



NATIONAL AND KAPODISTRIAN UNIVERSITY OF ATHENS

**SCHOOL OF SCIENCE
DEPARTMENT OF INFORMATICS & TELECOMMUNICATIONS**

**POSTGRADUATE PROGRAM
"INFORMATION TECHNOLOGIES IN MEDICINE & BIOLOGY"**

MASTER'S THESIS

**Characterization of the molecular networks that
control pathogenic T-cell driven responses in Multiple
Sclerosis using RNA-seq analysis software**

Marina S. Adamou-Tzani

***Supervisor:* Dr. Georgina Xanthou, Researcher, Biomedical
Research Foundation of the Academy of Athens (BRFAA)**

ATHENS

DECEMBER 2015

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Απεικόνιση των μοριακών δικτύων που ελέγχουν ανοσοαποκρίσεις που προκαλούνται από παθογόνα Τ-λεμφοκυτταρα στη Σκλήρυνση κατά Πλάκας χρησιμοποιώντας λογισμικό ανάλυσης RNA-seq

Μαρίνα Σ. Αδάμου-Τζανή

A.M.: ΤΠΙΒ0128

ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ **Δρ. Γεωργία Ξάνθου**, Ερευνήτρια Γ', Ίδρυμα Ιατροβιολογικών Ερευνών Ακαδημίας Αθηνών (ΙΙΒΕΑΑ)

ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ **Γεωργία Ξάνθου**, Ερευνήτρια Γ', Ίδρυμα Ιατροβιολογικών Ερευνών Ακαδημίας Αθηνών (ΙΙΒΕΑΑ)
Ηλίας Σ. Μανωλάκος, Αναπληρωτής Καθηγητής, Τμήμα Πληροφορικής και Τηλεπικοινωνιών, ΕΚΠΑ
Ευανθία Αναστασιάδου, Ερευνήτρια Δ', Ίδρυμα Ιατροβιολογικών Ερευνών Ακαδημίας Αθηνών (ΙΙΒΕΑΑ)

ΔΕΚΕΜΒΡΙΟΣ 2015

ABSTRACT

Background: Multiple Sclerosis (MS) is a detrimental, autoimmune, inflammatory disease wherein the myelin sheaths of nerve cells in the brain and spinal cord are destroyed by self-reactive T lymphocytes, predominantly **T helper type 17 (Th17) lymphocytes**. This disrupts the ability of the nervous system to communicate, causing serious mobility problems. There is no known cure, while 2.5 million people suffer in the world. Our previous studies have revealed a strongly suppressive effect of the cytokine **activin-A** on Th17 cell driven responses in a mouse model of MS in vivo.

The **purpose of this thesis** is to analyze the molecular networks that underline the suppressive effects of activin-A on pathogenic Th17 cell responses. To investigate the molecular pathways involved in the immunosuppressive activity of activin-A, we used the RNA-seq method. RNA-seq is a state-of-the-art method used for the analysis of gene expression by direct sequencing of mRNA molecules in a sample. We analyzed RNA-seq data from two groups: **a)** Th17 lymphocytes treated with negative control and **b)** Th17 lymphocytes treated with recombinant activin-A.

Methodology: These data were processed using software that analyzes the following issues: **a)** identification of gene expression **b)** study of differential signal in mRNA expression **c)** study of dynamic regulators **d)** statistical analysis of results and **e)** schematic / modeling of results.

Significance: Our results introduced a full software sequence for the analysis of RNA-seq data. This procedure has generated interesting results that are pertinent to the mechanisms involved in the suppression of Th17 cell-driven responses and that will facilitate further understanding of the pathogenesis of MS and pathways that can effectively control it.

SUBJECT AREA: RNA-seq Analysis, Data Mining

KEYWORDS: RNA-seq, Multiple Sclerosis, activin-A, T-cells, Expression Analysis

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Ερευνητικό υπόβαθρο: Η Σκλήρυνση κατά Πλάκας (Multiple Sclerosis - MS) είναι μία επιβλαβής, αυτοάνοση, φλεγμονώδης ασθένεια στην οποία τα μονωτικά καλύμματα των νευρικών κυττάρων στον εγκέφαλο και τη σπονδυλική στήλη καταστρέφονται από αυτοειδικά T λεμφοκύτταρα, όπως είναι τα **T helper type 17 (Th17) λεμφοκύτταρα**. Αυτή η καταστροφή διαταράσσει την ικανότητα του νευρικού συστήματος να επικοινωνεί, προκαλώντας σοβαρά κινητικά προβλήματα. Δεν υπάρχει γνωστή θεραπεία, ενώ 2,5 εκατομμύρια άνθρωποι νοσούν σε όλο τον κόσμο. Προηγούμενες μελέτες μας αποκάλυψαν μία ισχυρή κατασταλτική δράση της κυτταροκίνης **Ακτιβίνης-A** στις αποκρίσεις που προκαλούνται από Th17 λεμφοκύτταρα σε μοντέλο της MS εφαρμοσμένο σε ποντίκια.

Σκοπός της διπλωματικής είναι η ανάλυση των μοριακών μηχανισμών που συμμετέχουν στην κατασταλτική δράση της ακτιβίνης-A στις αποκρίσεις των Th17 λεμφοκυττάρων. Προκειμένου να διερευνήσουμε τα μοριακά μονοπάτια που εμπλέκονται στην ανοσοκατασταλτική δράση της ακτιβίνης-A χρησιμοποιήσαμε την μέθοδο αλληλούχησης του RNA (RNA sequencing - RNA-seq). Η RNA-seq αποτελεί τη πιο σύγχρονη μέθοδο για την ανάλυση της γονιδιακής έκφρασης με την άμεση αλληλούχηση των μορίων mRNA ενός δείγματος. Αναλύσαμε RNA-seq δεδομένα που προέρχονται από δύο in-vitro ομάδες δεδομένων: **α)** Th17 λεμφοκύτταρα με αρνητικό μάρτυρα και **β)** Th17 λεμφοκύτταρα με ακτιβίνη-A.

Μεθοδολογία: Στα δεδομένα αυτά έγινε επεξεργασία χρησιμοποιώντας λογισμικό που αναλύει τα εξής θέματα: **α)** αναγνώριση γονιδιακής έκφρασης **β)** μελέτη του διαφορικού σήματος στην έκφραση mRNA **γ)** μελέτη δυναμικών ρυθμιστών (dynamic regulators) **δ)** στατιστική ανάλυση αποτελεσμάτων και **ε)** γραφική απεικόνιση/ μοντελοποίηση αποτελεσμάτων.

Σημασία: Τα αποτελέσματα αυτής της διπλωματικής εργασίας εμπεριέχουν μια ολοκληρωμένη ακολουθία ανάλυσης RNA-seq. Αυτή η διαδικασία παρήγαγε ενδιαφέροντα αποτελέσματα που σχετίζονται με τους μηχανισμούς που εμπλέκονται με την καταστολή των ανοσοαποκρίσεων που προκαλούνται από τα Th17 λεμφοκύτταρα, και θα διευκολύνει σημαντικά στην περαιτέρω κατανόηση των παθογενών μηχανισμών της MS και των μονοπατιών που μπορούν να την ελέγξουν επαρκώς.

ΘΕΜΑΤΙΚΗ ΠΕΡΙΟΧΗ: Ανάλυση RNA-seq, Εξόρυξη δεδομένων

ΛΕΞΕΙΣ ΚΛΕΙΔΙΑ: RNA-seq, Σκλήρυνση κατά πλάκας, Ακτιβίνη-A, T-λεμφοκύτταρα, ανάλυση γονιδιακής έκφρασης