e+01
MF_nucleotide_binding_GO:0000166 MF_DNA_binding_GO:0003677 -> Adult_SD_DOWN fr=17 (0.0055), cf=0.773, gamma=4.310, delta=0.004, M=-2.015e+01
MF_metal_ion_binding_GO:0046872 MF_oxidoreductase_activity_GO:0016491 -> Old_WS_UP fr=41 (0.0132), cf=0.820, gamma=2.017, delta=0.007, M=-2.009e+01
MF_metal_ion_binding_GO:0046872 BP_oxidation_reduction_GO:0055114 -> Old_WS_UP fr=41 (0.0132), cf=0.820, gamma=2.017, delta=0.007, M=-2.009e+01

Liite 3. Rotan E18-ryhmän ja neo_SD-ryhmän ekspressioerojen ja GO-termien väliset korrelaatiot.

neo_SD	fr	p-value	cf	gamma	delta	M
MF_transferase_activity GO:0016740 CC_mitochondrial_inner_membrane GO:0005743 -> neo_SD_UP	5	0.0016	0.500	11.257	0.001	-1.029e+01
neo_SD_DOWN -> Adult_WS_DOWN	55	0.0177	0.679	3.885	0.013	-5.427e+01
neo_SD_DOWN -> d10_DOWN	58	0.0187	0.716	6.701	0.016	-9.059e+01
neo_SD_DOWN -> Adult_SD_DOWN	60	0.0193	0.741	4.132	0.015	-6.548e+01
neo_SD_DOWN -> Old_WS_DOWN	60	0.0193	0.741	3.487	0.014	-5.562e+01
d10_UP Adult_WS_UP -> neo_SD_UP	102	0.0328	0.272	6.124	0.027	-1.559e+02
d10_UP Adult_SD_UP -> neo_SD_UP	105	0.0338	0.255	5.738	0.028	-1.551e+02
Adult_SD_UP Adult_WS_UP -> neo_SD_UP	111	0.0357	0.151	3.405	0.025	-1.074e+02
neo_SD_UP -> d10_UP	113	0.0364	0.819	4.911	0.029	-1.543e+02
neo_SD_UP -> Adult_WS_UP	116	0.0373	0.841	2.988	0.025	-1.012e+02
neo_SD_UP -> Adult_SD_UP	119	0.0383	0.862	2.928	0.025	-1.041e+02
neo_SD_UP -> Old_WS_UP	119	0.0383	0.862	2.121	0.020	-6.670e+01

Liite 4. Poimintoja rotan E18-ryhmän ja d10-ryhmän ekspressoerojen ja GO-termien välisistä korrelaatioista

d10	fr	p-value	cf	gamma	delta	M
MF_nucleic_acid_binding_GO:0003676 BP_regulation_of_transcription_GO:0045449 BP_transcription_GO:0006350 -> d10_DOWN	13	0.0042	0.722	4.899	0.003	-1.670e+01
MF_nucleic_acid_binding_GO:0003676 BP_regulation_of_transcription_GO:0045449 -> d10_DOWN	13	0.0042	0.684	4.642	0.003	-1.569e+01
MF_transferase_activity_GO:0016740 CC_cytosol_GO:0005829 BP_protein_amino_acid_phosphorylation_GO:0006468 -> d10_DOWN	13	0.0042	0.565	3.834	0.003	-1.252e+01
CC_cytosol_GO:0005829 BP_protein_amino_acid_phosphorylation_GO:0006468 -> d10_DOWN	14	0.0045	0.467	3.166	0.003	-1.047e+01
CC_centrosome_GO:0005813 -> d10_DOWN	15	0.0048	0.375	3.509	0.003	-1.193e+01
CC_plasma_membrane_GO:0005886 CC_intracellular_GO:0005622 -> d10_DOWN	15	0.0048	0.455	3.084	0.003	-1.074e+01
BP_in_uterio_embryonic_development_GO:0001701 -> d10_DOWN	16	0.0051	0.457	3.101	0.003	-1.147e+01
MF_protein_binding_GO:0005515 BP_cell_cycle_GO:0007049 -> d10_DOWN	16	0.0051	0.314	2.936	0.003	-1.004e+01
Adult_SD_DOWN -> d10_DOWN	20	0.0064	0.417	3.899	0.005	-1.764e+01
MF_transferase_activity_GO:0016740 MF_protein_serine/threonine_kinase_activity_GO:0004674 -> d10_DOWN	22	0.0071	0.386	2.618	0.004	-1.185e+01
CC_cytosol_GO:0005829 MF_ATP_binding_GO:0005524 -> d10_DOWN	24	0.0077	0.444	3.015	0.005	-1.595e+01
Adult_WS_DOWN -> d10_DOWN	25	0.0080	0.284	2.659	0.005	-1.295e+01
MF_kinase_activity_GO:0016301 MF_protein_serine/threonine_kinase_activity_GO:0004674 -> d10_DOWN	26	0.0084	0.382	2.594	0.005	-1.357e+01
MF_protein_kinase_activity_GO:0004672 MF_protein_serine/threonine_kinase_activity_GO:0004674 -> d10_DOWN	26	0.0084	0.361	2.450	0.005	-1.231e+01
CC_nucleoplasm_GO:0005654 -> d10_DOWN	26	0.0084	0.257	2.409	0.005	-1.142e+01
MF_transferase_activity_GO:0016740 BP_protein_amino_acid_phosphorylation_GO:0006468 -> d10_DOWN	26	0.0084	0.342	2.321	0.005	-1.118e+01
MF_protein_serine/threonine_kinase_activity_GO:0004674 -> d10_DOWN	29	0.0093	0.330	2.236	0.005	-1.149e+01
MF_protein_kinase_activity_GO:0004672 MF_kinase_activity_GO:0016301 -> d10_DOWN	31	0.0100	0.356	2.417	0.006	-1.412e+01
MF_ATP_binding_GO:0005524 CC_nucleus_GO:0005634 -> d10_DOWN	31	0.0100	0.352	2.390	0.006	-1.383e+01

