

Explorando Evidencia 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 sidebar 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, and 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". It features an "Experiments" section with a "select all | clear all | expand all | collapse all" header and a list of species: *Trypanosoma cruzi*, *Trypanosoma brucei*, *Leishmania infantum*, *Leishmania major*, *Leishmania braziliensis*, and *Leishmania mexicana*. Below this are two input fields: "Minimum Number of Unique Peptide Sequences" and "Minimum Number of Spectra", both with a value of "1". At the bottom of the panel are two checkboxes: "Give this search a weight" and "Give this search a name", and a "Get Answer" button.

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

Identify Genes based on Mass Spec. Evidence

Experiments

- [View all | Clear all | Refresh all](#)
- Typhlocyba crux**
 - Typhlocyba crux Anaxigote 1
 - T. crux Epimastigote 1
 - T. crux Metastigote 1
 - T. crux Trypomastigote 1
 - T. crux reservoirs-B1 fraction digested with trypsin and endoprotease
- Glu-C**
 - T. crux reservoirs-B1 fraction digested with trypsin 1
 - T. crux reservoirs-B1M fraction digested with trypsin 1
 - T. crux Proteomic Analysis of Detergent Solubilized Membrane Proteins
- Non Insect Developmental Forms**
 - Typhlocyba crux 1
 - T. crux Procytic Form 2
- Leishmania infantum**
 - Anaxigote
 - L. infantum Anaxigote (2DGel) 4
 - L. infantum Anaxigote (2DGel pH8.8) 4
 - L. infantum Anaxigote (2DGel pH8-11) 4
 - L. infantum Anaxigote (Secreted) 4
 - Promastigote
 - L. infantum Promastigote (2DGel pH8-9) 4
 - L. infantum Promastigote (2DGel pH8-11) 4
 - L. infantum Promastigote temperature and pH Control 4
 - L. infantum Promastigote temperature and pH stressed 4
 - L. infantum Promastigote (Secreted) 4
 - Post-translational modification
 - L. infantum - glycosylated 4
 - L. infantum - acetylated 4
 - L. infantum - methylated 4
 - L. infantum - phosphorylated 4
- Mitocytogenesis (pH 5-8)**
 - [View all | Clear all | Refresh all | Refresh 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 screenshot shows a software interface for managing search strategies. The main window, titled 'My Strategies', has a 'Mass Spec' step selected, which is circled in red. A red arrow points from this step to a 'Revise' button, also circled in red. Below the strategy list, there is a table for filtering results by species:

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

The secondary window, titled 'Revise Step 1: Mass Spec. Evidence', shows a list of experiments and a filter for 'Minimum Number of Unique Peptide Sequences' set to 10. A red arrow points to this input field. The window also includes options for 'Minimum Number of Spectra' (set to 1) and buttons for 'Give this search a weight' and 'Give this search a name'. A 'Run Step' button is visible at the bottom.

- Puedes expandir la lista de resultados obtenida en 'b' para incluir posible parálogos en *T. cruzi*? (pista: debes utilizar la opción "transformar ortólogos" (ortholog transform) 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/panam | infantum | major | newiana | Distinct genes | FREU927 | strain 427 | gabonense | Distinct genes | congolense | Distinct genes | amazonensis | non-amazonensis | 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:001.1047053500573.9 | T. cruzi CL Breiner Non-Emeraldo-like | TcChr27-P 65,311 - 68,213 (-) | ATP-binding cassette transporter ABCA1, putative (ABCA1) | T:001.1047053500666.35, T:001.1047053510149.80 | OGE_126568 | 2 |
| T:001.10470535004149.20 | T. cruzi CL Breiner Emeraldo-like | TcChr27-S 65,311 - 70,583 (-) | ATP-binding cassette transporter ABCA1, putative (ABCA1) | T:001.1047053500666.35, T:001.1047053510149.80 | OGE_126568 | 3 |
| T:001.10470535004881.50 | T. cruzi CL Breiner Emeraldo-like | TcChr7-S 325,195 - 334,351 (+) | ABC transporter, putative | T:001.1047053500666.35, T:001.1047053510149.80 | OGE_126568 | 3 |
| T:001.1047053500999.30 | T. cruzi CL Breiner Non-Emeraldo-like | TcChr36-P 149,639 - 155,239 (-) | ABC transporter, putative | T:001.1047053500666.35, T:001.1047053510149.80 | OGE_126568 | 2 |
| T:001.1047053507099.80 | T. cruzi CL Breiner Emeraldo-like | TcChr14-S 482,567 - 498,377 (-) | ABC transporter, putative | T:001.1047053500666.35, T:001.1047053510149.80 | OGE_126568 | 3 |
| T:001.1047052610045.20 | T. cruzi CL Breiner Non-Emeraldo-like | TcChr7-P 335,301 - 335,487 (+) | ABC transporter, putative | T:001.1047053500666.35, T:001.1047053510149.80 | OGE_126568 | 2 |
| T:001.1047052610149.80 | T. cruzi CL Breiner | TcChr36-S | ABC transporter, putative | T:001.1047053500666.35, T:001.1047053510149.80 | OGE_126568 | 3 |

