**ביולוגיה חישובית – פרויקט סוף קורס 2023**

אביב אלדד (311551477), אלחנן ששון (208272625),  
רוני פנדריך (208502849), שירן גלסר (208608174)

**חלק א' – איסוף ועיבוד מידע אודות גנום החיידק בצילוס סבטיליס**

1. **הכרת וספירת האלמנטים בגנום:**

מספר האלמנטים מכל אזור בגנום החיידק:

1. **אפיון אורכי הגנים:**

עבור כל גן חישבנו את אורכו והוספנו עמודה של האורך לDataFrame.

סטטיסטיקות על הגנים אשר מקודדים לחלבון:  
ממוצע – **874.5**7, מינימום – **63**, מקסימום – **16,467**, סטיית תקן – **797.17**.

סטטיסטיקות על הגנים אשר אינם מקודדים לחלבון:  
ממוצע – **324.12**, מינימום – **33**, מקסימום – **2,928**, סטיית תקן – **571.63**.

Chart

Description automatically generated**ההתפלגות עבור כל קבוצה:**

**מסקנות מהגרף:**

הגרף אכן תואם את מה שציפינו לקבל. ניתן לראות שאורך הגנים המקודדים לחלבון ארוכים יותר באופן משמעותי מהגנים אשר אינם מקודדים לחלבון. גנים המקודדים לחלבון צריכים להיות בעלי קידוד אחיד על מנת שיתורגמו לחומצות אמינו ולאחר מכן לחלבון, לכן אורכם לרוב יהיה ארוך יותר מגנים אשר אינם מקודדים לחלבון. לעומת זאת, גנים אשר אינם מקודדים לחלבון בד"כ יהיו רצפי בקרה המקשרים בין חלבונים, ולכן אורכם יהיה בד"כ קצר יותר.

1. **חישוב אחוז AT בגנים:**

ממוצע אחוז ה-AT בגנום החיידק (ברצף הגנום כולו): **56.49%**

עבור כל גן חישבנו את אחוז ה-AT שלו והוספנו עמודה המציגה אחוז זה לכל גן לתוך הdataframe של קובץ הGenBank.  
ממוצע אחוז ה-AT בגנים אשר מקודדים לחלבון: **56.88%**

מבחינה מתמטית התוצאות אכן תואמות את מה שצפינו מכיוון ש-93.4% מהגנום כולו מקודד לחלבונים. כלומר עבור 93.4% יש 56.88% AT ולכן ה6.6% הנותרים שאינם חלבונים לא השפיעו הרבה על ממוצע הרצף כולו.

**Chart, histogram

Description automatically generatedהתפלגות AT% בחלבונים:**

**חמשת הגנים עם אחוז הAT הגבוה ביותר:**

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **%AT** | **Length** | **Type** | **Strand** | **End** | | **Start** | | **Name** | | **No** | |
| 79.16667 | 168 | CDS | -1 | | 2699677 | | 2699509 | | BSU\_26360 | | **1** |
| 76.61692 | 201 | CDS | -1 | | 1905195 | | 1904994 | | BSU\_17700 | | **2** |
| 75.47893 | 261 | CDS | -1 | | 1901377 | | 1901116 | | BSU\_17670 | | **3** |
| 74.54955 | 444 | CDS | -1 | | 4036787 | | 4036343 | | BSU\_39290 | | **4** |
| 74.18546 | 399 | CDS | -1 | | 4132736 | | 4132337 | | BSU\_40210 | | **5** |

