**План текста к презентации**

**Участники:**

Дарья Халенёва, Полина Джелали, Владимир Пирогов, Григорий Буклей, Роман Шанин

**Введение**

Наш проект посвящен изучению филогенетики двух ферментов, способных разлагать пластик.

Полиэтилентерефталат (ПЭТ) широко используется во всем мире в пластмассовых изделиях, и его накопление в окружающей среде стало глобальной проблемой. Поскольку считалось, что способность ферментативно разлагать ПЭТ ограничена несколькими видами грибов, биоразложение еще не является жизнеспособной стратегией восстановления или переработки пластмасс.

Бактерии *Ideonella sakaiensis*, которая может использовать ПЭТ в качестве основного источника энергии и углерода, были обнаружены в ходе скрининга образцов почвы, воды и ила, взятых из места переработки бутылок, состоящих из ПЭТ, в городе Сакаи, Япония. При выращивании на ПЭТ этот штамм продуцирует два фермента — PETase и MHETase , способных гидролизовать ПЭТ с получением терефталевой кислоты и этиленгликоля.

Ученые обнаружили целое семейство генов, кодирующих похожие ферменты и выделили несколько таксонов бактерий, обладающих такими генами.

В своем проекте мы сперва воспроизвели исследование, которое ученые провели в 2016 году. Затем мы расширили его с учетом новых данных. Сначала мы произвели поиск гомологичных MHETase и PETase последовательностей в базе NCBI, как белковых, так и для нуклеотидных. Всего было обнаружено несколько тысяч всевозможных эстераз, поэтому необходимо было провести отбор и исключить далекие последовательности, а также дубликаты. Мы отобрали около 70 организмов для PETase и MHETase, с которыми был произведен дальнейший филогенетический анализ.

Исходя из филогенетического анализа, мы обнаружили, что ферменты PETase и MHETase у *Ideonella Sakaiensis*, хоть и относятся к семейству танназ, являются в своем роде уникальными, и имеют сходство порядка 50% со всеми остальными танназами близких организмов, что подтверждает более ранние исследования, которые проводились с целью установить филогенетическое положение этих ферментов.

Поэтому после проведения филогенетического анализа, мы приступили к изучению метагеномных данных. Был произведен поиск в нескольких базах, из которых была выбрана база NCBI как располагающая большим количеством метаданных. В результате мы обнаружили ряд метагеномов с высоким сходством с ферментами *Ideonella Sakaiensis*, отобранных преимущественно как океанические пробы или компостные пробы (Query Coverage > 80% для белковых данных).

Океанические пробы метагеномных данных были собраны в ходе экспедиций Института Крейга Вентера, и представляют огромный интерес, поскольку содержат множество ранее не описанных видов, среди которых могут находиться организмы, способные перерабатывать полиуглеродные цепи. На это указывает тот факт, что те метагеномы, которые были обнаружены нами, найдены на местах крупных экологических катастроф, например, на месте Большого Тихоокеанского Пятна, или в водах Саргассова моря, где было зафиксировано множество кораблекрушений, а также где наблюдаются такие явления как стоячее течение.

Компостные метагеномы в основном добыты в биореакторах (Вена) или в экспериментальном ботаническим саду (Германия).

На филогенетическом дереве найденные метагеномы расположились далеко от других ферментов, что дает основание предполагать, что они относятся к представителям потенциально нового семейства, которые могли приобрести способность разлагать пластмассы независимо.

**Вклад каждого участника:**

**Дарья Халенёва:** поиск в базе NCBI гомологов фермента MHETase , отбор организмов по нуклеотидным последовательностям, построение филогенетического дерева по нуклеотидным последовательностям для MHETase (MEGAX), поиск метагеномных данных, близких к MHETase, составление таблицы координат метагеномов, дополнение белкового филогенетического дерева MHETase метагеномными данными, изучение литературы о ферменте MHETase , визуализация деревьев

**Полина Джелали:** поиск в генбанке NCBI нуклеотидных последовательностей для воспроизведения дерева из статьи, поиск метагеномных данных для PETase, составление таблицы координат метагеномов, дополнение белкового филогенетического дерева PETase метагеномными данными, построение итогового филогенетического дерева по PETase, работа в <https://itol.embl.de/>

**Гриша Буклей**: поиск в генбанке NCBI нуклеотидных гомологов PETase, отбор различных последовательностей с помощью AliView, построение филогенетического дерева гомологов в MEGA X, построение дерева в <https://itol.embl.de/>, составление таблицы координат метагеномов

**Владимир Пирогов**: поиск в генбанке NCBI аминокислотных гомологов PETase, отбор различных последовательностей с помощью AliView, построение филогенетического дерева гомологов в MEGA X, построение дерева в <https://itol.embl.de/>, составление таблицы координат метагеномов.

**Роман Шанин:** поиск в генбанке NCBI аминокислотных гомологов MHETase, построение выравнивания в clustalW, построение филогенетического дерева гомологов в MEGA X, построение дерева в <https://itol.embl.de/>, визуализация метагеномов на карте.

**Результаты.**

1. С помощью данных из статьи воспроизвели дерево, которое в ней представлено.
2. Построили деревья по белковым и нуклеотидным последовательностям, сходным с нашими (покрытие - 75)
3. Провели поиск по метагеномным данным. Было обнаружено, что неопознанные микроорганизмы содержат похожие ферменты.
4. Установили географическую принадлежность бактерий семейства с помощью наложения географических координат для каждого типа PETase и MHETase. Что интересно, организмы оказались приурочены к таким местам, как Саргассово море и Большое Тихоокеанское пятно. В Европе эти организмы были обнаружены в экспериментальном ботаническом саду и в биореакторах.