Liite 5. Poimintoja rotan E18-ryhmän ja Adult_SD-ryhmän ekspressoerojen ja GO-termien välisistä korrelaatioista

	Adult_SD	fr	p-value	cf	gamma	delta	M
Adult_SD_DOWN Adult_WS_DOWN -> BP_nucleotide-excision_repair_DNA_gap_filling_GO:0006297		10	0.0032	0.020	5.178	0.003	-1.446e+01
BP_nucleotide-excision_repair_DNA_gap_filling_GO:0006297 -> Adult_SD_DOWN		10	0.0032	0.833	4.648	0.003	-1.342e+01
CC_mitochondrion_GO:0005739 MF_electron_carrier_activity_GO:0009055 -> Adult_SD_UP		10	0.0032	0.909	3.087	0.002	-1.017e+01
CC_condensed_chromosome_kinetochore_GO:0000777 -> Adult_SD_DOWN		11	0.0035	0.917	5.113	0.003	-1.668e+01
Adult_SD_UP Adult_WS_UP -> MF_signal_transducer_activity_GO:0004871		11	0.0035	0.143	4.268	0.003	-1.021e+01
Adult_SD_DOWN Adult_WS_DOWN -> MF_microtubule_motor_activity_GO:0003777		13	0.0042	0.026	4.752	0.003	-1.674e+01
Adult_SD_DOWN Old_WS_DOWN -> MF_microtubule_motor_activity_GO:0003777		13	0.0042	0.025	4.578	0.003	-1.627e+01
MF_microtubule_motor_activity_GO:0003777 -> Adult_SD_DOWN		13	0.0042	0.765	4.266	0.003	-1.540e+01
MF_ATP_binding_GO:0005524 BP_microtubule-based_movement_GO:0007018 -> Adult_SD_DOWN		13	0.0042	0.765	4.266	0.003	-1.540e+01
MF_chemokine_activity_GO:0008009 -> Adult_SD_UP		13	0.0042	0.812	2.759	0.003	-1.057e+01
CC_plasma_membrane_GO:0005886 MF_transmembrane_receptor_activity_GO:0004888 -> Adult_SD_UP		14	0.0045	0.778	2.641	0.003	-1.042e+01
Adult_SD_DOWN Adult_WS_DOWN -> BP_microtubule-based_movement_GO:0007018		15	0.0048	0.030	4.053	0.004	-1.575e+01
Adult_SD_DOWN Old_WS_DOWN -> BP_microtubule-based_movement_GO:0007018		15	0.0048	0.029	3.904	0.004	-1.523e+01
BP_microtubule-based_movement_GO:0007018 -> Adult_SD_DOWN		15	0.0048	0.652	3.638	0.004	-1.427e+01
CC_chromosome_GO:0005694 -> Adult_SD_DOWN		15	0.0048	0.577	3.218	0.003	-1.205e+01
Adult_SD_DOWN Adult_WS_DOWN -> CC_chromosome_centromeric_region_GO:0000775		16	0.0051	0.032	6.214	0.004	-2.943e+01
Adult_SD_DOWN Old_WS_DOWN -> CC_chromosome_centromeric_region_GO:0000775		16	0.0051	0.031	5.987	0.004	-2.883e+01
CC_chromosome_centromeric_region_GO:0000775 -> Adult_SD_DOWN		16	0.0051	1.000	5.578	0.004	-2.768e+01
Adult_SD_DOWN Adult_WS_DOWN -> CC_spindle_GO:0005819		16	0.0051	0.032	4.734	0.004	-2.031e+01
Adult_SD_DOWN Old_WS_DOWN -> CC_spindle_GO:0005819		16	0.0051	0.031	4.561	0.004	-1.974e+01
CC_spindle_GO:0005819 -> Adult_SD_DOWN		16	0.0051	0.762	4.250	0.004	-1.866e+01
MF_protein_binding_GO:0005515 BP_DNA_repair_GO:0006281 -> Adult_SD_DOWN		16	0.0051	0.615	3.433	0.004	-1.399e+01
CC_mitochondrion_GO:0005739 BP_lipid_metabolic_process_GO:0006629 -> Adult_SD_UP		16	0.0051	0.727	2.470	0.003	-1.034e+01
MF_nucleotide_binding_GO:0000166 MF_DNA_binding_GO:0003677 -> Adult_SD_DOWN		17	0.0055	0.773	4.310	0.004	-2.015e+01
MF_FAD_binding_GO:0050660 -> Adult_SD_UP		18	0.0058	0.750	2.547	0.004	-1.224e+01
BP_DNA_repair_GO:0006281 -> Adult_SD_DOWN		18	0.0058	0.486	2.714	0.004	-1.100e+01
Adult_SD_DOWN Adult_WS_DOWN -> CC_microtubule_GO:0005874		19	0.0061	0.038	2.811	0.004	-1.185e+01
BP_response_to_DNA_damage_stimulus_GO:0006974 -> Adult_SD_DOWN		19	0.0061	0.475	2.650	0.004	-1.110e+01
Adult_SD_DOWN -> d10_DOWN		20	0.0064	0.417	3.899	0.005	-1.764e+01
CC_microtubule_GO:0005874 -> Adult_SD_DOWN		20	0.0064	0.476	2.656	0.004	-1.167e+01
Adult_SD_UP Old_WS_UP -> MF_cytokine_activity_GO:0005125		21	0.0068	0.025	2.359	0.004	-1.150e+01
MF_cytokine_activity_GO:0005125 -> Adult_SD_UP		21	0.0068	0.636	2.161	0.004	-1.002e+01
MF_ATP_binding_GO:0005524 MF_DNA_binding_GO:0003677 -> Adult_SD_DOWN		22	0.0071	0.611	3.409	0.005	-1.864e+01
Adult_SD_DOWN Adult_WS_DOWN -> CC_centrosome_GO:0005813		24	0.0077	0.048	3.728	0.006	-2.202e+01
Adult_SD_DOWN Adult_WS_DOWN -> BP_mitosis_GO:0007067		25	0.0080	0.050	4.199	0.006	-2.677e+01
CC_centrosome_GO:0005813 -> Adult_SD_DOWN		25	0.0080	0.625	3.486	0.006	-2.173e+01
BP_mitosis_GO:0007067 -> Adult_SD_DOWN		26	0.0084	0.703	3.920	0.006	-2.661e+01
Adult_SD_DOWN MF_protein_binding_GO:0005515 -> Adult_WS_DOWN		26	0.0084	0.093	3.267	0.006	-1.771e+01
BP_cell_cycle_GO:0007049 BP_cell_division_GO:0051301 -> Adult_SD_DOWN		28	0.0090	0.757	4.221	0.007	-3.169e+01
Adult_SD_DOWN Adult_WS_DOWN -> BP_cell_division_GO:0051301		28	0.0090	0.056	4.350	0.007	-3.128e+01
MF_electron_carrier_activity_GO:0009055 -> Adult_SD_UP		28	0.0090	0.571	1.940	0.004	-1.005e+01
BP_cell_division_GO:0051301 -> Adult_SD_DOWN		29	0.0093	0.725	4.044	0.007	-3.089e+01

