Инструкции для выполнения проекта (ВШЭ, майнор, 2023)

Введение

Целью работы над проектом является изучение ранней эволюции белков, выполняющих различные эпигенетические модификации а клетках человека, методами сравнительной геномики.

Подготовка

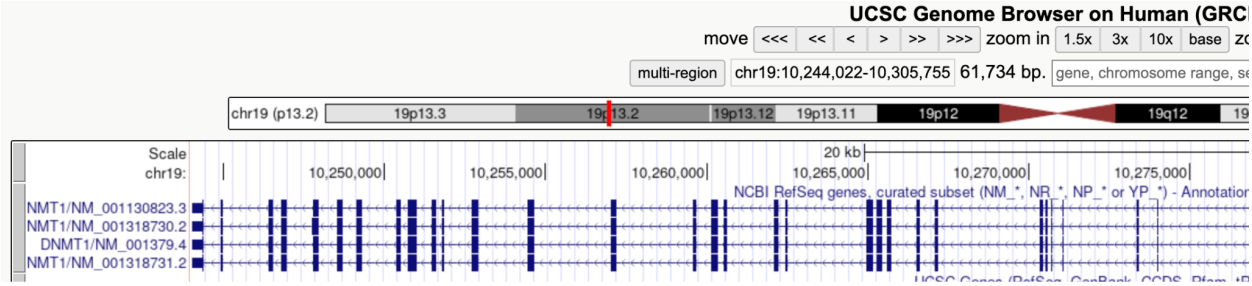
Из **таблицы** выбрать белок (-и), который делает какую-либо эпигенетическую модификацию в клетках человека, прописать название белка в таблицу (вкладка Project). При выборе эпигенетического белка имеет смысл ориентироваться на кол-во статей (неск сотен, а лучше больше 1000) по этому белку (или по комплексу, в состав которого данный белок входит) -- это можно проверить в БД NCBI (Pubmed) или Google Scholar. Сами статьи (если они в закрытом доступе) можно получить через ресурс https://sci-hub.ru/

Каждая группа готовит предварительную презентацию по введению в свою эпигенетическую модификацию (на основании литературного анализа):

- Таблица со списком участников группы (+выбранные белки и их функции)
- С какой модификацией связана функция выбранных белков
- Для каждого белка привести ссылку на статью, где сказано, что он действительно связан с этой модификацией (у всех белков группы должна быть одна и та же эпигенетическая модификация)
- В какие комплексы входят выбранные белки
- В каких тканях человека экспрессируются данные гены
    - См например БД NCBI Gene - https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/
    - БД GTEx https://gtexportal.org/home/gene/KDM6B
- Доменная структура выбранных белков
    - БД Pfam
    - БД NCBI conserved domains - https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi

Обязательная часть задания

- Скачиваем посл-ть белка из человека. Если у выбранного гена несколько изоформ, выбираем самый длинный белок, например для гена DNMT1:



RefSeq Gene DNMT1

RefSeq: NM_001318731.2 **Status:** Reviewed
Description: DNA methyltransferase 1, transcript variant 4
Molecule type: mRNA
Source: BestRefSeq
Biotype: protein_coding
Synonyms: ADCADN,AIM,CXXC9,DNMT,HSN1E,m.HsaI,MCMT
Other notes: isoform d is encoded by transcript variant 4
OMIM: 126375
Protein: NP_001305660.1
HGNC: 2976

DNA (cytosine-5)-methyltransferase 1 isoform a [Homo sapiens]

NCBI Reference Sequence: NP_001124295.1

Identical Proteins FASTA Graphics

Go to:

```
LOCUS       NP_001124295            1632 aa            linear   PRI 29-MAY-2023
DEFINITION  DNA (cytosine-5)-methyltransferase 1 isoform a [Homo sapiens].
ACCESSION   NP_001124295
VERSION     NP_001124295.1
DBSOURCE    REFSEQ: accession NM_001130823.3
KEYWORDS    RefSeq; MANE Select.
```

- Запускаем поиск BLASTp вашего белка против 11-ти протеомов
  - **Протеомы на сервере находятся тут /mnt/storage/project_2023/proteomes**
  - если делаете это через питоновский ноутбук, необходимо ставить ! в начале строки:

blastp -query YOUR_PROTEIN.fasta -db /mnt/storage/project_2023/proteomes/drosophila.faa -out drosophila.blast -outfmt 7

