

Analizando Datos de Proteómica (Ejercicio 9)

9.1 Explorar datos de proteómica en TriTrypDB.

<http://tritrypdb.org/tritrypdb/>

- a. Cuántos organismos contienen datos de espectrometría de masa en TriTrypDB? (pista: explorar la sección “Mass Spec. Evidence section”, encontrada dentro de “Protein expression”)

The image shows two parts of the TriTrypDB website interface. On the left is a navigation menu titled "Identify Genes by:" with a sub-header "Expand All | Collapse All". The menu items are: Text, IDs, Species; Genomic Position; Gene Attributes; Protein Attributes; Protein Features; Similarity/Pattern; Transcript Expression; Protein Expression; Mass Spec. Evidence; Cellular Location details; Putative Function; and Evolution. The "Protein Expression" and "Mass Spec. Evidence" items are circled in red. A red arrow points from this circle to the right-hand panel. The right-hand panel is titled "Identify Genes based on Mass Spec. Evidence" and contains a search form. It has a section for "Experiments" with a list of checkboxes for species: Trypanosoma cruzi, Trypanosoma brucei, Leishmania infantum, Leishmania major, Leishmania braziliensis, and Leishmania mexicana. Below this are input fields for "Minimum Number of Unique Peptide Sequences" and "Minimum Number of Spectra". At the bottom of the form are two checkboxes: "Give this search a weight" and "Give this search a name", and a "Get Answer" button.

- b. Qué clase de experimentos y estadíos de los parásitos se encuentran representados? (pista: expandir cada especie haciendo click en el signo “+”).

Identify Genes based on Mass Spec. Evidence

Experiments

- select all | clear all | expand all | collapse all
- Trypanosoma brucei
 - Trypanosoma brucei Anasigote¹
 - T. brucei Epimastigote¹
 - T. brucei Metacyclic¹
 - T. brucei Trypomastigote¹
 - T. brucei reservosome-B1 fraction digested with trypsin and endoprotease
 - Qiu C²
 - T. brucei reservosome-B1 fraction digested with trypsin³
 - T. brucei reservosome-B1M fraction digested with trypsin³
 - T. brucei/Proteomic Analysis of Detergent-Solubilized Membrane Proteins
 - Non Insect-Developmental Forms³
 - Trypanosoma brucei
 - T. brucei Procyclic Form³
 - Leishmania infantum
 - Anasigote
 - L. infantum Anasigote (1DGe)⁴
 - L. infantum Anasigote (2DGe pH9-9)⁴
 - L. infantum Anasigote (2DGe pH9-11)⁴
 - L. infantum Anasigote (Secreted)⁴
 - Promastigote
 - L. infantum Promastigote (2DGe pH9-9)⁴
 - L. infantum Promastigote (2DGe pH9-11)⁴
 - L. infantum Promastigote temperature and pH Control⁴
 - L. infantum Promastigote temperature and pH stressed⁴
 - L. infantum Promastigote (Secreted)⁴
 - Post-translational modification
 - L. infantum - glycosylated⁵
 - L. infantum - acetylated⁵
 - L. infantum - methylated⁵
 - L. infantum - phosphorylated⁵
 - Metacyclogenesis (pH 5-6)⁷
- select all | clear all | expand all | collapse all

Expand

9.2 Buscar todos los genes de *T. cruzi* con datos de espectrometría de masa.

- Cuántos genes de *T. cruzi* tienen datos de espectrometría de masa (mass spec)? (pista: seleccionar *Trypanosoma cruzi* en la lista de experimentos de Mass Spec explorada en el ejercicio 10.1).
- Cuántos genes del resultado en (a) tienen al menos 10 péptidos asociados? (pista: prueba revisando el paso en 'a' y cambia la opción "número mínimo de péptidos únicos" (minimum number of unique peptide sequences) a 10).

The image shows a screenshot of a bioinformatics workflow interface. On the left, a 'My Strategies' panel shows a 'Mass Spec' step selected. A red circle highlights the 'Mass Spec' step, and a red arrow points to the 'Revise Step' dialog box. The dialog box is titled 'Revise Step 1: Mass Spec. Evidence' and contains a list of experiments. A red arrow points to the 'Minimum Number of Unique Peptide Sequences' input field, which is set to 10.