**חמשת הגנים עם אחוז הAT הנמוך ביותר:**

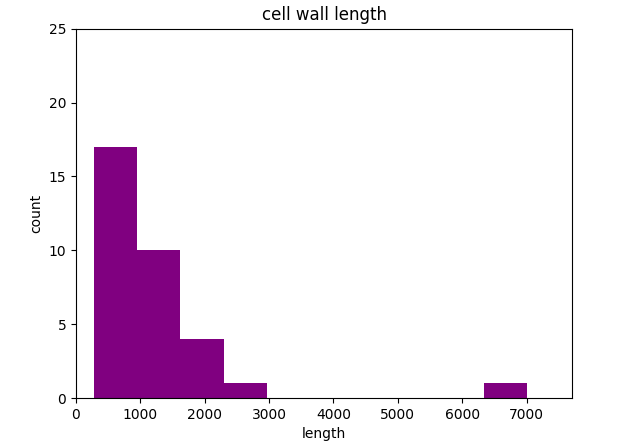
|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **%AT** | **Length** | **Type** | **Strand** | **End** | **Start** | **Name** | **No** |
| 32.87671 | 73 | tRNA | -1 | 3194527 | 3194454 | BSU\_tRNA\_86 | **1** |
| 34.21053 | 76 | tRNA | 1 | 11627 | 11551 | BSU\_tRNA\_6 | **2** |
| 34.21053 | 76 | tRNA | 1 | 32095 | 32019 | BSU\_tRNA\_9 | **3** |
| 34.21053 | 76 | tRNA | 1 | 96221 | 96145 | BSU\_tRNA\_20 | **4** |
| 34.21053 | 76 | tRNA | 1 | 166328 | 166252 | BSU\_tRNA\_28 | **5** |

**לא נתבקשנו אך החלטנו לציין ששמנו לב לממצאים הבאים:**  
החמישייה בעלת אחוז AT גבוה:  
- כולה בסטרנד השלילי  
- כולה חלבונים(CDS)   
- אורכם ארוך יותר מהחמישייה בעלת אחוז AT נמוך

החמישייה בעלת אחוז AT נמוך:  
- כמעט כולה בסטרנד החיובי  
- כולה מסוג tRNA  
- אורכם כמעט זהה וקצר יותר מהחמישייה בעלת אחוז AT גבוה

1. **גנים המכילים בתיאור cell wall:**

מספר הגנים אשר מכילים בתיאור את צמד המילים cell wall: 33

**סטטיסטיקות עבור אורך אותם 33 גנים:**

ממוצע: **1,180.82**  
מינימום: **276**  
מקסימום: **7,005**  
סטיית תקן: **1,160.46**

Chart, histogram

Description automatically generated**סטטיסטיקות עבור אחוז AT באותם 33 גנים**:

ממוצע: **56.89**  
מינימום: **47.79**  
מקסימום: **64.41**  
סטיית תקן: **3.68**

**מסקנות מהגרפים**

ניתן לראות שאורכי גנים מסוג זה אינו אחיד וסטיית התקן גבוהה. למרות זאת אחוז הAT שבהם די זהה וסטיית התקן יחסית נמוכה. כלומר אנו רואים שאחוז הAT בגנים אלו נשאר יחסית דומה בכולם ללא השפעה של אורך הגן.

1. **בדיקת עקביות בקובץ הדאטה:**

על מנת לבדוק את עקביות קובץ הדאטה השתמשנו בספריית Bio של פייתון.

**השיקולים לבדיקה שהגדרנו:**  
1. לבדוק האם רצף הגן מתחיל ב-start codon.

2. לבדוק האם רצף הגן מסתיים ב-stop codon ולא קיים כזה באמצע הרצף.

3. לבדוק האם אורך הרצף מתחלק ב-3

4. לבדוק האם התרגום נכון.

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Description** | **Table** | **Type** | **Strand** | **End** | **Start** | **Name** | **No** |
| Sequence length 1798 is not a multiple of three | 11 | CDS | -1 | 2161778 | 2159980 | BSU\_20040 | **1** |
| Extra in frame stop codon 'TGA' found. | 11 | CDS | -1 | 2165614 | 2162107 | BSU\_20060 | **2** |
| Sequence length 1102 is not a multiple of three | 11 | CDS | -1 | 3628240 | 3627138 | BSU\_35290 | **3** |

