

Базы данных последовательностей белков

UniProt

Откуда берутся последовательности белков?

Прошлое: белковое секвенирование

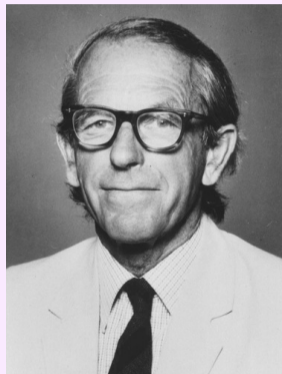
- ▶ 1950 — N-концевая деградация пептидов:
ди- и трипептиды



Pehr Edman

Прошлое: белковое секвенирование

- ▶ 1950 – N-концевая деградация пептидов:
ди- и трипептиды
- ▶ 1951 и 1952 – Первая последовательность белка:
цепи В и А бычьего инсулина, 30 и 21 а.о.



Frederick Sanger

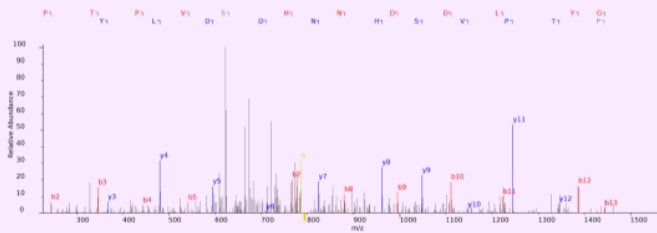
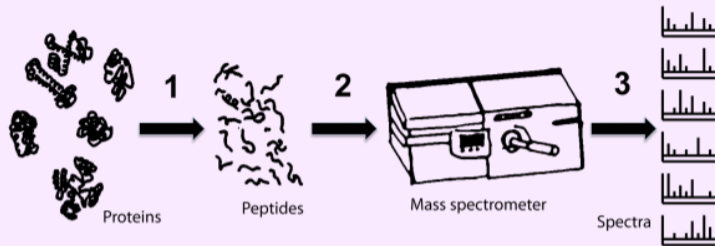
Прошлое: белковое секвенирование

- ▶ 1950 – N-концевая деградация пептидов:
ди- и трипептиды
- ▶ 1951 и 1952 – Первая последовательность белка:
цепи В и А бычьего инсулина, 30 и 21 а.о.
- ▶ 1967 – Автоматизация метода Эдмана:
60 а.о. миоглобина кита



Pehr Edman

Настоящее: белковая масс-спектрометрия



Noble WS and MacCoss MJ. Computational and statistical analysis of protein mass spectrometry data. *PLoS Comput Biol.* 2012;8(1):e1002296

Настоящее: автоматическая трансляция

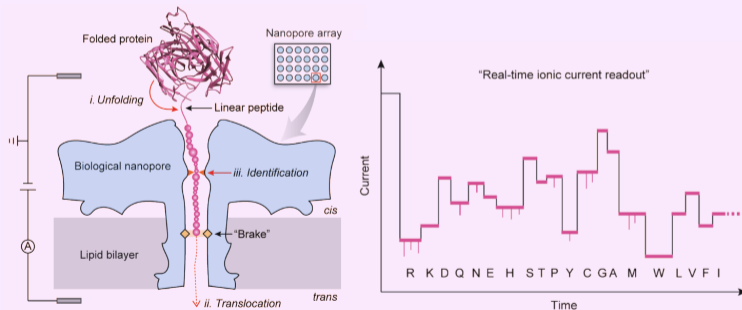
- ▶ Получение нуклеотидной последовательности (геном, экзом, транскриптом, метагеном).
- ▶ Предсказание открытых рамок считывания.
- ▶ Аннотация (в основном автоматическая) последовательностей по сходству с известными белками.

Так получено подавляющее большинство последовательностей белков.

Будущее: белковое секвенирование?

Активно развиваются новые подходы к массовому секвенированию белков:

- ▶ одномолекулярное нанопоровое секвенирование
- ▶ деградация иммобилизованных пептидов по Эдману с флуоресцентной детекцией продуктов
- ▶ протеолиз с помощью ClpX
- ▶ детекция на основе электронного туннелирования



Hu ZL, et al. Biological Nanopore Approach for Single-Molecule Protein Sequencing. *Angew Chem Int Ed Engl.* 2021;60(27):14738-14749

Как хранят последовательности белков?