My Strategies: New Oper

(Genes)

Mass Spec Step 1

Add Step

Filter results by species (results removed)

All Results	Ortholog Groups	Leishmania braziliensis	Leishmania infantum	Leishmania major
3069	1238	0	0	0

Mass Spec - step 1 - 3069 Genes

STEP 1: Mass Spec. Evidence

Experiments

- T. cruzi/ Esmeraldo-like Amastigote¹, T. cruzi/ Esmeraldo-like Epimastigote¹, T. cruzi/ Esmeraldo-like Metacyclic¹, T. cruzi/ Esmeraldo-like Trypomastigote¹, T. cruzi/ Esmeraldo-like reservosomes-B1 fraction digested with trypsin and endoprotease Glu-C⁵, T. cruzi/ Esmeraldo-like reservosomes-B1 fraction digested with trypsin⁵, T. cruzi/ Esmeraldo-like reservosomes-B1M fraction digested with trypsin⁵, T. cruzi/ Esmeraldo-like

Revise Step 1: Mass Spec. Evidence

Experiments

- Trypanosoma cruzi
- Trypanosoma brucei
- Leishmania infantum
- Leishmania major
- Leishmania braziliensis
- Leishmania mexicana

Minimum Number of Unique Peptide Sequences: 10

Minimum Number of Spectra: 1

Give this search a weight

Give this search a name

Rev Step

- Puedes expandir la lista de resultados obtenida en 'b' para incluir posible parálogos en *T. cruzi*? (pista: debes utilizar la opción "transformar en ortólogos" (Transform by Orthology) cuando agregues un paso y seleccionar solamente *T. cruzi*) - explora las columnas en el resultado.

My Strategies: [New](#) [Opened \(1\)](#) [All \(1\)](#) [Basket](#) [Examples](#) [Help](#)

(Genes)

[Mass Spec](#)
[Rename](#)
[Copy](#)
[Save As](#)
[Share](#)
[Delete](#)

Mass Spec
187 Genes
Step 1
Orthologs
268 Genes
Step 2
Add Step

Filter results by species (results removed by the filter will not be combined into the next step.)

All Results	Ortholog Group	Leishmania				Trypanosoma brucei				Trypanosoma congolense				Trypanosoma cruzi				Trypanosoma vivax
		brucei-like	infantum	major	newiana	Distinct genes	FREU927	strain 427	gabonense	Distinct genes	congolense	Distinct genes	cruzi-like	non-cruzi-like	unassigned			
268	89	0	0	0	0	0	0	0	0	167	120	133	3	0				

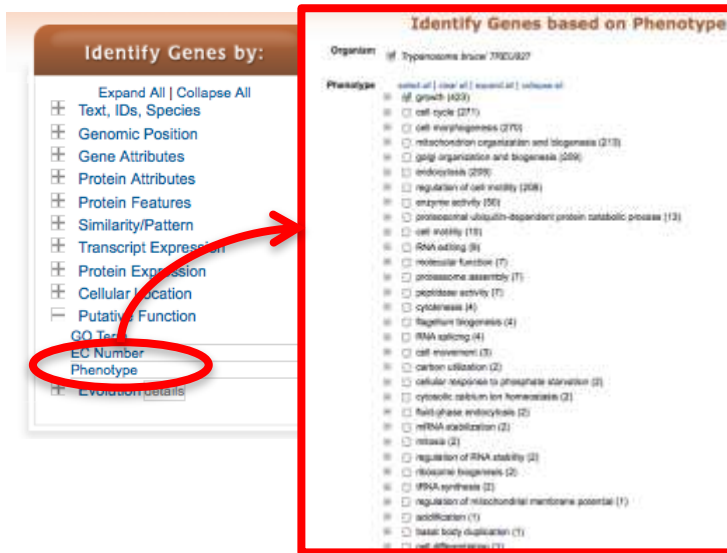
Mass Spec - step 2 - 268 Genes [Add 268 Genes to Basket](#) | [Download 268 Genes](#)

First 1 2 3 4 5 Next Last Advanced Paging [Select Columns](#) | [Reset Columns](#)