**חלק ב' – אנליזת חלבונים בעזרת אתר ה-UniProt**

1. **הצלבה בין החלבונים מGenBank לחלבונים בUniProt:**

את ההצלבה ביצענו על סמך העמודה (Gene Names (ordered locus)) באתר הUniProt. בחרנו בעמודה לאחר בדיקה של כמה עמודות אחרות של שמות הגנים. הגענו למסקנה שזו העמודה שהכי דומה לעמודת השמות בקובץ הGenBank, ובנוסף נראה שזו העמודה המלאה ביותר מבחינת ערכים. לאחר שבחרנו בעמודה, היה צורך לעשות הכנה של המידע לפני ההצלבה. ב UniPort היו כמה רשומות עם כמה מזהים לאותו חלבון והיה צורך לפצל, וב GenBank השם הופיע עם מקף תחתון.

**להלן סיכום ההבדלים:**

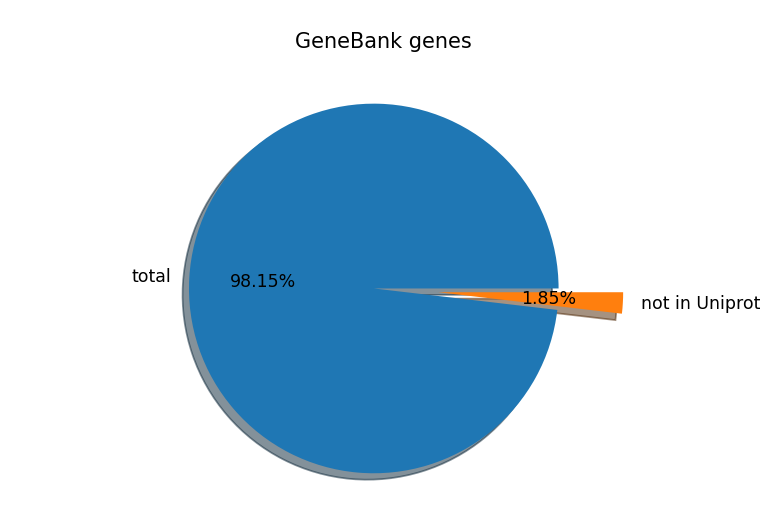
In UniProt and not in GenBank:

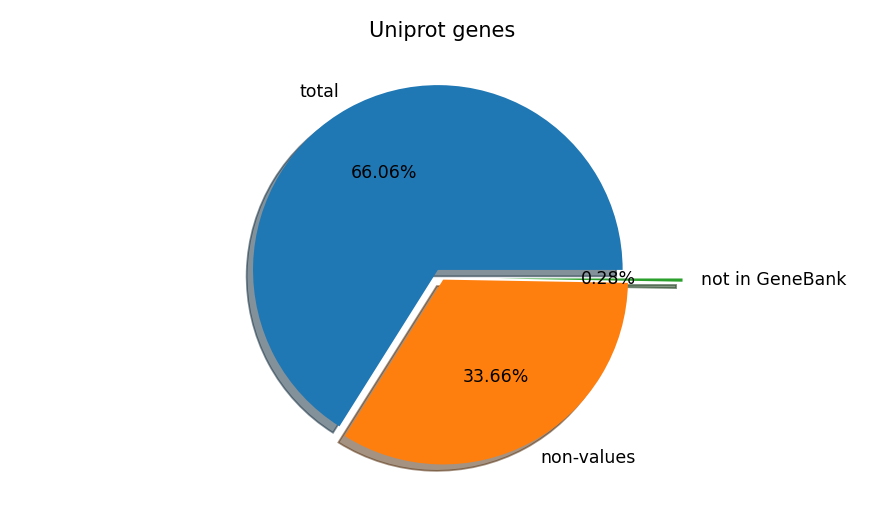
]'BSU12670', 'BSU28480', 'BSU25760', 'BSU06810', 'BSU22660', 'BSU11381', 'BSU39030', 'BSU06050', 'BSU16640', 'BSU13799', 'BSU07740', 'BSU20030', 'BSU16900', 'BSU35690', 'BSU23290', 'BSU34410', 'BSU18940', 'BSU33220', 'BSU35230', 'BSU03570', 'BSU26080', 'BSU02180', 'BSU35150', 'BSU13790', 'BSU35610', 'BSU01840', 'BSU26390', 'BSU34420', 'BSU16890', 'BSU40020', 'BSU18930', 'BSU11382', 'BSU16840', 'BSU18110', 'BSU07180', 'BSU26040'] **missing: 36, nan values: 4350, total: 8538**