Последовательность белка

Последовательность аминокислотных остатков

- ▶ записанная от N-конца к C-концу,
- ▶ с использованием однобуквенных (реже трехбуквенных) обозначений аминокислот по IUPAC
- ▶ в виде текста (кодировка ASCII);
- ▶ остатки нумеруются, начиная с 1.

База данных

[Реляционную] **базу данных** можно представить в виде набора ссылающихся друг на друга **плоских таблиц**, при условии, что строки в каждой таблице уникальны, а порядок строк и столбцов не имеет значения.

Единица хранения называется **записью (entry)** и соответствует строке таблицы. Столбцы называются **полями (field)** или атрибутами. В ячейках записаны значения соответствующих полей.

Типы баз данных

На основании того, кто отвечает за достоверность информации, выделяют три типа баз данных.

Архивные записи создают сами экспериментаторы, они же отвечают за достоверность информации (PDB, GenBank, ENA)

Курируемые за создание и редактирование записей отвечают кураторы (Swiss-Prot, отчасти RefSeq)

Автоматические записи создаются компьютерными программами (TrEMBL, UniParc, основная часть RefSeq)

Потоки данных: INSDC

International Nucleotide Sequence Database Collaboration

Объединяет 3 крупнейших нуклеотидных архива:

GenBank – NCBI, Америка

ENA – EBI, Европа

DDBJ – NIG, Япония

Ежедневный обмен данными и стандартизация.

- ▶ таксономия и таблицы генетического кода
- ▶ словарь терминов и ключевых слов в аннотациях
- ▶ единый формат таблицы локальных особенностей
- ▶ требования к геномным сборкам
- ▶ ...



Потоки данных: RefSeq

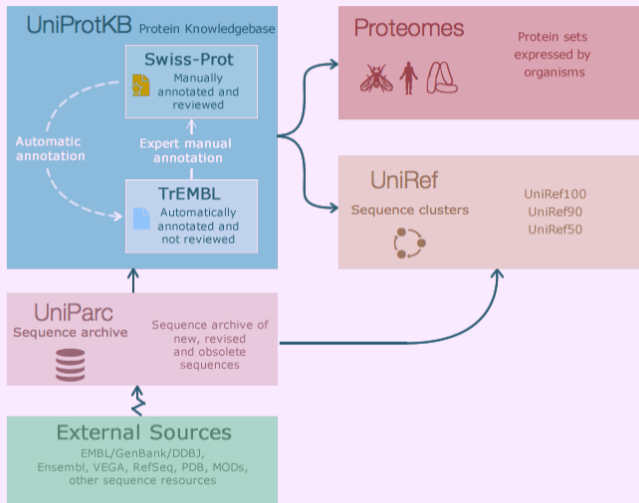


RefSeq: NCBI Reference Sequence Database

A comprehensive, integrated, non-redundant, well-annotated set of reference sequences including genomic, transcript, and protein.

- ▶ Автоматическая (по большей части) база данных на основе GenBank.
- ▶ Главная цель – уменьшение избыточности данных и унификация аннотаций.
- ▶ Часть записей курируется сотрудниками NCBI и не только (коллаборации со специализированными базами данных).
- ▶ Изначально нуклеотидная база, но создаются отдельные записи для закодированных белков (как и в GenBank).

Потоки данных: UniProt



Архив уникальных последовательностей белков.

- ▶ Содержит все последовательности белков, которые когда-либо были в UniProtKB, и даже те, которые не были включены в UniProtKB по каким-либо причинам.
- ▶ Каждой уникальной последовательности присвоен идентификатор UPI, который никогда не изменяется и не удаляется.
- ▶ Запись UniParc содержит только последовательность, её хеш-сумму для проверки, ссылки на базы, в которых в какой-то момент времени хранилась такая же белковая последовательность и чуть-чуть вспомогательной информации.
- ▶ Последовательности (почти) неаннотированные.

Автоматическая база данных!

