

Практикум 4. Поиск гомологов и филогенетический анализ белка ClpX

Для поиска гомологов белка CLPX_ECOLI, представляющего собой ATP-связывающую субъединицу ATP-зависимой Clp протеазы *Escherichia coli*, было отобрано семь бактерий из отдела Pseudomonadota.

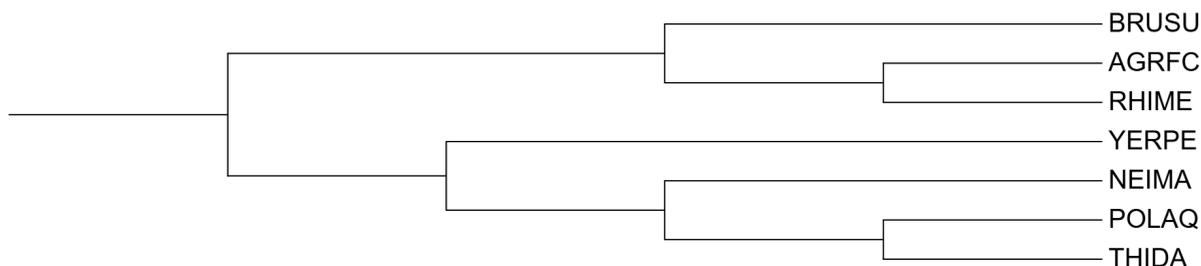


Рис 1. Дерево по таксономии

Таблица 1. Наши бактерии

Мнемоника	Организм	Характеристика
AGRFC	<i>Agrobacterium fabrum</i>	почвенная, вызывает опухоли у растений (корончатый галл)
RHIME	<i>Rhizobium meliloti</i> (сейчас <i>Sinorhizobium meliloti</i>)	симбиотическая, фиксирует азот в клубеньках бобовых
BRUSU	<i>Brucella suis</i>	патогенная, вызывает бруцеллёз у свиней и человека
THIDA	<i>Thiobacillus denitrificans</i>	бактерия, окисляющая серу и участвующая в ее круговороте
YERPE	<i>Yersinia pestis</i>	возбудитель чумы
NEIMA	<i>Neisseria meningitidis</i>	возбудитель менингококкового менингита
POLAQ	<i>Polynucleobacter asymbioticus</i>	пресноводная свободноживущая

С помощью программы blastp по базе данных, составленной из протеомов данных бактерий, был проведен поиск гомологичных последовательностей ATP-зависимой Clp протеазы *E. coli*. Результаты ниже. E-value порогом брали 0.0001.

sp P0A6H1 CLPX_ECOLI	sp Q8ZC66 CLPX_YERPE	92.689	424	30	1	1	424	1	423	0.0	805	
sp P0A6H1 CLPX_ECOLI	sp Q3S199 CLPX_THIDA	77.349	415	88	4	1	413	1	411	0.0	642	
sp P0A6H1 CLPX_ECOLI	sp A45XD7 CLPX_POLAQ	71.494	435	94	4	7	413	8	440	0.0	613	
sp P0A6H1 CLPX_ECOLI	sp Q92Q02 CLPX_RHIME	71.499	407	113	3	9	415	12	415	0.0	596	
sp P0A6H1 CLPX_ECOLI	sp Q8UFY5 CLPX_AGRFC	70.531	414	119	3	9	422	12	422	0.0	596	
sp P0A6H1 CLPX_ECOLI	sp Q8G0I5 CLPX_BRUSU	69.565	414	123	3	9	422	11	421	0.0	586	
sp P0A6H1 CLPX_ECOLI	sp Q9JTX8 CLPX_NEIMA	69.212	406	117	2	15	413	8	412	0.0	557	
sp P0A6H1 CLPX_ECOLI	sp Q8ZJ5 HSLU_YERPE	45.000	100	54	1	66	165	5	103	1.76e-21	95.1	
sp P0A6H1 CLPX_ECOLI	sp Q8ZJ5 HSLU_YERPE	34.419	215	82	6	177	386	249	409	1.12e-20	92.8	
sp P0A6H1 CLPX_ECOLI	sp Q92TA7 HSLU_RHIME	45.098	102	55	1	66	167	5	105	1.10e-20	92.8	
sp P0A6H1 CLPX_ECOLI	sp Q92TA7 HSLU_RHIME	33.023	215	85	6	179	388	243	403	7.47e-20	90.5	
sp P0A6H1 CLPX_ECOLI	sp Q8UJ87 HSLU_AGRFC	46.078	102	54	1	66	167	5	105	1.94e-20	92.0	
sp P0A6H1 CLPX_ECOLI	sp Q8UJ87 HSLU_AGRFC	30.698	215	90	5	179	388	243	403	2.99e-18	85.5	
sp P0A6H1 CLPX_ECOLI	sp Q8FY12 HSLU_BRUSU	42.105	114	63	2	66	178	5	116	4.38e-20	90.9	
sp P0A6H1 CLPX_ECOLI	sp Q8FY12 HSLU_BRUSU	34.468	235	89	8	164	388	223	402	5.13e-19	87.8	
sp P0A6H1 CLPX_ECOLI	tr Q3SFW1 Q3SFW1_THIDA	33.475	236	91	7	177	407	245	419	1.44e-18	86.7	
sp P0A6H1 CLPX_ECOLI	tr Q3SFW1 Q3SFW1_THIDA	44.231	104	57	1	66	169	2	104	2.08e-17	83.2	
sp P0A6H1 CLPX_ECOLI	tr A0A5P8YB42 A0A5P8YB42_YERPE	25.000	188	93	7	28	192	148	310	1.80e-05	46.2	
sp P0A6H1 CLPX_ECOLI	tr A0A5P8YCE6 A0A5P8YCE6_YERPE	34.615	78	45	2	115	192	188	259	2.13e-05	45.8	
sp P0A6H1 CLPX_ECOLI	tr A0A0H3GCZ6 A0A0H3GCZ6_BRUSU	35.065	77	44	2	115	191	193	263	3.01e-05	45.4	
sp P0A6H1 CLPX_ECOLI	tr Q92M98 Q92M98_RHIME	35.065	77	44	2	115	191	194	264	3.09e-05	45.4	
sp P0A6H1 CLPX_ECOLI	tr Q7CT50 Q7CT50_AGRFC	35.065	77	44	2	115	191	194	264	3.53e-05	45.4	