Liite 6. Poimintoja rotan E18-ryhmän ja Adult_WS-ryhmän ekspressioerojen ja GO-termien välisistä korrelaatioista

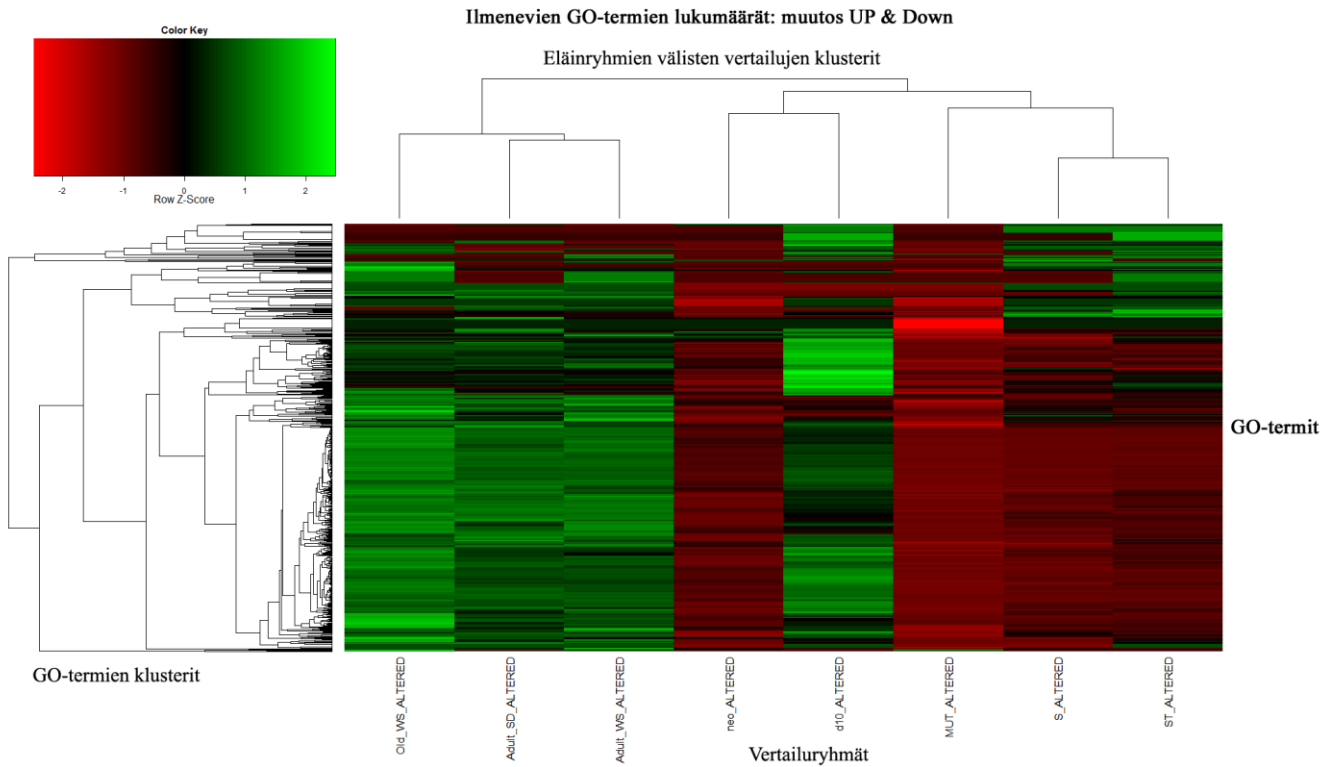
Adult_WS	fr	p-value	cf	gamma	delta	M
Adult_SD_DOWN Adult_WS_DOWN -> BP_nucleotide-excision_repair_DNA_gap_filling_GO:0006297	10	0.0032	0.020	5.178	0.003	-1.446e+01
BP_nucleotide-excision_repair_DNA_gap_filling_GO:0006297 -> Adult_WS_DOWN	10	0.0032	0.833	4.768	0.003	-1.366e+01
CC_condensed_chromosome_kinetochore_GO:0000777 -> Adult_WS_DOWN	10	0.0032	0.833	4.768	0.003	-1.366e+01
Adult_SD_UP Adult_WS_UP -> MF_signal_transducer_activity_GO:0004871	11	0.0035	0.143	4.268	0.003	-1.021e+01
Adult_SD_DOWN Adult_WS_DOWN -> MF_microtubule_motor_activity_GO:0003777	13	0.0042	0.026	4.752	0.003	-1.674e+01
MF_microtubule_motor_activity_GO:0003777 -> Adult_WS_DOWN	13	0.0042	0.765	4.376	0.003	-1.571e+01
MF_ATP_binding_GO:0005524 BP_microtubule-based_movement_GO:0007018 -> Adult_WS_DOWN	13	0.0042	0.765	4.376	0.003	-1.571e+01
MF_chemokine_activity_GO:0008009 -> Adult_WS_UP	13	0.0042	0.812	2.888	0.003	-1.112e+01
Adult_SD_DOWN Adult_WS_DOWN -> BP_microtubule-based_movement_GO:0007018	15	0.0048	0.030	4.053	0.004	-1.575e+01
BP_microtubule-based_movement_GO:0007018 -> Adult_WS_DOWN	15	0.0048	0.652	3.732	0.004	-1.462e+01
Adult_SD_DOWN Adult_WS_DOWN -> CC_chromosome_centromeric_region_GO:0000775	16	0.0051	0.032	6.214	0.004	-2.943e+01
CC_chromosome_centromeric_region_GO:0000775 -> Adult_WS_DOWN	16	0.0051	1.000	5.722	0.004	-2.809e+01
Adult_SD_DOWN Adult_WS_DOWN -> CC_spindle_GO:0005819	16	0.0051	0.032	4.734	0.004	-2.031e+01
CC_spindle_GO:0005819 -> Adult_WS_DOWN	16	0.0051	0.762	4.360	0.004	-1.905e+01
