Мини-обзор бактерии

Aquibium oceanicum

Гославский Лев Николаевич1

¹Факультет биоинженерии и биоинформатики, Московский Государственный Университет имени М.В. Ломоносова, Москва

Контакты: levgosl3000@gmail.com

Аннотация

В данной статье представлен обзор генома *Aquibium осеапісит*. Исследуется распределение последовательностей, кодирующих белки и РНК по репликонам, длины белков, частоты стоп-кодонов, а также cumulative GC-skew.

1 ВВЕДЕНИЕ

Аquibium oceanicum — грамотрицательная, палочковидная, каталаза- и оксидаза-позитивная аэробная бактерия, выделенная из культуры Microcystis aeruginosa. Рост наблюдается в температурном диапазоне 23–45 °C (оптимум, 33 °C), при значениях рН 6–11 (оптимум, 8), в присутствии 0–4% NaCl (оптимум, 0%). Основными полярными липидами являются фосфатидилэтаноламин, фосфатидилхолин и фосфатидилметилэтаноламин. В таблице (таблица 1) представлена информация о систематическом положении Aquibium oceanicum. Геном данной бактерии состоит из одной хромосомы (5158483 пар оснований) (Рис.1) и одной плазмиды (166078 пар оснований) [1].

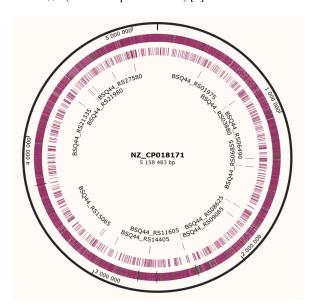


Рис. 1. Кольцевая хромосома *Aquibium oceanicum* [7].

Таблица 1. Таксономическое положение бактерии.

Ранг таксона	Название таксона				
Домен	Bacteria				
Филум	Pseudomonadota				
Класс	Alphaproteobacteria				
Отряд	Hyphomicrobiales				
Семейство	Phyllobacteriaceae				
Род	Aquibium				
Вид	Aquibium oceanicum				

Данная бактерия является довольно малоизученной и была открыта недавно. Согласно полученным при анализе 16S рРНК данным, наиболее близкородственный Aquibium oceanicum организм — Mesorhizobium carbonis (97,2% сходства) [1]. В данной работе был проанализирован геном Aquibium oceanicum и описаны некоторые его особенности, в частности, распределение последовательностей по репликонам, длины белков, частоты стоп-кодонов и GC-scew.

2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Данные о геноме *Aquibium oceanicum*, такие как feature table, геномная последовательность, последовательность кольцевой хромосомы и кодирующие последовательности получены с сайта NCBI [2].

Для анализа распределения генов белков и РНК по репликонам, длин белков и частоты стоп-кодонов была использована платформа Google Sheets [3].

Методы на платформе Google Sheets:

- 1. Подсчет количества белков разных длин и распределения по репликонам с помощью функции "СЧЕТЕСЛИМН".
- 2. Построение гистограмм для всех результатов.

Для нахождения частоты стоп-кодонов к файлу кодирующих белки последовательностей был применен авторский программный код на языке Python 3 [4].

Для анализа cumulative GC-skew к файлу последовательности кольцевой хромосомы был применен авторский программный код на языке Python 3 [5], а также использована программа Webskew [6].

Схема кольцевой хромосомы получена с помощью программы SnapGene Viewer [7].

3 РЕЗУЛЬТАТЫ

3.1 Распределение генов белков и РНК по репликонам

В таблице (таблица 2) представлены данные о количестве последовательностей разных типов: генов белков и разных типов РНК. Можно сделать вывод, что у исследуемой бактерии есть одна хромосома и одна плазмида. На хромосоме закодированы последовательности белков (CDS), а также все виды РНК (tRNA=тРНК - транспортная РНК, tmRNA=тмРНК - транспортно-матричная, rRNA=pPHK - рибосомальная PHK, ncRNA - некодирующая РНК). На рисунке (Рис. 2) наглядно изображены доли разных последовательностей на хромосоме. заметить, что подавляющее большинство составляют CDS (98,9%). В это время на плазмиде расположены только CDS.

Таблица 2. Гены белков и РНК на разных репликонах.

genomic_accession	seq_type	CDS	tRNA	ncRNA	rRNA	tmRNA
NZ_CP018171.1	chromoso me	4996	48	3	6	1
NZ_CP018172.1	plasmid	186	0	0	0	0

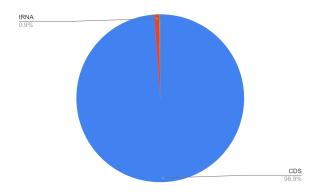


Рис. 2. Доли разных последовательностей на хромосоме.

3.2 Длины белков

Данные о длинах белков *Aquibium oceanicum* отражены на гистограмме (Рис. 3). Наибольшее число белков рассматриваемой бактерии состоят из 200-300 аминокислотных остатков (а.о.). От этого диапазона при

увеличении длины белка, количество убывает. Длина наибольшего белка расположена в диапазоне 1800-1900 а.о. Также имеется большое количество белков длиной 100-200 а.о. (1202 штуки) и меньше длиной 0-100 а.о. (480 штук). Видно, что от пика количества белков (200-300 а.о.) в сторону уменьшения длины, число белков меняется более резко, чем в сторону увеличения длины.