Gene Id	Organism	Genomic Location	Product Description	Input Ortholog(s)	Ortholog Group	Paralog count
T:00.1047053003573.9	T. cruzi CL Breiner Non-Eimeris-like	TcChr27-P 65,311 - 68,213 (-)	ATP-binding cassette transporter ABCA1, putative (ABCA1)	T:00.1047053508866.35, T:00.1047053510149.80	OGE_126568	2
T:00.1047050204149.20	T. cruzi CL Breiner Eimeris-like	TcChr27-S 65,311 - 70,583 (-)	ATP-binding cassette transporter ABCA1, putative (ABCA1)	T:00.1047053508866.35, T:00.1047053510149.80	OGE_126568	3
T:00.1047053004881.58	T. cruzi CL Breiner Eimeris-like	TcChr7-S 325,195 - 334,381 (+)	ABC transporter, putative	T:00.1047053508866.35, T:00.1047053510149.80	OGE_126568	3
T:00.1047053009989.30	T. cruzi CL Breiner Non-Eimeris-like	TcChr36-P 149,639 - 155,239 (-)	ABC transporter, putative	T:00.1047053508866.35, T:00.1047053510149.80	OGE_126568	2
T:00.1047053007099.80	T. cruzi CL Breiner Eimeris-like	TcChr14-S 482,567 - 498,377 (-)	ABC transporter, putative	T:00.1047053508866.35, T:00.1047053510149.80	OGE_126568	3
T:00.1047052610045.20	T. cruzi CL Breiner Non-Eimeris-like	TcChr7-P 335,301 - 335,487 (+)	ABC transporter, putative	T:00.1047053508866.35, T:00.1047053510149.80	OGE_126568	2
T:00.1047052610149.80	T. cruzi CL Breiner	TcChr36-S	ABC transporter, putative	T:00.1047053508866.35, T:00.1047053510149.80	OGE_126568	3

9.3 Proteínas con modificaciones postraduccionales.

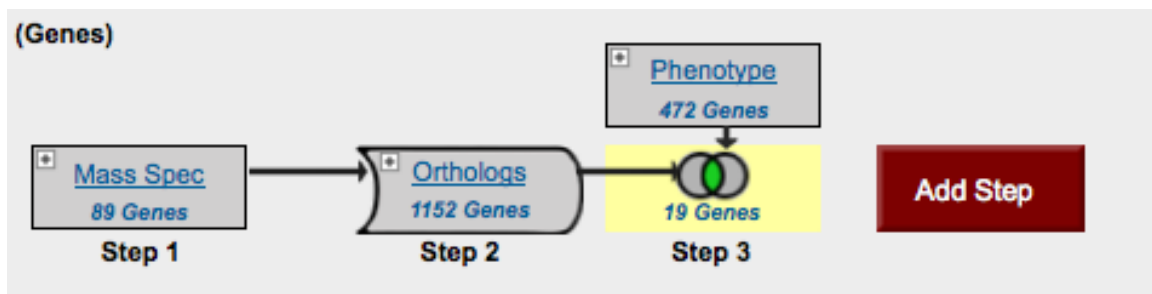
- Encuentra todos los genes cuyas proteínas tienen evidencia de modificación postraducciona en *L. infantum*. Cuántos obtienes?
- Cuántos tienen evidencia de fosforilación? (pista: revisa el paso de 'a' y selecciona la opción "fosforilación" (phosphorylation) solamente).
- Cuántos de éstos tienen alguna evidencia fenotípica? (pista: agrega un paso para fenotipo bajo la opción "Putative Function")



- Cuántos genes obtienes? No obtienes ningún gen? Por qué? (pista: de qué organismo provienen los datos de fenotipo?). Puedes hacer algo para obtener resultados? (pista: prueba buscar los ortólogos de *L. infantum* en otros kinetoplástidos).