MF_nucleotide_binding_GO:0000166 MF_DNA_binding_GO:0003677 -> Adult_WS_DOWN	16	0.0051	0.727	4.161	0.004	-1.792e+01
CC_chromosome_GO:0005694 -> Adult_WS_DOWN	17	0.0055	0.654	3.741	0.004	-1.648e+01
MF_protein_binding_GO:0005515 BP_DNA_repair_GO:0006281 -> Adult_WS_DOWN	17	0.0055	0.654	3.741	0.004	-1.648e+01
BP_DNA_repair_GO:0006281 -> Adult_WS_DOWN	19	0.0061	0.514	2.938	0.004	-1.297e+01
Adult_SD_DOWN Adult_WS_DOWN -> CC_microtubule_GO:0005874	19	0.0061	0.038	2.811	0.004	-1.185e+01
CC_microtubule_GO:0005874 -> Adult_WS_DOWN	19	0.0061	0.452	2.588	0.004	-1.061e+01
BP_response_to_DNA_damage_stimulus_GO:0006974 -> Adult_WS_DOWN	20	0.0064	0.500	2.861	0.004	-1.304e+01
MF_ATP_binding_GO:0005524 MF_DNA_binding_GO:0003677 -> Adult_WS_DOWN	21	0.0068	0.583	3.338	0.005	-1.715e+01
Adult_SD_DOWN Adult_WS_DOWN -> CC_centrosome_GO:0005813	24	0.0077	0.048	3.728	0.006	-2.202e+01
CC_centrosome_GO:0005813 -> Adult_WS_DOWN	24	0.0077	0.600	3.433	0.005	-2.024e+01
Adult_SD_DOWN Adult_WS_DOWN -> BP_mitosis_GO:0007067	25	0.0080	0.050	4.199	0.006	-2.677e+01
BP_mitosis_GO:0007067 -> Adult_WS_DOWN	25	0.0080	0.676	3.866	0.006	-2.485e+01
Adult_WS_DOWN -> d10_DOWN	25	0.0080	0.284	2.659	0.005	-1.295e+01
Adult_SD_DOWN MF_protein_binding_GO:0005515 -> Adult_WS_DOWN	26	0.0084	0.093	3.267	0.006	-1.771e+01
BP_cell_cycle_GO:0007049 BP_cell_division_GO:0051301 -> Adult_WS_DOWN	27	0.0087	0.730	4.175	0.007	-2.973e+01
Adult_SD_DOWN Adult_WS_DOWN -> BP_cell_division_GO:0051301	28	0.0090	0.056	4.350	0.007	-3.128e+01
BP_cell_division_GO:0051301 -> Adult_WS_DOWN	28	0.0090	0.700	4.005	0.007	-2.910e+01
MF_electron_carrier_activity_GO:0009055 -> Adult_WS_UP	28	0.0090	0.571	2.031	0.005	-1.099e+01