In GenBank and not in UniProt:

]'BSU11525', 'BSU22036', 'BSU35678', 'BSU12671', 'BSU17099', 'BSU02585', 'BSU32539', 'BSU26826', 'BSU04345', 'BSU37089', 'BSU26827', 'BSU04745', 'BSU27085', 'BSU28645', 'BSU19745', 'BSU27035', 'BSU17715', 'BSU24205', 'BSU29479', 'BSU19915', 'BSU13545', 'BSU17679', 'BSU31725', 'BSU06812', 'BSU26449', 'BSU25565', 'BSU26399', 'BSU18978', 'BSU26569', 'BSU18595', 'BSU26935', 'BSU11800', 'BSU21925', 'BSU07735', 'BSU22205', 'BSU40358', 'BSU12815', 'BSU27009', 'BSU26305', 'BSU40022', 'BSU18275', 'BSU16845', 'BSU36739', 'BSU36215', 'BSU36668', 'BSU04536', 'BSU21058', 'BSU17845', 'BSU01790', 'BSU21638', 'BSU17689', 'BSU28709', 'BSU03385', 'BSU36575', 'BSU21639', 'BSU25875', 'BSU27185', 'BSU33221', 'BSU11515', 'BSU30466', 'BSU40576', 'BSU29845', 'BSU27786', 'BSU21409', 'BSU26075', 'BSU31289', 'BSU02785', 'BSU21546', 'BSU36079', 'BSU12875', 'BSU18596', 'BSU04849', 'BSU27935', 'BSU14568', 'BSU26055', 'BSU18689', 'BSU34399', 'BSU28475', 'BSU37569', 'BSU38495'] **missing: 80, nan values: 0, total: 4237**

**ובצורה ויזואלית:**



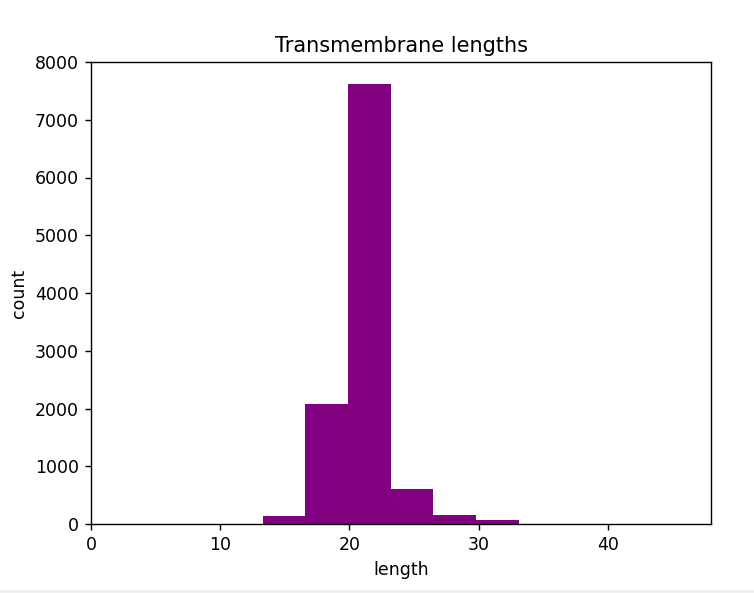


ההבדלים נובעים מהשוני בין האתרים (בעצם בין סוגי הקבצים והמידע). בעוד באתר UniPort מוצגים רק גנים שנחקרו ויש עליהם מידע, בGenBank מוצגים כל הרצפים שמקודדים לחלבון בגן.