Например, UPI0000000004

Database	Identifier	Version	Organism	First seen	Last seen	Active	
UniProtKB/Swiss-Prot	P04195	1	Vaccinia virus (strain Western Reserve) (VACV) (Vaccinia virus (strain WR))	1988-11-01	2021-04-07	Yes	
UniProtKB/TrEMBL	A0A2I2MC48	1	Vaccinia virus (strain Western Reserve) (VACV) (Vaccinia virus (strain WR))	2018-02-28	2021-04-07	Yes	
UniProtKB/TrEMBL	Q6LDV9	1	Vaccinia virus	2006-04-18	2021-04-07	Yes	
UniProtKB/TrEMBL	V5R1H0	1	Vaccinia virus WAU86/88-1	2015-07-22	2021-04-07	Yes	
UniProtKB/TrEMBL	Q76ZR9	1		2004-07-05	2011-10-19	No	
RefSeq	YP_232995	1	Vaccinia virus	2005-10-06	2021-01-04	Yes	
EMBL CDS	AAA48264	1	Vaccinia virus	2003-03-12	2021-01-25	Yes	
EMBL CDS	AAO89392	1	Vaccinia virus (strain Western Reserve) (VACV) (Vaccinia virus (strain WR))	2003-06-16	2021-01-25	Yes	
EMBL CDS	ABD52586	1	Vaccinia virus	2007-03-31	2021-01-25	Yes	
EMBL CDS	AHB23552	1	Vaccinia virus WAU86/88-1	2014-01-06	2021-01-25	Yes	
EMBL CDS	AQY54886	1	Vaccinia virus	2017-04-08	2021-01-25	Yes	
EMBL CDS	SOU90125	1	Vaccinia virus (strain Western Reserve) (VACV) (Vaccinia virus (strain WR))	2018-01-26	2021-01-25	Yes	
USPTO	ADS58156	1		2011-03-07	2020-11-27	Yes	
PRF	3315290DX		Vaccinia virus	2007-12-07	2009-09-01	Yes	
TREMBLNEW	AAA48264			2003-03-29	2004-06-11	No	
TREMBLNEW	AAO89392			2003-04-18	2004-06-11	No	
PIRARC	A01146			2003-03-31	2003-04-04	No	
PIRARC	A35014			2003-03-31	2003-04-04	No	
PIR	CRVZW			2003-04-11	2005-01-04	No	

UniProt Knowledgebase

UniProtKB – две базы аннотированных белковых последовательностей с общим форматом записей.

TrEMBL (от **T**ranslated **EMBL**) – автоматическая база данных, содержащая, в основном, формальные трансляции открытых рамок считывания, предсказанных в нуклеотидных последовательностях.

Swiss-Prot (раньше была отдельным банком) – курируемая база данных. Кураторы выбирают записи из TrEMBL, проверяют и дополняют их, переносят в Swiss-Prot.

UniRef

UniProt Reference Clusters

Кластеры записей по сходству последовательностей.

UniProtKB + UniParc с активными ссылками на RefSeq

UniRef100 – идентичные на 100% последовательности и их фрагменты.

UniRef90 – кластеры самых длинных представителей из кластеров UniRef100, идентичных на 90% и похожих по длине (не короче 80% самой длинной последовательности в кластере). Принадлежность кластеру UniRef90 распространяется на все остальные записи из кластера UniRef100 без проверок.

UniRef50 аналогично UniRef90.

Последовательности длины 10 и более короткие включены только в UniRef100, и кластеризуются только при совпадении длины.







Сид и репрезентативная последовательность

Seed – самая длинная последовательность в кластере, с которой сравниваются остальные последовательности для проверки принадлежности к кластеру.

Representative – наиболее хорошо аннотированная последовательность, используется для аннотации кластера (название и длина последовательности).