Liite 7. Poimintoja rotan E18-ryhmän ja Old_WS-ryhmän ekspressoerojen ja GO-termien välisistä korrelaatioista

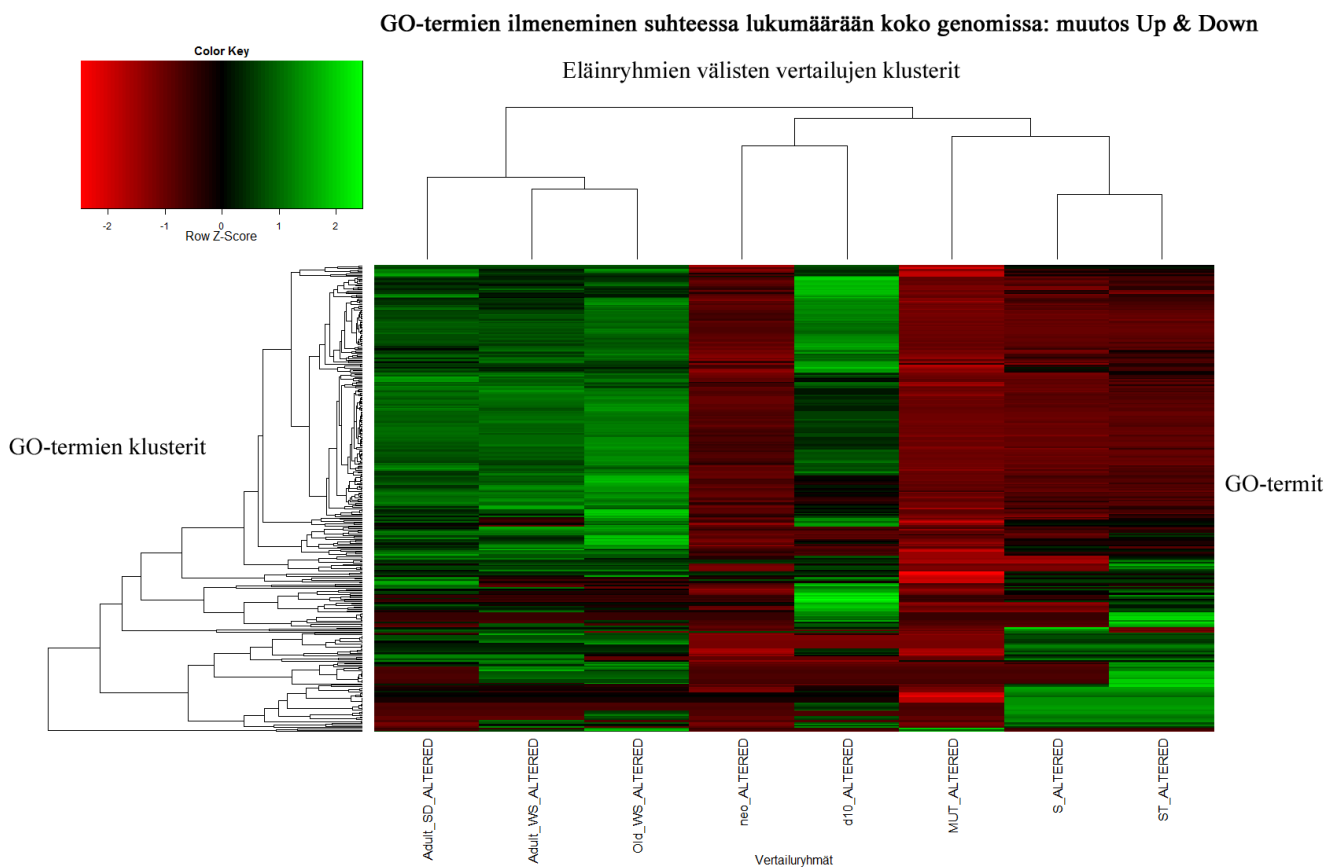
	Old WS								
		fr	p-value	cf	gamma	delta	M		
CC condensed chromosome_kinetochore	GO:0000777 -> Old_WS_DOWN	10	0.0032	0.833	3.923	0.002	-1.178e+01		
BP chromosome_segregation	GO:0007059 -> Old_WS_DOWN	10	0.0032	0.833	3.923	0.002	-1.178e+01		
BP nucleotide_excision_repair	DNA_gap_filling	GO:0006297 -> Old_WS_DOWN	11	0.0035	0.917	4.315	0.003	-1.484e+01	
Adult_SD_DOWN	Old_WS_DOWN -> MF_microtubule_motor_activity	GO:0003777	13	0.0042	0.025	4.578	0.003	-1.627e+01	
MF_microtubule_motor_activity	GO:0003777 -> Old_WS_DOWN	13	0.0042	0.765	3.600	0.003	-1.332e+01		
MF_ATP_binding	GO:0005524 BP_microtubule-based_movement	GO:0007018 -> Old_WS_DOWN	13	0.0042	0.765	3.600	0.003	-1.332e+01	
Adult_SD_DOWN	Old_WS_DOWN -> BP_microtubule-based_movement	GO:0007018	15	0.0048	0.029	3.904	0.004	-1.523e+01	
BP_microtubule-based_movement	GO:0007018 -> Old_WS_DOWN	15	0.0048	0.652	3.070	0.003	-1.200e+01		
Adult_SD_DOWN	Old_WS_DOWN -> CC_chromosome_centromeric_region	GO:0000775	16	0.0051	0.031	5.987	0.004	-2.883e+01	
CC_chromosome_centromeric_region	GO:0000775 -> Old_WS_DOWN	16	0.0051	1.000	4.708	0.004	-2.493e+01		
Adult_SD_DOWN	Old_WS_DOWN -> CC_spindle	GO:0005819	16	0.0051	0.031	4.561	0.004	-1.974e+01	
MF_chemokine_activity	GO:0008009 -> Old_WS_UP	16	0.0051	1.000	2.460	0.003	-1.446e+01		
MF_metal_ion_binding	GO:0046872 MF_iron_ion_binding	GO:0005506 CC_extrinsic_to_membrane	GO:0019899 -> Old_WS_UP	16	0.0051	0.889	2.187	0.003	-1.038e+01
MF_metal_ion_binding	GO:0046872 MF_iron_ion_binding	GO:0005506 CC_extrinsic_to_membrane	GO:0019899 -> Old_WS_UP	16	0.0051	0.889	2.187	0.003	-1.038e+01
CC_spindle	GO:0005819 -> Old_WS_DOWN	17	0.0055	0.810	3.811	0.004	-1.868e+01		
MF_nucleotide_binding	GO:0000166 MF_DNA_binding	GO:0003677 -> Old_WS_DOWN	17	0.0055	0.773	3.638	0.004	-1.741e+01	
CC_microsome	GO:0005792 MF_heme_binding	GO:0020037 -> Old_WS_UP	17	0.0055	0.895	2.201	0.003	-1.118e+01	
CC_endoplasmic_reticulum	GO:0005783 MF_heme_binding	GO:0020037 -> Old_WS_UP	17	0.0055	0.895	2.201	0.003	-1.118e+01	
CC_endoplasmic_reticulum	GO:0005783 MF_monoxygenase_activity	GO:0004497 -> Old_WS_UP	18	0.0058	0.900	2.214	0.003	-1.199e+01	
MF_iron_ion_binding	GO:0005506 CC_microsome	GO:0005792 -> Old_WS_UP	18	0.0058	0.857	2.109	0.003	-1.052e+01	
MF_protein_binding	GO:0005515 BP_response_to_DNA_damage	stimulus	GO:0006974 -> Old_WS_DOWN	19	0.0061	0.905	3.084	0.004	-1.502e+01
CC_microsome	GO:0005792 MF_monoxygenase_activity	GO:0004497 -> Old_WS_UP	19	0.0061	0.905	2.226	0.003	-1.280e+01	
MF_metal_ion_binding	GO:0046872 CC_endoplasmic_reticulum	GO:0005783 CC_microsome	GO:0005792 -> Old_WS_UP	19	0.0061	0.905	2.226	0.003	-1.280e+01
CC_mitochondrion	GO:0005739 BP_lipid_metabolic_process	GO:0006629 -> Old_WS_UP	19	0.0061	0.864	2.125	0.003	-1.129e+01	