1. **אפיון של רצפים** **טרנסממברנליים:**

בודדנו את הרשומות בהן העמודה של הרצף הטרנסממברנלי לא ריק, ובנינו DF חדש עבור הרצפים הטרנסממברנליים, כאשר לכל שורה פירקנו את הרצפים שהיו בה (היו כמה רצפים בכל שורה שכזו). לאחר מכן הוספנו את עמודת האורכים.

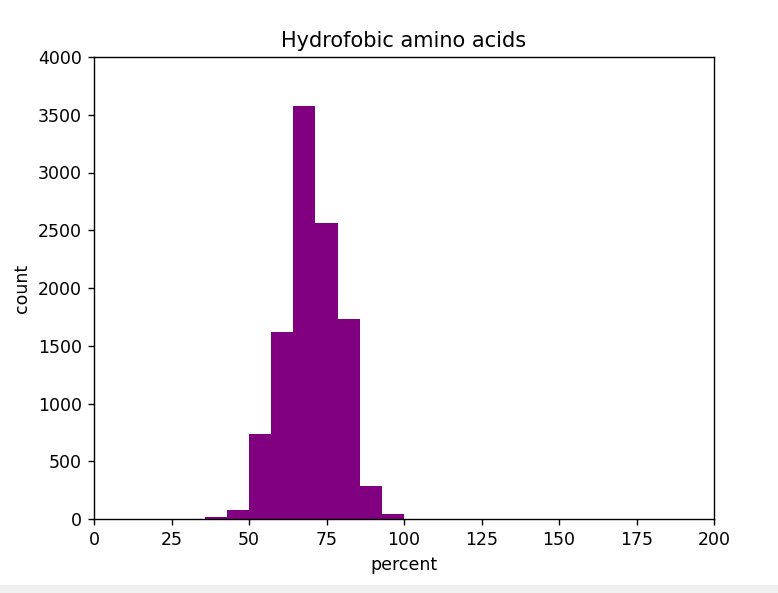
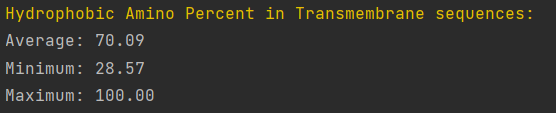
**התפלגות האורכים:**



**תמונה שמכילה טקסט

התיאור נוצר באופן אוטומטי**

**התפלגות אחוז חומצות האמינו ההידרופוביות:**



הממברנה של התא עשויה מפוספוליפידים, שבנויים מבחוץ מחומצות אמינו הידרופוליות, ומבפנים מחומצות אמינו הידרופוביות. על מנת שהחלבון יוכל לעבור בממברנה של התא, נצפה שיהיו אחוזים גבוהים של חומצות אמינו הידרופוביות ברצפים טרנסממברנליים, כמו שאכן קיבלנו, כלומר התוצאה אכן תואמת לציפייה. (https://en.wikipedia.org/wiki/Transmembrane\_domain)