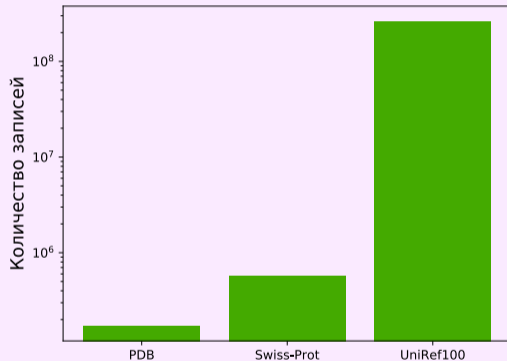
Случаются приколы 😞

Например, кластер UniRef90_P81108

<input type="checkbox"/>	Cluster members	Entry name	Protein names	Organisms	Organism IDs	Related clusters	Length	Role
<input type="checkbox"/>	P81108	THIO_CLOSG	 Thioredoxin (Fragment)	Clostridium sporogenes	1509	UniRef100_P81108	40	Representative
<input type="checkbox"/>	A0A1V9IK41	A0A1V9IK41_CLOSG	 Thioredoxin	Clostridium sporogenes	1509	UniRef100_P81108	106	
<input type="checkbox"/>	A0A0B4W3E0	A0A0B4W3E0_CLOBO	 Thioredoxin	Clostridium botulinum Prevot_594	1408284	UniRef100_P81108	106	
<input type="checkbox"/>	A0A1J1CWE3	A0A1J1CWE3_CLOBO	 Thioredoxin	Clostridium botulinum	1491	UniRef100_A0A1J1CWE3	106	Seed
<input type="checkbox"/>	J7T6P1	J7T6P1_CLOS1	 Thioredoxin	Clostridium sporogenes (strain ATCC 15579)	471871	UniRef100_A0A1J1CWE3	106	
<input type="checkbox"/>	A0A0D0ZX6	A0A0D0ZX6_CLOBO	 Thioredoxin	Clostridium botulinum B2 450	1379739	UniRef100_A0A1J1CWE3	106	
<input type="checkbox"/>	A0A6M0YC23	A0A6M0YC23_CLOSG	 Thioredoxin	Clostridium sporogenes	1509	UniRef100_A0A6M0YC23	106	
<input type="checkbox"/>	A0A1S9I145	A0A1S9I145_9CLOT	 Thioredoxin	Clostridium tepidum	1962263	UniRef100_A0A1S9I145	106	
<input type="checkbox"/>	A0A6M0T4F3	A0A6M0T4F3_CLOBO	 Thioredoxin	Clostridium botulinum	1491	UniRef100_A0A6M0T4F3	106	
<input type="checkbox"/>	A0A6M0XX80	A0A6M0XX80_CLOSG	 Thioredoxin	Clostridium sporogenes	1509	UniRef100_A0A6M0T4F3	106	
<input type="checkbox"/>	A0A0M1IUU5	A0A0M1IUU5_9CLOT	 Thioredoxin	Clostridium sp. L74	1560217	UniRef100_A0A0M1IUU5	106	
<input type="checkbox"/>	UPI000666DA61		 thiol reductase thioredoxin	Clostridium sporogenes	1509	UniRef100_UPI000666DA61	106	
<input type="checkbox"/>	UPI000D0CC3E6		 thiol reductase thioredoxin	Clostridium botulinum	1491	UniRef100_UPI000D0CC3E6	106	
<input type="checkbox"/>	UPI001748E097		 thioredoxin	Clostridium botulinum	1491	UniRef100_UPI001748E097	106	
<input type="checkbox"/>	UPI0005F06029		 thiol reductase thioredoxin	Clostridium sporogenes	1509	UniRef100_UPI0005F06029	106	

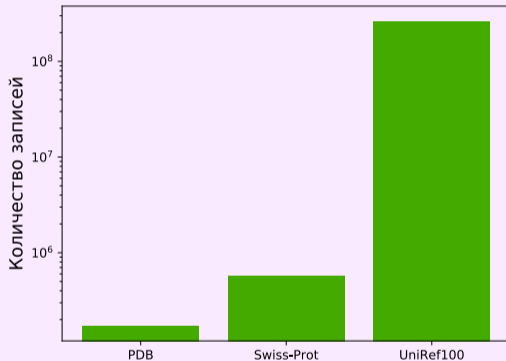
Масштаб проблемы

Число записей про белки в разных базах данных



Масштаб проблемы

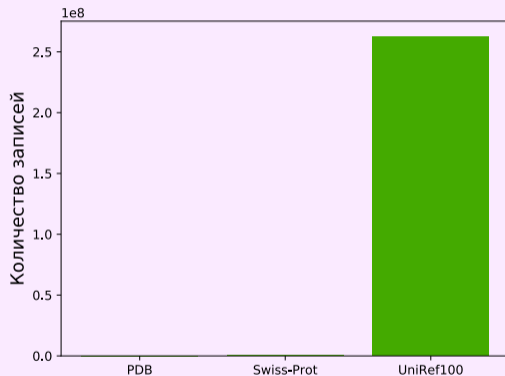
Число записей про белки в разных базах данных



Логарифмическая шкала!