BP_nucleotide_processing_and_presentation	GO:0019882 -> Old_WS_UP	19	0.0061	0.826	2.032	0.003	-1.002e+01		
CC_chromosome	GO:0005694 -> Old_WS_DOWN	20	0.0064	0.769	3.621	0.005	-2.018e+01		
MF_protein_binding	GO:0005515 BP_DNA_repair	GO:0006281 -> Old_WS_DOWN	20	0.0064	0.769	3.621	0.005	-2.018e+01	
Adult_SD_UP	Old_WS_UP -> MF_cytokine_activity	GO:0005125	21	0.0068	0.025	2.359	0.004	-1.150e+01	
MF_monoxygenase_activity	GO:0004497 -> Old_WS_UP	21	0.0068	0.840	2.066	0.003	-1.149e+01		
MF_metal_ion_binding	GO:0046872 CC_microsome	GO:0005792 -> Old_WS_UP	21	0.0068	0.840	2.066	0.003	-1.149e+01	
MF_ATP_binding	GO:0005524 MF_DNA_binding	GO:0003677 -> Old_WS_DOWN	22	0.0071	0.611	2.877	0.005	-1.539e+01	
BP_DNA_repair	GO:0006281 -> Old_WS_DOWN	22	0.0071	0.595	2.799	0.005	-1.470e+01		
CC_microtubule	GO:0005874 -> Old_WS_DOWN	22	0.0071	0.524	2.466	0.004	-1.179e+01		
BP_oxidation_reduction	GO:0005114 MF_heme_binding	GO:0020037 -> Old_WS_UP	23	0.0074	0.920	2.263	0.004	-1.609e+01	
BP_response_to_DNA_damage	stimulus	GO:0006974 -> Old_WS_DOWN	23	0.0074	0.575	2.707	0.005	-1.447e+01	
MF_electron_carrier_activity	GO:0009055 MF_iron_ion_binding	GO:0005506 -> Old_WS_UP	23	0.0074	0.885	2.176	0.004	-1.442e+01	
MF_metal_ion_binding	GO:0046872 MF_electron_carrier_activity	GO:0009055 -> Old_WS_UP	23	0.0074	0.885	2.176	0.004	-1.442e+01	
MF_hydrolyase_activity	GO:0016787 MF_serine-type_endopeptidase_activity	GO:0004252 MF_serine-type_peptidase_activity	GO:0008236 -> Old_WS_UP	24	0.0077	0.923	2.271	0.004	-1.693e+01
MF_hydrolyase_activity	GO:0016787 MF_serine-type_endopeptidase_activity	GO:0004252 MF_serine-type_peptidase_activity	GO:0008236 -> Old_WS_UP	24	0.0077	0.774	1.905	0.004	-1.036e+01
MF_hydrolyase_activity	GO:0016787 BP_proteolysis	GO:0005508 MF_serine-type_peptidase_activity	GO:0008236 -> Old_WS_UP	24	0.0077	0.774	1.905	0.004	-1.036e+01
MF_hydrolyase_activity	GO:0016787 MF_peptidase_activity	GO:0008233 MF_serine-type_endopeptidase_activity	GO:0004252 -> Old_WS_UP	24	0.0077	0.774	1.905	0.004	-1.036e+01
CC_centrosome	GO:0005813 -> Old_WS_DOWN	25	0.0080	0.625	2.942	0.005	-1.798e+01		
MF_metal_ion_binding	GO:0046872 MF_heme_binding	GO:0020037 -> Old_WS_UP	25	0.0080	0.806	1.984	0.004	-1.206e+01	
MF_cytokine_activity	GO:0005125 -> Old_WS_UP	25	0.0080	0.758	1.864	0.004	-1.009e+01		
MF_catalytic_activity	GO:0003824 MF_serine-type_endopeptidase_activity	GO:0004252 -> Old_WS_UP	25	0.0080	0.758	1.864	0.004	-1.009e+01	
MF_iron_ion_binding	GO:0005506 MF_heme_binding	GO:0020037 -> Old_WS_UP	26	0.0084	0.788	1.938	0.004	-1.171e+01	
BP_mitosis	GO:0007067 -> Old_WS_DOWN	27	0.0087	0.730	3.433	0.006	-2.479e+01		
BP_cell_cycle	GO:0007049 BP_cell_division	GO:0051301 -> Old_WS_DOWN	29	0.0093	0.784	3.690	0.007	-2.972e+01	
BP_cell_division	GO:0051301 -> Old_WS_DOWN	30	0.0097	0.750	3.531	0.007	-2.865e+01		