9.3 Proteínas con modificaciones postraduccionales.

- Encuentra todos los genes cuyas proteínas tienen evidencia de modificación postraduccionales 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")

The image shows a screenshot of a web interface for identifying genes based on phenotype. On the left, a sidebar titled "Identify Genes by:" lists various criteria. The "Phenotype" option is circled in red, and a red arrow points from it to the main panel. The main panel, titled "Identify Genes based on Phenotype", shows the organism "Trypanosoma brucei TRU9327" and a list of phenotype terms with checkboxes. The terms include: growth (423), cell cycle (271), cell morphogenesis (270), mitochondrion organization and biogenesis (213), golgi organization and biogenesis (209), endocytosis (208), regulation of cell motility (208), enzyme activity (50), proteasomal ubiquitin-dependent protein catabolic process (13), cell motility (10), RNA editing (9), molecular function (7), antennae assembly (7), peptidase activity (7), cytokinesis (4), flagellum biogenesis (4), RNA splicing (4), cell movement (3), carbon utilization (2), cellular response to phosphate starvation (2), cytosolic calcium ion homeostasis (2), fluid-phase endocytosis (2), miRNA stabilization (2), mitosis (2), regulation of RNA stability (2), ribosome biogenesis (2), RNA synthesis (2), regulation of mitochondrial membrane potential (1), acidification (1), basal body duplication (1), and cell differentiation (1).

- Cuántos obtienes? Obtienes cero genes? 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 kinetoplastidos).

My Strategies: New Opened (1) All (137) Basket Examples Help

(Genes)

Phenotype 472 Genes

Mass Spec 0 Genes

Step 1 Step 2

Add Step

Rename | View | Revise | Make Nested Strategy | Insert Step Before | Orthologs | Delete [x]

STEP 1 : Mass Spec. Evidence

Experiments : *L. infantum* - phosphorylated³

Minimum Number of Unique Peptide Sequences : 1

Minimum Number of Spectra : 1

Results: 17 Genes

Give this step a weight

Insert Step Between 1 And 2: Orthologs of Genes in Previous Step

Organism

- Trypanosoma cruzi*
- Leishmania braziliensis*
- Leishmania infantum*
- Leishmania major*
- Leishmania mexicana*
- Trypanosoma brucei*
- Trypanosoma congolense*
- Trypanosoma vivax*

select all | clear all

Syntenic Orthologs Only? no

TriTrypDB 2.1 March 12, 2010
©2010 The EuPathDB Project Team

Filter results by species (results removed by filters)

| All Results | Ortholog Groups | <i>Leishmania</i> | | |
|-------------|-----------------|---------------------|-----------------|--------------|
| | | <i>braziliensis</i> | <i>infantum</i> | <i>major</i> |
| 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

No results are retrieved

Optional In a search strategy, unions and inters

(Genes)