Рис 2. Выдача blastp

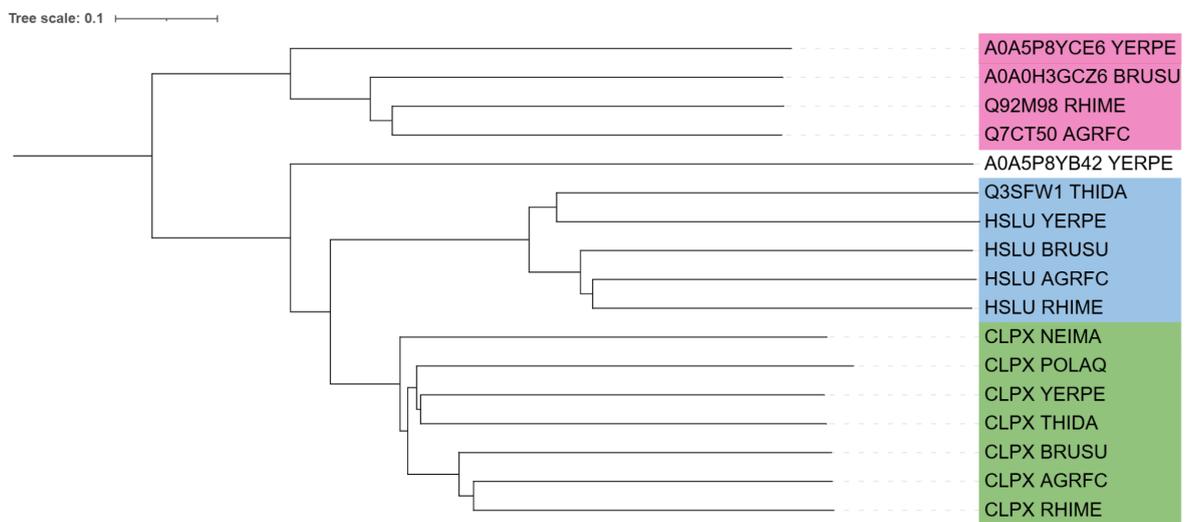


Рис 3. Филогенетическое дерево по гомологичным последовательностям к ATP-зависимой Clp протеазе. Окраска по ортологическим группам.

формула (Newick):

```
((A0A5P8YCE6_YERPE,(A0A0H3GCZ6_BRUSU,(Q92M98_RHIME,Q7CT50_AGRFC))),
(A0A5P8YB42_YERPE,(Q3SFW1_THIDA,(HSLU_YERPE,(HSLU_BRUSU,(HSLU_AGRFC,
HSLU_RHIME))))),
(CLPX_NEIMA,((CLPX_POLAQ,CLPX_YERPE,CLPX_THIDA),(CLPX_BRUSU,(CLPX_AGRFC,CLPX_RHIME))));
```

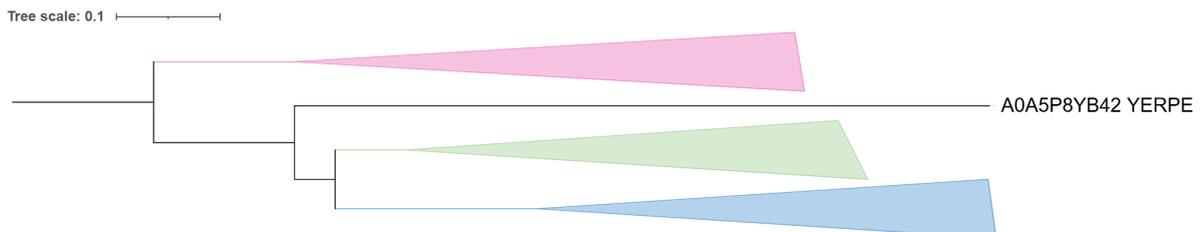


Рис 4. То же дерево, но ортологические группы схлопнуты

Если сравнивать наше дерево с полученным по таксономии, то у нас не произошло потери организмов. В розовой кладе YEPRE обозначен базальным, хотя это не так. Синяя клада целиком верная, HSLU это субъединица АТФазы протеасомного комплекса деградации. Зеленая клада за исключением ветки BRUSU целиком неверная.

Пары ортологичных белков: CLPX BRUSU:CLPX AGRFC, HSLU RHIME:HSLU YEPRE, CLPX THIDA:CLPX POLAQ.

Пары паралогичных белков: HSLU RHIME:CLPX RHIME, HSLU AGRFC:Q7CT50 AGRFC, HSLU YEPRE:CLPX YEPRE.