

# **Desarrollo de una metodología para el análisis transcriptómico funcional del splicing alternativo.**

## **1. OBJETIVOS CONCRETOS DE LA INVESTIGACIÓN**

El objetivo general de esta investigación es el desarrollo del concepto de **Análisis del Splicing Alternativo Funcional (FASA)** como una metodología para el estudio de la capacidad funcional proteica del transcriptoma teniendo en cuenta los eventos de splicing alternativo basado en datos de ultrasecuenciación de transcriptomas (RNA-seq), así como la **creación de métodos y herramientas analíticas para la aplicación de este novedoso concepto de FASA**. Así, Este proyecto permitirá el posterior desarrollo de un nuevo recurso bioinformático que será aplicable a todas las especies eucariotas y permitirá a la comunidad científica la realización de un nuevo tipo de análisis transcriptómico funcional a nivel de transcrito en vez de a nivel de gen. Por tanto, se abrirán nuevos horizontes para la genómica funcional al desarrollar un nuevo paradigma de análisis funcional de transcriptomas basado en la anotación funcional de transcritos.

## **2. METODOLOGÍA**

### **-Obtención de datos transcriptómicos**

Para una anotación funcional de isoformas óptimas, es necesario disponer de librerías de RNA-seq optimizadas para la generación de transcritos *full-length*. Nos basaremos en la tecnología SMART-seq, optimizada para la obtención de librerías de cDNA full-length, y en la secuenciación con la plataforma de Illumina y PacBio (lecturas largas). Análisis preliminares en nuestro laboratorio indican que esta tecnología optimiza la secuenciación completa de transcritos.

### **-Anotación funcional de las isoformas**

A continuación, estos transcritos serán anotados con términos funcionales basándonos en diferentes bases de datos y utilizando un vocabulario controlado y estandarizado. Cada uno de los términos asociados a un transcrito cubrirá un aspecto diferente de la funcionalidad de la proteína. Además, se incluirán anotaciones funcionales y estructurales a nivel de ARN para introducir la caracterización funcional de transcritos no codificantes. Así, el resultado será un conjunto de datos transcriptómicos altamente caracterizados.

La mayoría de las anotaciones funcionales de los transcritos pueden ser obtenidas directamente de las bases de datos públicas. Sin embargo, dado que el objetivo de este estudio es generar también anotación funcional cuando no existe disponible información, estas anotaciones serán también generadas *de novo* para posteriormente compararlas con las anotaciones oficiales. Así, se seleccionarán los procedimientos y parametrizaciones que mejor realizan la anotación *de novo*.

### **-Métodos de análisis funcional a nivel de transcrito**

Finalmente, se desarrollarán herramientas estadísticas para evaluar diferencias funcionales a nivel de isoforma.

## **3. RESULTADOS PREVISTOS Y POSIBLES UTILIDADES**

La relevancia del splicing alternativo en proporcionar la complejidad funcional a nivel genómico es aceptada por la comunidad científica pero está pobremente documentada debido a la ausencia de recursos bioinformáticos apropiados. Las técnicas de secuenciación masiva ofrecen nuevas perspectivas para el estudio detallado del transcriptoma. Este proyecto, permitirá el desarrollo de las herramientas bioinformáticas necesarias **para analizar estos datos transcriptómicos masivos e identificar la funcionalidad codificada por los distintos transcritos, dando así respuesta a las implicaciones funcionales del splicing alternativo.**