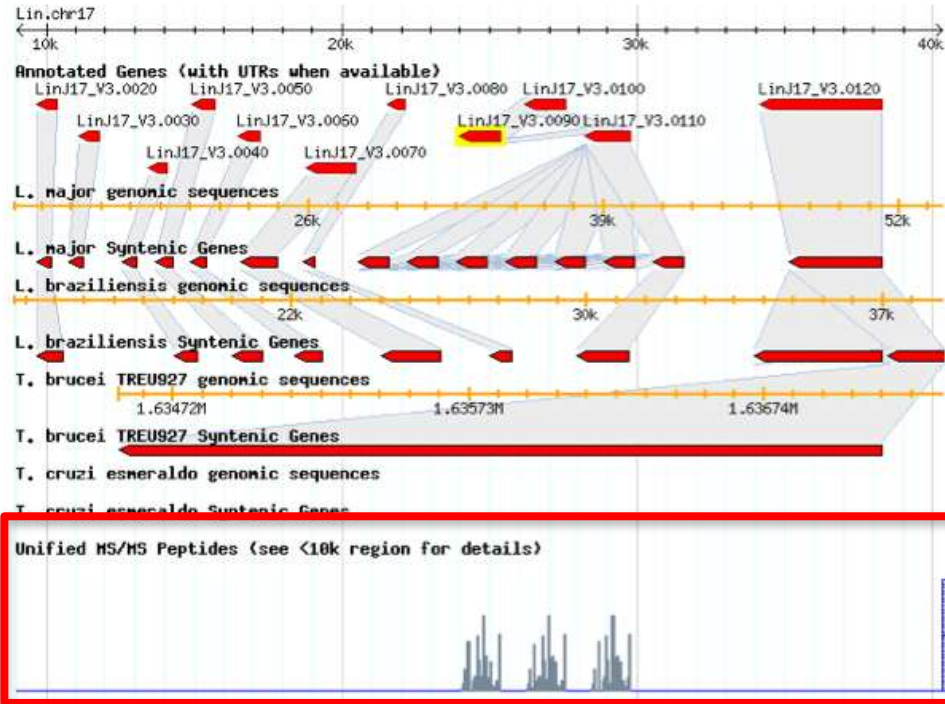
The screenshot shows the 'My Strategies' interface. At the top, there are tabs for 'New', 'Opened (1)', 'All (137)', 'Basket', 'Examples', and 'Help'. Below this, a workflow is shown with 'Mass Spec' as Step 1 and 'Phenotype' as Step 2. A red circle highlights the 'Mass Spec' step, and another red circle highlights the 'Orthologs' button in the top menu. A red arrow points from the 'Orthologs' button to a dialog box titled 'Insert Step Between 1 And 2: Orthologs of Genes in Previous Step'. This dialog lists several organisms with checkboxes: *Typanosoma cruzi*, *Leishmania braziliensis*, *Leishmania infantum*, *Leishmania major*, *Leishmania mexicana*, *Typanosoma brucei*, *Typanosoma congolense*, and *Typanosoma vivax*. Below the list is a 'Systemic Orthologs Only?' checkbox set to 'no'. A red box also highlights a smaller version of the workflow diagram at the bottom left, showing the 'Orthologs' step being added between 'Mass Spec' and 'Phenotype'.

- e. Cuántos genes obtienes? Qué sucede si revisas el primer paso para incluir todas las modificaciones postraduccionales?