Liite 8. Ryhmien välisissä vertailuissa ilmenevien GO-termien lukumäärät (A) ja lukumäärät suhteutettuna kokonais GO-termien määrään eliön genomissa (B). Rotalla verrattu E18-alkioita muihin rottiin ja hiirellä kontrollihiirtä muihin hiiriin. Tässä ovat esillä GO-termit, joiden geneillä **ekspressio on muuttunut, eli lisääntynyt tai vähentynyt**. Vihreä väri: suuri esiintyvyys, punainen väri: pieni GO-termin esiintyvyys.

A)

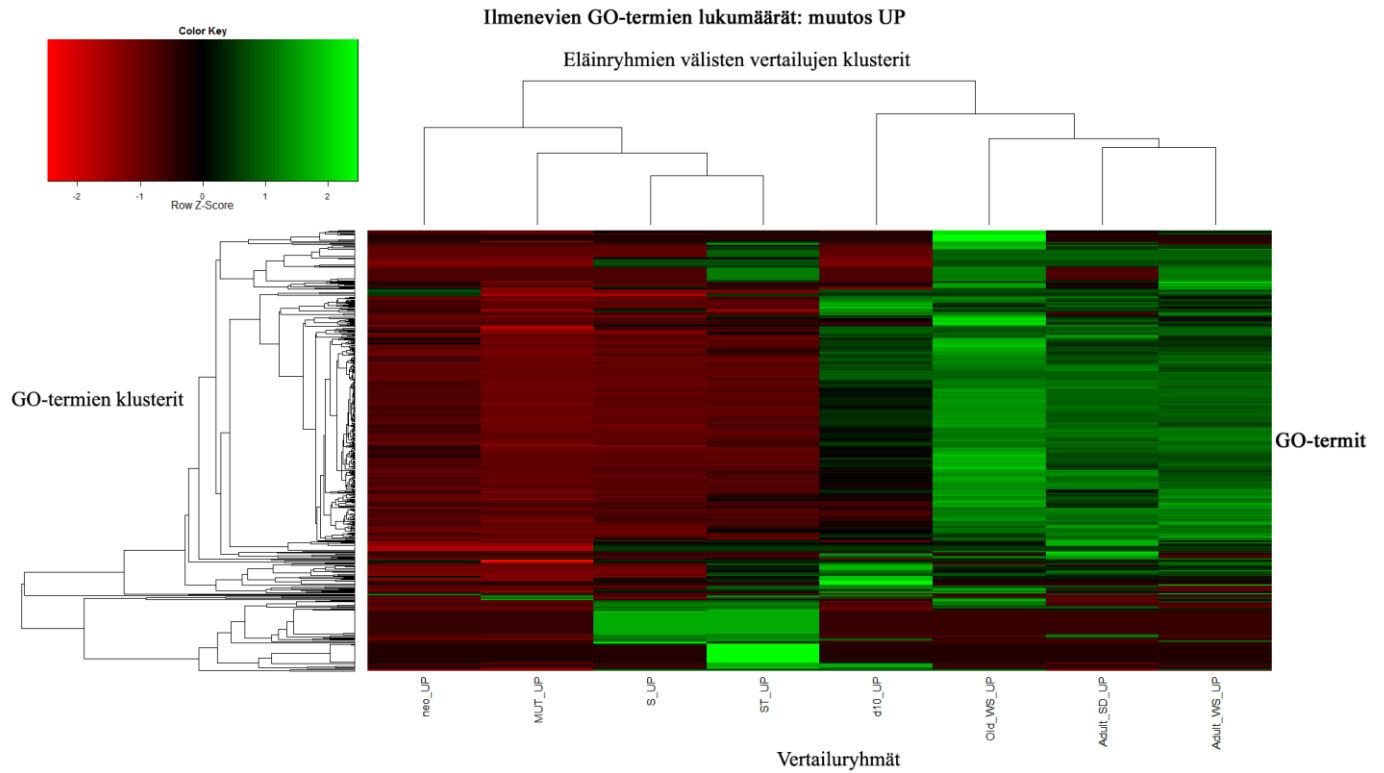


B)