- В итоге получается 11 файлов с выдачей BLAST по каждому протеому

Выписать лучше (самые маленькие, первые по списку) E-value из каждого поиска в единую табличку -- желательно с помощью кода на Питоне (например в ноутбуке) . Если поиск не дал результатов, считаем, что E-value = 1 (те его log будет равен 0).

	human	mouse	..	Dropohilla	Yeast	Am	Inf
H2a	0	0		2.00E-69			
H2b							
H3							
H4							
YOUR_PROTEIN							

- Установка пакетов
    - При необходимости можно поставить модули питона командой:
        - pip3 install pandas
    - Либо создать окружение и ставить программы и модули туда:
        - conda install -c bioconda muscle
        -
- Конвертируем в -log(Evalue) -- Если evalue < 1e-300, то считать его 1e-300

	human	mouse	..	Dropohilla	Yeast	Am	Inf
H2a	300	300		69			
H2b							
H3							
H4							
YOUR_PROTEIN							

Анализ самих гистонов

- Каждый гистон может кодироваться несколькими генами (см https://en.wikipedia.org/wiki/Histone). Необходимо проверить, насколько они правда похожи друг на друга.
    - **Белковые посл-ти гистонов на серверена находятся тут:**
    - **/mnt/storage/project_2023/histones**
- Для этого предлагается скачать аминокислотные последовательности гистонов H2A, H2B, H3, H4, которые можно найти тут или на сервере в папке /mnt/storage/project_2023/histones. В файлах содержатся все аминокислотные последовательности, которые относятся к каждому гистону (включая разные изоформы генов). После скачивания необходимо провести выравнивание белковых последовательностей (например, с помощью программы MUSCLE, CLUSTAL, MEGAX), проанализировать получившиеся результаты, сделать выводы о том, являются ли эти гены копиями, и объяснить из-за чего могут быть различия. Результаты выравнивания и выводу нужно привести в репозитории в файле README.
    - путь к CLUSTAL на сервере

- Далее нужно выбрать по одной аминокислотной последовательности для каждого гистона и сопоставить их с модельными организмами. Для этого нужно выбрать одну белковую последовательность из соответствующего файла и сохранить ее в отдельный файл в формате fasta. Далее нужно запустить blastp для выбранного белка и выбранного организма (пример запуска blastp тут). Это необходимо проделать для каждого гистона и каждого организма.
- Получившиеся результаты нужно добавить на тепловую карту.
    a. В строках гистоны
    b. В столбцах -- протеомы (записывается название организма)
    c. Цвет ячейки -- -log(BLASTp evalue)
    d. **Порядок столбцов:**
        i. **многокл позвоночные -- human, mouse, zebrafish**
        ii. **многокл беспозвоночные -- c.elegans, drosophila**
        iii. **однокл эукартиоты -- ciliate, yeast**
        iv. **Археи -- methanocaldococcus, thermococcus**
        v. **бактерии -- e.coli, tuberculosis**
    e. Пример создания тепловой карты с помощью R-библиотеки ComplexHeatmap: https://github.com/vanya-antonov/article-chelatase/blob/master/images_R/heatmap_full.R
    f. Пример создания тепловой карты с помощью Python: https://colab.research.google.com/drive/1ec_IBTF6ElUfQzIBudq8R1tc-aYLOCMW?usp=sharing

Требования к отчету по индивидуальному заданию

1. Отчет оформлен на github в файле README.md
2. Краткое описание выбранного гена (эпигенетическая функция соотв белка, ссылки на статьи (по крайней мере 2), где указана его связь с эпигенетической меткой, где экспрессируется и тп)
3. Множественное белковое выравнивание каждого из 4-х гистонов (или скриншоты из программы просмотра этого выравнинваия, например AliVIew)
4. Таблички с E-value и -log(Evalue) для 4х гистонов и вашего белка (и 11 протеомов в столбцах)
5. Тепловая карта созданная по табличке -log(E-value)
6. Вывод о том, насколько рано в эволюции появился Ваш выбранный белок

Требования к финальной групповой презентации

- Объединить результаты по всем белкам группы и показать общую тепловую карту.
- Вывод о том, на каком этапе в эволюции (только у позвоночных, или беспозвоночные тоже имели данную модификацию или возможно даже у одноклеточных эукариот и тп). Полезно посмотреть статьи про эту модификацию у наиболее древних организмах.

Форма отчетности

Github репозиторий, содержащий все полученные результаты.

Последний срок сдачи: **воскресенье, 11 июня до 23:59** (будет отслеживаться по последнему коммиту в репозиторий).