

Übungen zum Sequenzanalyse-Praktikum

Universität Bielefeld, WS 2020/21

Dr. Roland Wittler · M.Sc. Tizian Schulz

<http://gi.cebitec.uni-bielefeld.de/teaching/2020winter/sequaprak>

praktikum-seqan@CeBiTec.Uni-Bielefeld.DE

Übungsblatt 10 vom 19./20.01.2021

Abgabe bis Sonntag bzw. Montag, 24:00 Uhr.

Benutze für diesen Zettel *Clustal Omega* auf dem EBI Webserver: <http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/>.

Aufgabe 1 (MSA verwandter Sequenzen mit Clustal Omega)

1. Suche dir die Proteinsequenzen des Haemoglobin-Alpha-Gens des Menschen, der Hausmaus, der Schopffente, der Spitzschwanzente und des Atlantischen Lachses heraus. Verwende dazu die *Accession*-Nummern: *CAA00181.1*, *NP_032244.2*, *ACT80500.1*, *ACM67760.1* und *NP_001117134.1*.
2. Berechne mit den Sequenzen ein multiples Alignment mit *Clustal Omega* mit Standardeinstellungen. Beschreibe die Ausgabe kurz.
3. Als letzte Zeile im multiplen Alignment findest du verschiedene Zeichen. Welche sind es und was bedeuten sie?
4. Lasse dir jetzt die Farben im multiplen Alignment anzeigen. Was zeigen sie an? (Eine kurze Erklärung genügt.)
5. Auf der Ausgabenseite kann man einen phylogenetischen Baum der Sequenzen darstellen lassen. Dabei kann man zwischen den Optionen „Cladogram“ und „Real“ wählen. Wie unterscheiden sich die beiden Darstellungen voneinander?
6. Bilde die beiden phylogenetischen Bäume in deinem Protokoll ab. Ist die Haemoglobin-Sequenz des Menschen ähnlicher der von Vögeln oder der von Fischen? Woran kannst du das erkennen?

Aufgabe 2 (MSA weit verwandter Sequenzen mit Clustal Omega)

1. Suche dir nun die Proteinsequenz mit der *Accession*-Nummer *NP_001186363.1* heraus. Um was für eine Sequenz handelt es sich? Aligniere nun die fünf Haemoglobinsequenzen aus Aufgabe 1 zusammen mit dieser Sequenz.
2. Betrachte zunächst den *Phylogenetic Tree*. Welche Struktur hättest du erwartet?
3. Wie können die Parameter `--guidetree-in` bzw. `--profile1` und `--profile2` eingesetzt werden, um eine bestimmte Aliginierungs-Abfolge zu forcieren? Informiere dich dazu in der Dokumentation von Clustal Omega. (Die Webversion des EBI bietet diese Parameter nicht an.)

Aufgabe 3 (Untersuchung unbekannter Sequenzen)

Benutze für diese Aufgabe die Datei `unknown_query.fas`, die unter `/vol/seqan/Praktikum/Clustal0` im CeBiTec-System abgelegt ist.

1. Die Datei `unknown_query.fas` enthält vier bekannte und eine unbekannt Sequenz. Aligniere alle fünf Sequenzen mit *Clustal Omega*.
2. Zu welcher Sequenz hat die Query die höchste Ähnlichkeit? Um welche Sequenz handelt es sich bei dieser? Aus welchem Organismus stammt sie?
3. Was stellen die anderen drei Sequenzen dar und aus welchen Organismen kommen sie?
4. Wir wollen nun das Alignment genauer analysieren. Gehe auf die Seite *Results Viewers*. Dort findest du einen Link um dein Alignment mit Hilfe des externen Programms *Jalview* anzeigen zu lassen. JalView ist ein Programm mit grafischer Oberfläche, das dir zusätzlich zum Alignment auch die Konservierung und die Qualität des Alignments anzeigt. Mit Hilfe von *Java Web Start* (`/vol/java-10/bin/javaws`) kannst du die Datei `/vol/seqan/Praktikum/Clustal0/jalview.jnlp` ausführen, um Jalview zu starten. Lade dann deine Ergebnisse, indem du sie über den Link in Jalview importierst. Beschreibe kurz, was du siehst (ca. fünf Sätze genügen).

5. Um was für eine Sequenz wird es sich bei der Query wahrscheinlich handeln? Kannst du deine Vermutung mit BLAST bestätigen? Welche Sequenz findest du?