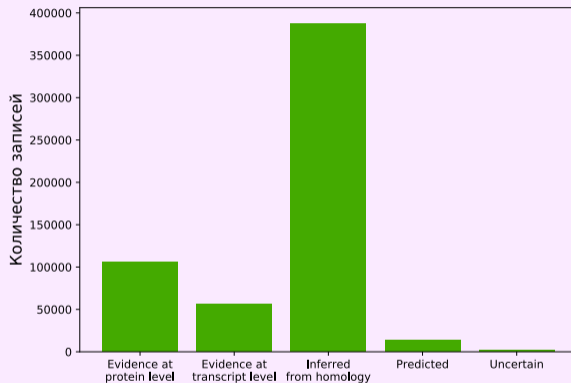
Масштаб проблемы

Число записей про белки в разных базах данных



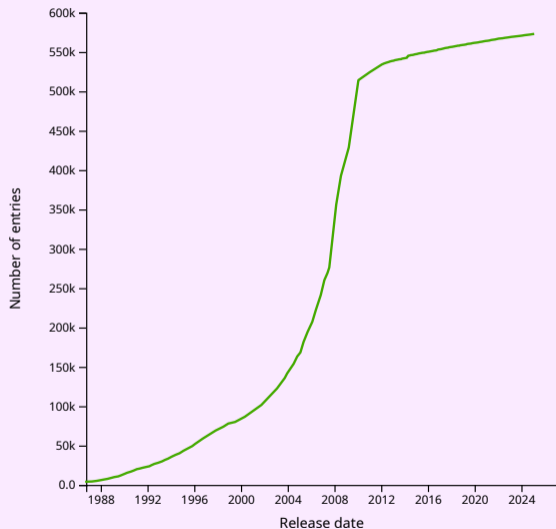
Масштаб проблемы

Достоверность белков в Swiss-Prot

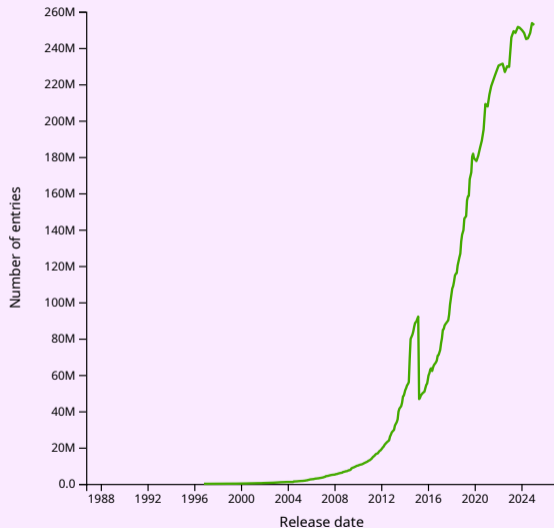


Среди аннотированных вручную белков большая часть не изучена экспериментально.

Рост числа записей в Swiss-Prot



Рост числа записей в TrEMBL



Что такое «один белок»?

Какие есть проблемы?

Консервативный ген » одинаковые по последовательности белки из разных видов

Недавняя дупликация » разные участки генома кодируют одинаковые белки

Полиморфизм » последовательность отличается у разных особей одного вида

Соматические различия » разные варианты гена в клетках одного организма

Альтернативный сплайсинг » ген один, а продукты разные

Транссплайсинг » в сплайсинг вовлечены транскрипты разных генов

Запись UniProtKB

Одна запись – все продукты одного гена из организмов одного вида или штамма

Изоформы указаны в полях CC (подраздел Alternative products) и FT (конкретные участки различий).
Полиморфизмы указывают в поле FT.

Если для гена известно множество изоформ, сильно отличающихся по последовательности и функциям, могут создать несколько записей Swiss-Prot.