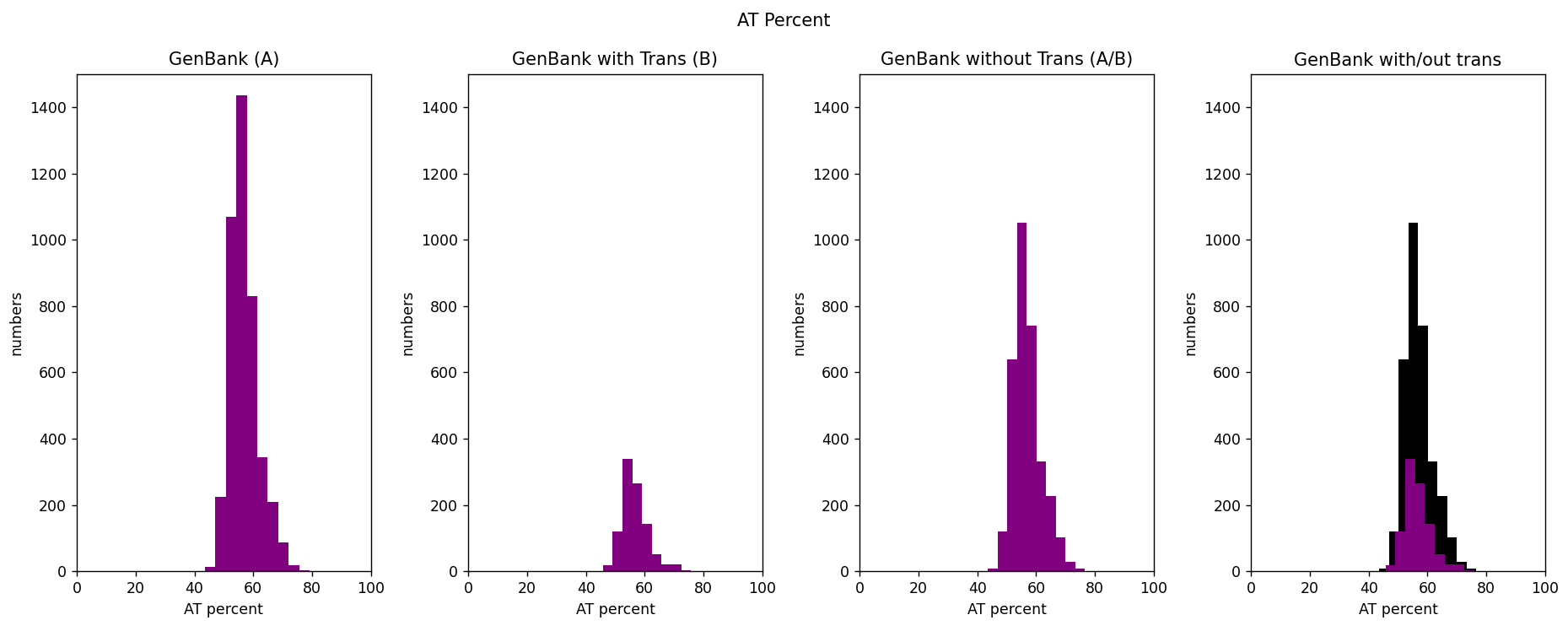
1. **התפלגות AT:**

**Chart, histogram

Description automatically generated**התפלגות אחוזי AT ברצפי CDS שנמצאו בחיתוך בין uniport לבין GenBank, שיש להם לפחות אזור טרנסממברנלי אחד:

**סטטיסטיקות עבור קבוצת גנים:**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **Standard deviation** | **Maximum** | **Minimum** | **Average** | **Name** |
| 4.74 | 79.17 | 43.56 | 56.88 | GenBank AT percent |
| 4.59 | 79.17 | 45.74 | 56.71 | GenBank with Transmembrane intersection AT percent |
| 4.78 | 76.62 | 43.56 | 56.93 | GenBank without Transmembrane intersection AT percent |