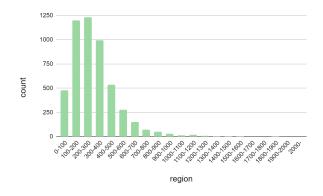


Рис. 3. Гистограмма длин белков.

3.3 Определение частот стоп-кодонов генов

Данные о частотах стоп-кодонов в кодирующих белки последовательностях представлены на гистограмме (Рис. 4). Видно, что у Aquibium oceanicum все три стандартных стоп-кодона располагаются на концах CDS. Можно сделать вывод, что они не утратили свою функцию. Помимо них, в последовательности содержат и 23 кодона, нестандартных для последнего кодона кодирующей белок последовательности. Но они встречаются 1-4 раза каждый. К такому могли привести точечные замены нуклеотида в стоп-кодоне (в случаях, где стоп-кодон отличается от стандартного на один нуклеотид), а также мутации со сдвигом рамки считывания. Возможно, это и артефакт. Также нельзя не обратить внимание на преобладание частоты стоп-кодона TGA над другими стандартными стоп-кодонами. В случае преобладания над кодоном ТАА это может быть связано с GC-составом. А также с разным количеством факторов высвобождения (release factor, RF1 и RF2), которые распознают стоп-кодоны при терминации Также согласно одному исследованию, трансляции. стоп-кодоном ТАА часто заканчиваются гены с высоким уровнем экспрессии. Это связано с тем, что оба фактора высвобождения узнают ТАА [8]. Значит, стоп-кодон, которым заканчивается каждый конкретный ген, может быть связан с функцией этого гена.

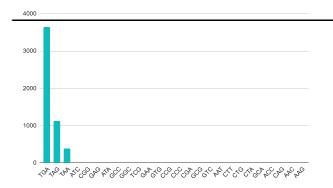


Рис. 4. Гистограмма частот стоп-кодонов.

3.4 Определение cumulative GC-skew

Зависимость cumulative GC-skew от конкретного участка генома *Aquibium oceanicum* представлена на графиках (Рис. 5 и Рис. 6). Первый график получен в результате работы авторского программного кода [5], а второй при помощи сторонней программы [6]. Оба анализа дали близкие значения, следовательно, авторский код работает верно.



Рис. 5. Зависимость cumulative GC-skew от конкретного участка генома.

Согласно исследованию, по минимуму значения cumulative GC-skew можно предсказывать расположение точки начала репликации на кольцевой бактериальной хромосоме [9]. По полученным в ходе работы данным можно предположить, что точка начала репликации находится вблизи точки 4684000 пар оснований (base pairs, bp) от начала последовательности. Однако проверка предположения в настоящее время невозможна, так как геном бактерии изучен плохо, точка начала репликации не обнаружена и в данных о геноме не указана.

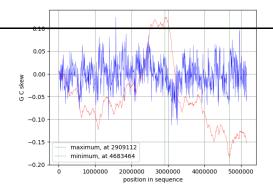


Рис. 6. Зависимость cumulative GC-skew от конкретного участка генома. Нужный график выделен красным цветом[4].

4 СОПРОВОДИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ

3. Таблица на платформе Google Sheet:

https://docs.google.com/spreadsheets/d/1sOHK79Nk4rIIe6M-qNtLIzz3oKawlapY5FVmnlnztC8/edit#gid=426177649

Общая таблица данных по геному на странице "feature_table". Распределение последовательностей по репликонам на странице "per-replicones".

Длины белков на странице "protein len-hist".

Частоты стоп-кодонов на странице "stop codons".

Анализ cumulative GC-skew на странице "GC-skew".

4. Программный код на языке Python 3 для нахождения частоты стоп-кодонов:

https://drive.google.com/file/d/11YPZxlXpwRqeEVaU3_qt-PBhYeaeFve0/view?usp=drive_link

5. Программный код на языке Python 3 для нахождения cumulative GC-skew:

https://drive.google.com/file/d/1TmR7Y1gWcvo9NSrYE9QJUpFP IFtWx-e4/view?usp=drive_link

ЛИТЕРАТУРА

- Kim M, Kim W, Park W. Aquibium microcysteis gen. nov., sp. nov., isolated from a Microcystis aeruginosa culture and reclassification of Mesorhizobium carbonis as Aquibium carbonis comb. nov. and Mesorhizobium oceanicum as Aquibium oceanicum comb. nov. Int J Syst Evol Microbiol. 2022 Jan;72(1). doi: 10.1099/ijsem.0.005230. PMID: 35038289.
- 2.https://ftp.ncbi.nlm.nih.gov/genomes/all/GCF/001/889/605/GCF_001889605.1_AS M188960v1/
- 6. https://genskew.csb.univie.ac.at/webskew#usage webskew
- 7. https://www.snapgene.com/snapgene-viewer
- Korkmaz G, Holm M, Wiens T, Sanyal S. Comprehensive analysis of stop codon usage in bacteria and its correlation with release factor abundance. J Biol Chem. 2014 Oct 31;289(44):30334-30342. doi: 10.1074/jbc.M114.606632. Epub 2014 Sep 12. PMID: 25217634; PMCID: PMC4215218.
- Arakawa K, Tomita M. The GC skew index: a measure of genomic compositional asymmetry and the degree of replicational selection. Evol Bioinform Online. 2007 Sep 6;3:159-68. PMID: 19461976; PMCID: PMC2684130.