Mass Spec 17 Genes

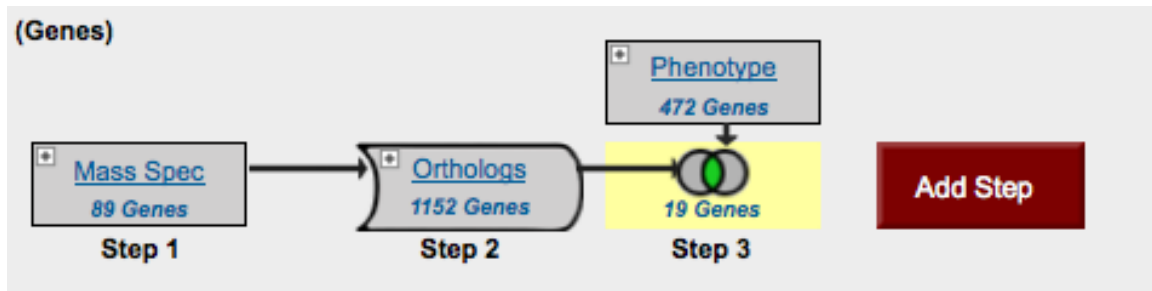
Orthologs 208 Genes

Phenotype 472 Genes

Step 1 Step 2 Step 3

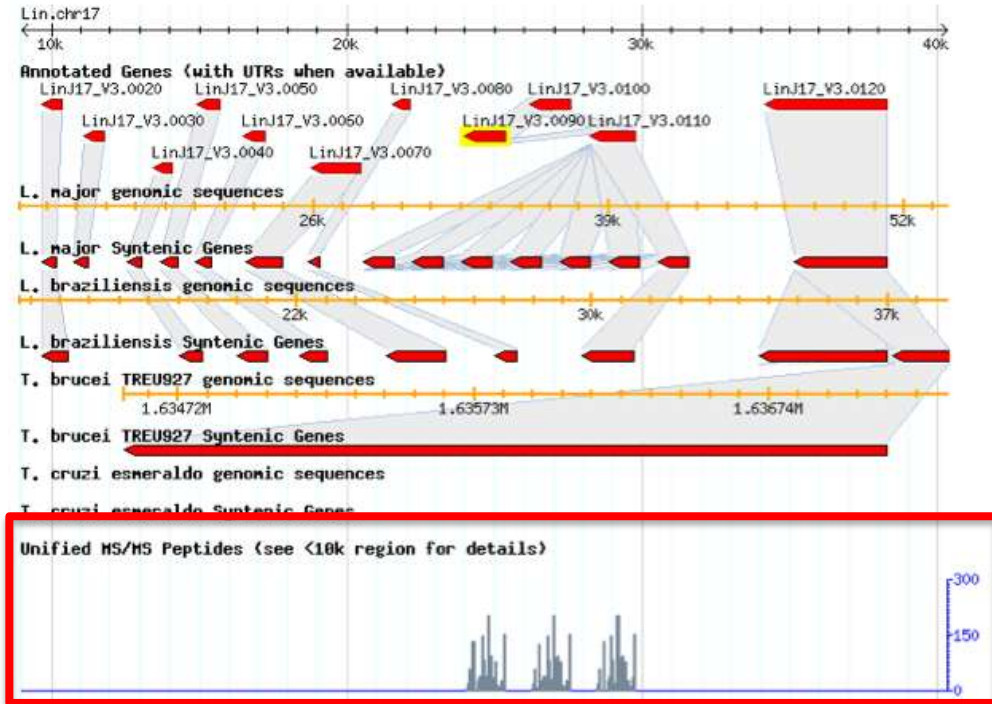
Add Step

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

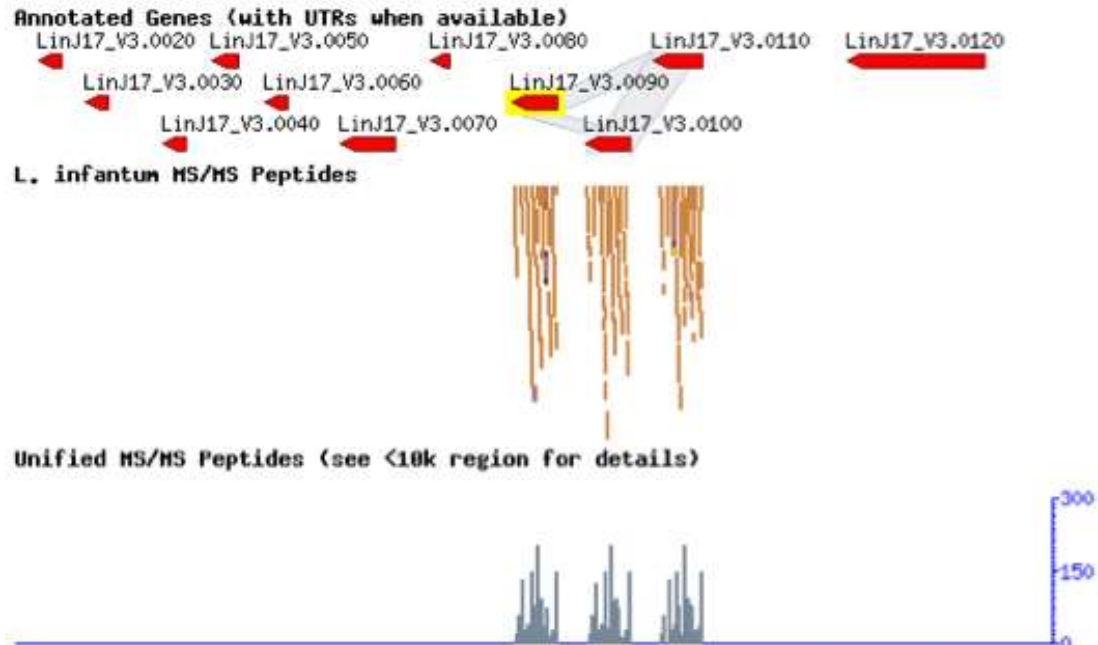


9.4 Hallar todos los genes con evidencia de Mass spec en *L. infantum*.

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