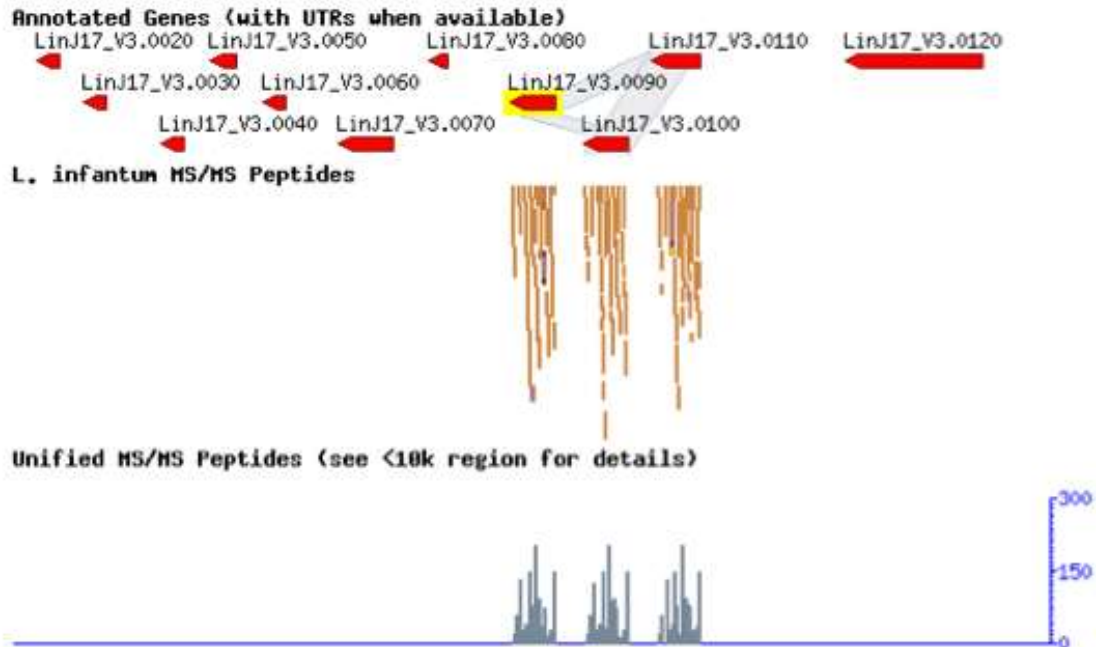


9.4 Hallar todos los genes con evidencia de “Mass Spec” en *L. infantum*.

- Encuentra todos los genes que tienen datos de “mass spec” en *L. infantum*. Cuántos obtienes?
- Cuál gen tiene el número más alto de péptidos? (pista: ordena según la columna con el número de péptidos “Number of Peptide Sequences”).
- Cuál gen tiene el número más alto de espectros? Es el mismo gen que tiene el número más alto de péptidos? Es el resultado razonable?
- Ve a la página de uno de los genes con el número más alto de péptidos hallados en el apartado b.
- Observa la sección (track) “Unified MS/MS Peptides” en la vista de contexto genómico (Genomic Context view). Qué te sugiere este gráfico?



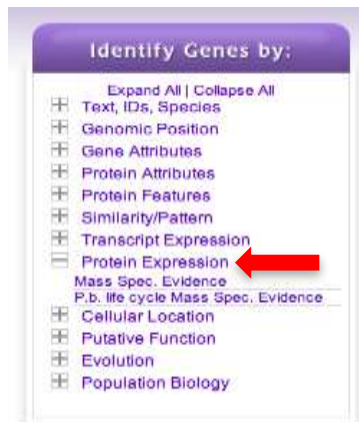
- f. Observa este gen en GBrowse y activa los tracks “MS/MS Peptides” y “Unified MS/MS Peptides” en *L. infantum*. (pista: si desactivas otros tracks podrás visualizar mejor). Se ve alguna correlación entre el gráfico y los péptidos?



9.5 Búsqueda de genes con evidencia de mass spec en gametocitos de *P. berghei*.

Nota: Para este ejercicio usar <http://www.plasmodb.org>

- a. Encuentra todos los genes de *P. berghei* que tienen datos de mass spec en gametocitos macho, hembra o ambos (recuerda que en este caso buscamos la unión, no la intersección de los resultados). (pista: la búsqueda de mass spec está en la sección “protein expression”).



- Cuántos genes obtienes? Cómo llegas a éste número?
- Trata de hacer la búsqueda de dos formas diferentes:
 - i. Selecciona las dos opciones: gametocito macho y hembra y ejecuta la búsqueda.
 - ii. Selecciona solo una de las dos opciones, ejecuta la búsqueda y agrega la otra usando el botón de agregar un paso (add step). (Cómo combinas los dos pasos? Obtienes el mismo resultado que en (i)?)
- b. Encuentra todos los genes que tienen evidencia de mass spec en gametocitos macho y hembra (es decir, la intersección). (pista: utiliza la estrategia desarrollada en (ii) para obtener esta respuesta, simplemente cambia la unión por la intersección, prueba a clicar en el simbolo union.).
- c. Busca los genes que tienen evidencia de mass spec en gametocitos macho solamente (pero NO en hembras). (pista: modifica la operación en b).
- d. Busca los genes que tienen evidencia de mass spec en gametocitos hembra solamente (NO en machos). (pista: modifica la operación en b).
- e.Cuál es el gen en gametocitos hembra con el mayor número de péptidos de mass spec? (pista: observa la columna con el número de péptidos en la lista).
- f. Cómo es la distribución de péptidos en el gen del resultado anterior? (pista: ve a la página del gen y busca la sección sobre características de la proteína “Protein features”, o ve al Gbrowse y activa los tracks necesarios).