**התפלגות AT בכל הקבוצות:**

**חלק ג' – אנליזה מנקודת מבט אבולוציונית - וירוסים**

1. **ספירה של אתרים סינונימים בכל קודון:**

' }ATA': 0.667, 'ATC': 0.667, 'ATT': 0.667, 'ATG': 0.0, 'ACA': 1.0, 'ACC': 1.0, 'ACG': 1.0, 'ACT': 1.0, 'AAC': 0.333, 'AAT': 0.33,' AAA': 0.375, 'AAG': 0.375, 'AGC': 0.333, 'AGT': 0.333, 'AGA': 0.75, 'AGG': 0.667, 'CTA': 1.333, 'CTC': 1.0, 'CTG': 1.333, 'CTT': 1 .0, 'CCA': 1.0, 'CCC': 1.0, 'CCG': 1.0, 'CCT': 1.0, 'CAC': 0.333, 'CAT': 0.333, 'CAA': 0.375, 'CAG': 0.375, 'CGA': 1.5, 'CGC': 1.0, 'CGG': 1.333, 'CGT': 1.0, 'GTA': 1.0, 'GTC': 1.0, 'GTG': 1.0, 'GTT': 1.0, 'GCA': 1.0, 'GCC': 1.0, 'GCG': 1.0, 'GCT': 1.0, 'GAC': 0.333, 'GAT': 0.333, 'GAA': 0.375, 'GAG': 0.375, 'GGA': 1.125, 'GGC': 1.0, 'GGG': 1.0, 'GGT': 1.0, 'TCA': 1.286, 'TCC': 1.0, 'TCG':1.125, 'TCT': 1.0, 'TTC': 0.333, 'TTT': 0.333, 'TTA': 0.857, 'TTG': 0.75, 'TAC': 0.429, 'TAT': 0.429, 'TAA': 0.0, 'TAG': 0.0, 'TGC': 0.375, 'TGT': 0.375, 'TGA': 0.0, 'TGG': 0.0 }

1. **השוואה בין וירוס הקורונה מיוני 2021 לדצמבר 2022:**

MZ383039.1 (יוני 2021)

מספר הגנים: 54

מתוכם: 12 מקודדים לחלבון

OQ065689.1 (דצמבר 2022)

מספר הגנים: 54

מתוכם: 12 מקודדים לחלבון

ניכר כי לא היה שינוי בין שני רצפי וירוס הקורונה במהלך תקופת הזמן הזו. דבר זה הגיוני משום שלתהליכים אבולוציוניים משמעותיים לוקח בדרך כלל יותר משנה וחצי.

**שמות הגנים המשותפים לשני הוירוסים**

['S', 'ORF8', 'ORF7a', 'E', 'ORF10', 'ORF6', 'ORF7b', 'ORF3a', 'N', 'M', 'ORF1ab']

כלל הגנים משותפים לשני הרצפים, גם זה הגיוני בהתחשב בהפרשי הזמנים.

**חישוב מדד ה – dN/dS**

שיקולים שלקחנו בעת חישוב מדד הdN/dS:

* במידה ו-dN=0 וגם dS=0 הסקנו כי התרחשה סלקציה שלילית, משום שאם לא התרחשו מוטציות כלל זה מסמן לנו כי הרצף ככל הנראה חשוב, ומשום שלא התרחשו מוטציות ניתן להסיק כי לא התרחשה אדפטציה לרצף אשר תשמר ותחזק אותו בהתאם לאבולוציה.
* במידה ורק dS=0, הסקנו כי התרחשה סלקציה חיובית (משום שהיו יותר מוטציות א-סינונימיות ולכן הרצף שיפר את ה-fitness שלו(.
* סלקציה נייטרלית מתרחשת כאשר 0.95 <= dN/dS <=1.05

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Selection Type** | **dN/dS** | **dS** | **dN** | **Product** | **Id** | **Gene name** |
| negative | 0 | 0 | 0 | ORF10 protein | QWQ61276.1 | ORF10 |
| negative | 0 | 0 | 0 | ORF6 protein | QWQ61271.1 | ORF6 |
| negative | 0 | 0.0400095 | 0 | ORF7b | QWQ61273.1 | ORF7b |
| negative |  | 0 | 0.00394998 | membrane glycoprotein | QWQ61270.1 | M |
| negative | 0 | 0 | 0 | truncated ORF8 protein | QWQ61274.1 | EORF8 |

**הסבר קצר על הקודד:**

מכיוון שיש פונקציות החוזרות על עצמם בחלקים השונים, החלטנו להוסיף מחלקה שנקראת "general", בה שמרנו את הפונקציות הרלוונטיות לכלל המחלקות. בנוסף, מימשנו עבור כל חלק בפרויקט מחלקה משלו, כאשר בתכונות של כל מחלקה שמרנו את המשתנים אליהם ניגשות רוב הפונקציות (כמו למשל DF של קבצים רלוונטים)