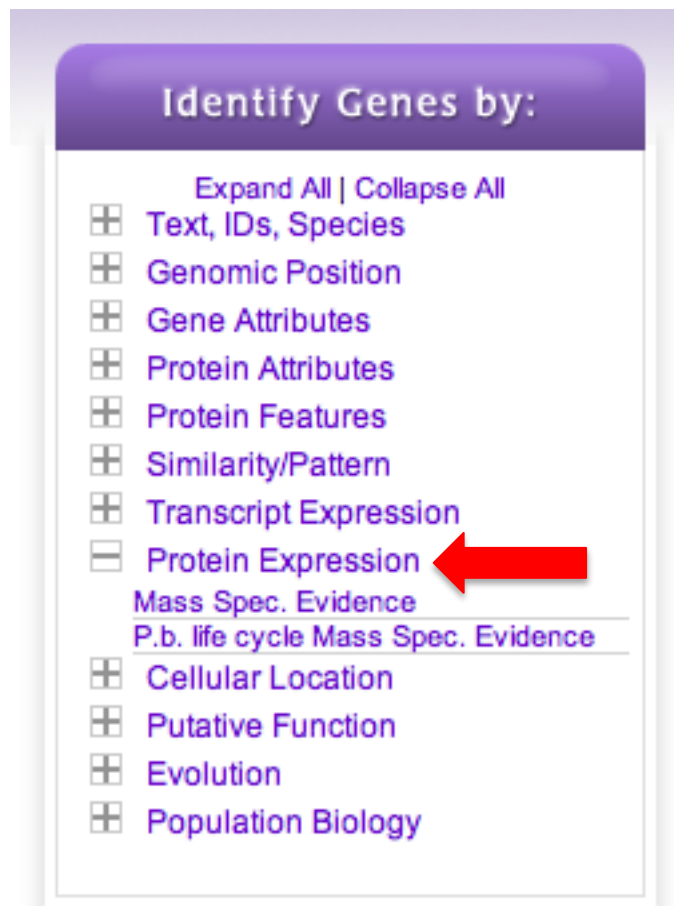
- f. Observa este gen en Gbrowse y activa los tracks “MS/MS Peptides” y “Unified MS/MS Peptides” en *L. infantum*. (pista: si desactivas otros tracks podrás visualizar mejor). Se ve alguna correlación entre el gráfico y los péptidos?



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).

- 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).