

Übungen zum Sequenzanalyse-Praktikum

Universität Bielefeld, SoSe 2014
Prof. Dr. Jens Stoye · M.Sc. Nina Luhmann · M.Sc. Linda Sundermann
<http://wiki.techfak.uni-bielefeld.de/gi/Teaching/2014summer/SequaPrak>
praktikum-seqan@CeBiTec.Uni-Bielefeld.DE

Übungsblatt 4 vom 05.05.2014
Abgabe des Protokolls bis Donnerstag, 08.05.2014

Aufgabe 1 (Berechnung der Schmelztemperatur)

Die Wallace-Regel für eine vereinfachte Berechnung der Schmelztemperatur T_M von PCR-Primern der Länge etwa 20 lautet:

$$T_M = 2 \cdot (A + T) + 4 \cdot (G + C).$$

1. Implementiere diese Funktion so, dass beim Aufruf mit einer DNA-Sequenz als einzigem Argument in der Kommandozeile die Schmelztemperatur gemäß der Wallace-Regel berechnet und ausgegeben wird. (Wiederum kann das Programm in einer Programmiersprache deiner Wahl geschrieben sein und muss als Quellcode abgegeben werden.)

Aufgabe 2 (Primer-Design mit GeneFisher2)

Software zum Primer-Design verwendet üblicherweise eine konkrete DNA-Sequenz als Muster für die generierten Primer. Mit der Web-basierten Software GeneFisher2 besteht die Möglichkeit, auch Regionen zu amplifizieren, deren DNA-Sequenz gar nicht bekannt ist. Dies geschieht, indem die entsprechenden Sequenzen von sehr nahe verwandten Organismen als Vorlage verwendet werden.

GeneFisher2 kann sowohl Aminosäure- als auch DNA-Sequenzen verarbeiten. Bei der Eingabe von Aminosäure-Sequenzen werden nacheinander drei Schritte ausgeführt: Alignment-Berechnung, Zurückrechnung der alignierten Aminosäure-Sequenzen in eine Konsensus-DNA-Sequenz und Primer-Design. Bei der Eingabe einer einzelnen DNA-Sequenz wird nur der dritte Schritt ausgeführt.

1. Das erfolgreiche Primer-Design mit GeneFisher2, speziell für Aminosäure-Sequenzen, hängt entscheidend von den richtigen Parametern für das Alignment, die Rückübersetzung und die Konsensus-Berechnung ab. Gehe zur Startseite von GeneFisher2 (<http://bibiserv.cebitec.uni-bielefeld.de/genefisher2>), verwende die Beispielsequenzen mit Standardparametern und starte das Programm. Erhältst du ein Ergebnis?
2. Verwende die in der Datei <http://bibiserv.cebitec.uni-bielefeld.de/sadr2/primerdesign/genefisher2/exercise1/hemoglobinBetaChain.fasta> enthaltenen DNA-Sequenzen des Hämoglobin-beta-Gens einiger Organismen und versuche, ein Paar von Primern für das nicht in diesem Datensatz enthaltene Yak zu berechnen. Probiere die verschiedenen Werkzeuge mit unterschiedlichen Parametern aus, bis du erfolgreich ein Ergebnis erzielt hast. Beschreibe deine Versuche und Ergebnisse.
3. Lade dir vom NCBI die DNA-Sequenz des Hämoglobin-beta-Gens des Yak (*Bos grunniens*) (Accession AB512667, GI:294459662) herunter. Ist es dir möglich, mit deinen Primern eine Region dieses Gens zu amplifizieren?

Aufgabe 3 (Primer Design mit Primer-BLAST)

Versuche, für die Yak-Sequenz aus Aufgabe 2, Teil 3, Primer mit der Software Primer-BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast>) zu erstellen.

1. Verwende zunächst Standardparameter. Wieso ist das nicht besonders sinnvoll?
2. Welche Einstellung erscheint dir sinnvoller? Was erhältst du als Ergebnis?