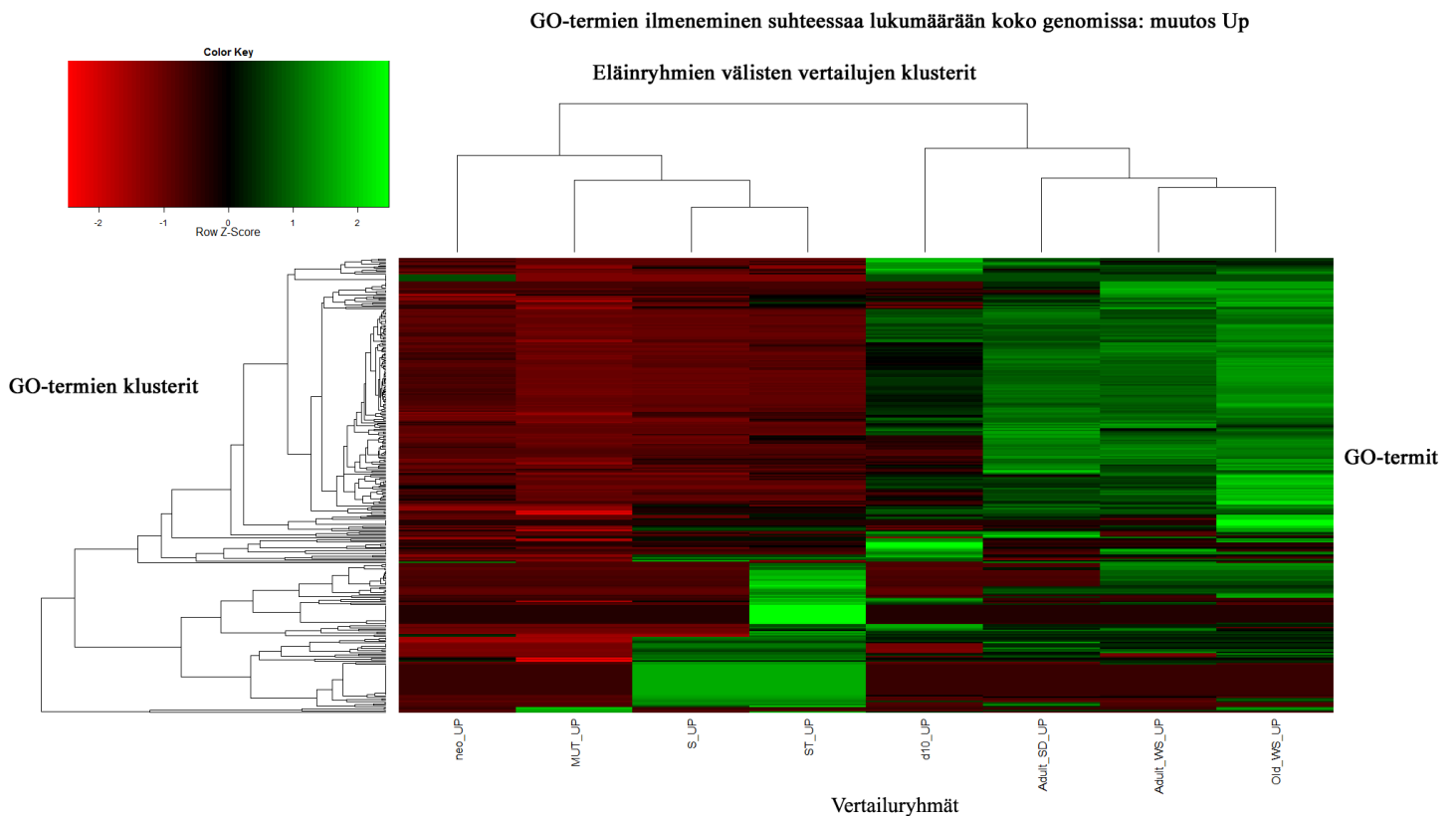


Liite 9. Ryhmien välisissä vertailuissa ilmenevien GO-termien lukumäärät (A) ja lukumäärät suhteutettuna kokonais GO-termien määrään eliön genomissa (B). Rotalla verrattu E18-alkioita muihin rottiin ja hiirellä kontrollihiirtä muihin hiiriin. Tässä ovat esillä GO-termit, joiden geneillä ekspresion **lisääntynyt**. Vihreä väri: suuri esiintyvyys, punainen väri: pieni GO-termin esiintyvyys.

A)

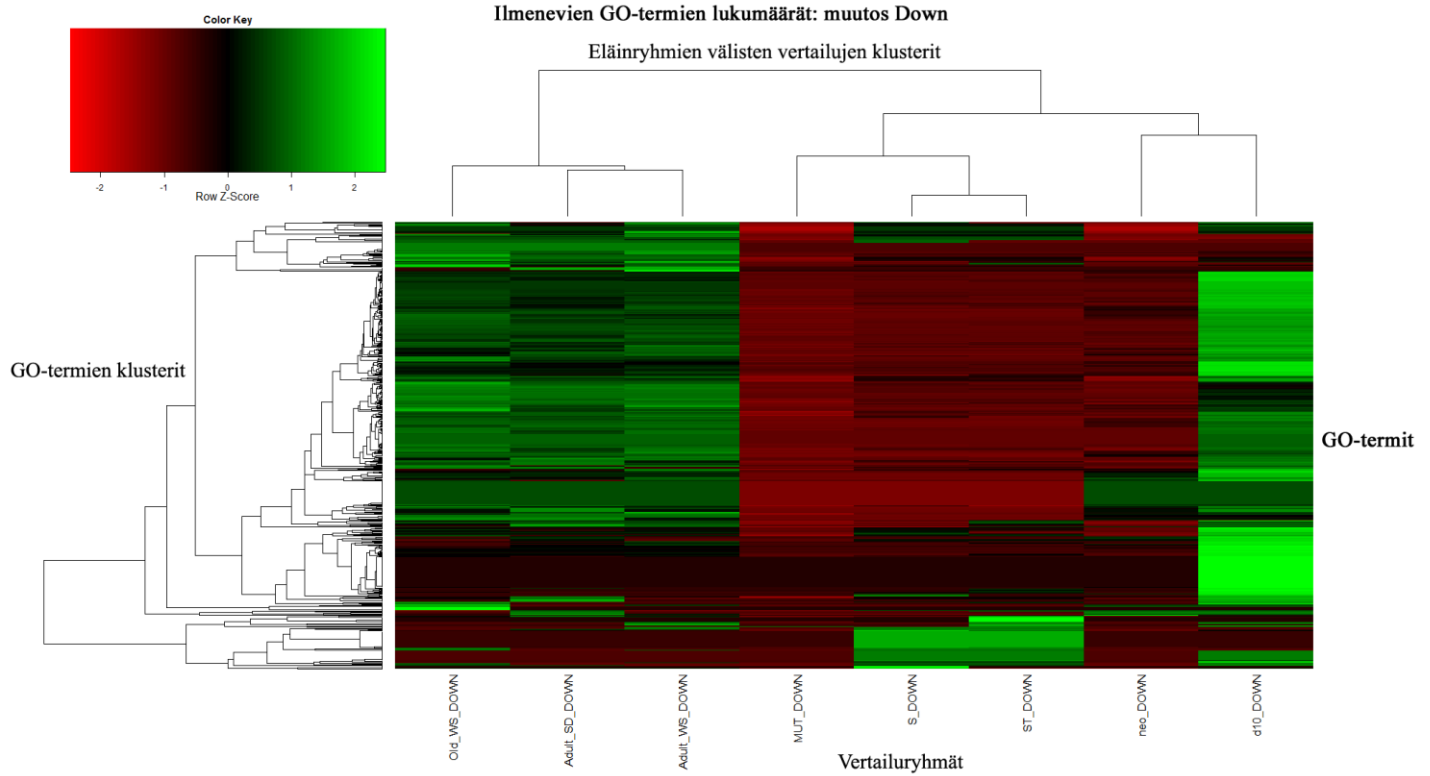


B)



Liite 10. Hiiren ja rotan vertailujen yhdistetyt GO-termit suhteellisina määrinä kokonais GO-termien määrään eliön geneissä. Rotalla verrattu E18-alkioita muihin rottiin ja hiirellä kontrollihiirtä muihin hiiriin. Tässä ovat esillä GO-termit, joiden geneillä **ekspressio on vähentynyt**. Vihreä väri: suuri esiintyvyys, punainen väri: pieni GO-termin esiintyvyys.

A)



B)

