

Übungen zum Sequenzanalyse-Praktikum

Universität Bielefeld, WS 2023/24
Dr. Roland Wittler · M. Sc. Leonard Bohnenkämper
<https://gi.cebitec.uni-bielefeld.de/teaching/2023winter/sequaprak>
praktikum-seqan@CeBiTec.Uni-Bielefeld.DE

Übungsblatt 4 vom 07.11.2023
Abgabe bis Sonntag, 24:00 Uhr.

Benutze für diesen Zettel *Clustal Omega* auf dem EBI Webserver: <https://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. Zusätzlich zum phylogenetischen Baum enthält die Ausgabe von Clustal Omega auch den benutzten *Guide Tree*. Erkläre kurz, wozu Clustal Omega einen Guide Tree verwendet.
4. Vergleiche nun den phylogenetischen Baum und den Guide Tree. Inwiefern unterscheiden sie sich? Welcher Baum entspricht eher deiner Erwartung?

Aufgabe 3 (Untersuchung unbekannter Sequenzen)

Benutze für diese Aufgabe die Datei *unknown_query.fas*, die unter `/prj/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. Unter <https://www.jalview.org/> wird über *JalviewJS* eine Webversion des Tools angeboten. Lade 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?