Формат записи UniProtKB

Структура записи UniProtKB

```
ID  NU4LM_BALMU          Reviewed;          98 AA.
AC  P41301;
DT  01-FEB-1995, integrated into UniProtKB/Swiss-Prot.
DT  26-FEB-2020, entry version 75.
DE  RecName: Full=NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 4L;
DE      EC=7.1.1.2;
GN  Name=MT-ND4L; Synonyms=MTND4L, NADH4L, ND4L;
OS  Balaenoptera musculus (Blue whale).
OG  Mitochondrion.
OC  Eukaryota; Metazoa; Chordata; ...; Balaenopteridae; Balaenoptera.
OX  NCBI_TaxID=9771;
RN  [1]
RP  NUCLEOTIDE SEQUENCE [GENOMIC DNA].
RX  PubMed=8308901; DOI=10.1007/bf00178861;
RA  Arnason U., Gullberg A.;
RT  "Comparison between the complete ... that can hybridize in nature.";
RL  J. Mol. Evol. 37:312-322(1993).
CC  -!- SUBCELLULAR LOCATION: Mitochondrion membrane {ECO:0000250}; Multi-pass
CC      membrane protein {ECO:0000250}.
CC  -!- SIMILARITY: Belongs to the complex I subunit 4L family. {ECO:0000305}.
DR  EMBL; X72204; CAA51003.1; -; Genomic_DNA.
DR  RefSeq; NP_007064.1; NC_001601.1.
DR  GO; GO:0016021; C:integral component of membrane; IEA:UniProtKB-KW.
DR  Pfam; PF00420; Oxidored_q2; 1.
PE  3: Inferred from homology;
KW  Translocase; Transmembrane; Transmembrane helix; Transport; Ubiquinone.
FT  CHAIN           1..98
FT                  /note="NADH-ubiquinone oxidoreductase chain 4L"
FT                  /id="PRO_0000118394"
FT  TRANSMEM       1..21
FT                  /evidence="ECO:0000255"
SQ  SEQUENCE   98 AA;  10747 MW;  9F770651FE65ED1B CRC64;
    MTLIHMNVLMAFSMSLVGLL MYRSHLSAL LCLEGMMLSL FVLAALILN SHFTLANMMP
    IILLVFAAYV AAIGLALLVM VSNTYGTDYV QSLNLLQC
```

метаданные

аннотация
последовательности

последовательность

Основные поля записи UniProtKB

- ID** – название записи (уникальный идентификатор)
- AC** – код доступа (стабильный идентификатор)
- DE** – description, название (функция) белка
- OS** – видовое название организма–источника белка
- OC** – таксономическое положение организма (по NCBI Таксоному)
- DR** – ссылки на записи в других базах данных
- PE** – protein existence, 5 уровней достоверности *существования* белка
- KW** – ключевые слова
- FT** – feature table, таблица локальных особенностей
- CC** – comments, другая полезная информация, плохо поддающаяся формализации
- SQ** – последовательность

Идентификаторы записи UniProtKB

ID – имя записи (entry name), *уникальный* идентификатор

- ▶ единственный у записи и уникальный
- ▶ может изменяться со временем
- ▶ человекочитаемый, включает мнемонику функции и мнемонику организма
- ▶ примеры: INS_HUMAN, INS1_MOUSE, A0A1S2PNH5_9ACTN

AC – код доступа (accession number), *стабильный* идентификатор

- ▶ не изменяется и не удаляется
- ▶ у записи может быть несколько AC
- ▶ может повторяться у нескольких записей, основной (первый в списке) AC всегда уникальный
- ▶ случайная комбинация букв и цифр
- ▶ примеры: A2BC19, P12345, A0A023GPI8

Когда ссылаетесь на запись, указывайте основной код доступа!

Таблица локальных особенностей (Feature table, FT)

Имеет строгий формат, список и описание всех возможных ключей доступно на сайте UniProt.

```
FT CHAIN 1..188
FT /note="Isochorismatase family protein YecD"
FT /id="PRO_0000201831"
FT HELIX 6..8
FT /evidence="ECO:0000244|PDB:1J2R"
FT STRAND 9..14
FT /evidence="ECO:0000244|PDB:1J2R"
FT REGION 5..34
FT /note="Interaction with RNase E"
FT ACT_SITE 209
FT /note="Proton donor"
FT /evidence="ECO:0000255|HAMAP-Rule:MF_00318,
FT ECO:0000269|PubMed:15003462"
FT METAL 246
FT /note="Magnesium"
FT /evidence="ECO:0000269|PubMed:11676541,
FT ECO:0000269|PubMed:16516921"
FT BINDING 159
FT /note="Substrate"
FT /evidence="ECO:0000255|HAMAP-Rule:MF_00318"
FT MOD_RES 257
FT /note="N6-acetyllysine"
FT /evidence="ECO:0000269|PubMed:18723842"
FT CONFLICT 180..188
FT /note="SVEEILNAL -> TWKRSSTRYDLHRSTAMVAS (in Ref. 1)"
FT /evidence="ECO:0000305"
FT MUTAGEN 168
FT /note="E->Q: 5% activity; not secreted."
FT /evidence="ECO:0000269|PubMed:15003462"
```

вторичная структура

сайты связывания

модифицированные остатки

разночтения в
последовательности

и т.д.