生物信息学课程设计题目(2009级)

伊现富

2013年11月19日

名称: 基于 EMBOSS 平台对 *** 基因进行序列分析

总学时: 36

学分: 2

对象: 生物医学工程系生物技术与生物信息专业本科生

指导教师: 伊现富

课程设计目的: 在学习分子生物学、生物计算技术、生物网络数据库、生物信息学课程的基础上,培养学生实际进行核酸序列和蛋白质序列分析的能力。此题目旨在帮助学生熟悉强大的 EMBOSS 生物信息学分析平台,并使用此平台进行基因序列与蛋白质序列的常规分析。

实验内容

- 1. 从 NCBI Gene 数据库中获取自己感兴趣的基因的 DNA 序列。
- 2. 基因的核苷酸序列分析。
 - (a) 统计该基因 DNA 序列的基本信息,如:长度、单核苷酸与二核苷酸的数目及 频率、GC 含量,等。
 - (b) 找出该基因 DNA 序列中的 CpG 岛。
 - (c) 提取该基因的编码区序列。
 - (d) 分析编码区序列的密码子使用频率。
 - (e) 寻找该基因序列中的 ORF, 与真实的编码区进行比较。
- 3. 将编码区核苷酸序列翻译成氨基酸序列。
- 4. 蛋白质的氨基酸序列分析。

- (a) 对翻译得到的蛋白质进行基本的理化性质分析。
- (b) 寻找蛋白质中的功能与结构基序。
- (c) 预测蛋白质的二级结构。
- 5. 利用所有结果、分析该基因的生物学功能与特性。

技术指标

- 1. 下载基因的 GenBank 格式的序列文件。
- 2. 利用 GenBank 文件中的注释信息,解读基因的基本信息(如基因全名、长度,所属物种,染色体定位,外显子、内含子等特征的位置,等)。
- 3. 基因的核苷酸序列分析结果。
 - (a) 基因 DNA 序列的单核苷酸、二核苷酸频率, GC 含量等统计结果。
 - (b) CpG 岛的预测结果及说明。
 - (c) 基因编码区序列的 GenBank 格式文件。
 - (d) 编码区的密码子使用频率与偏性分析。
 - (e) 基因 ORF 预测结果及其分析。
- 4. 基因编码区翻译后的氨基酸序列文件。
- 5. 蛋白质的氨基酸序列分析结果,即:蛋白质基本理化性质、基序及二级结构的分析结果。
- 6. 整合上述数据,分析基因的生物学功能与特性。
- 7. 课程设计报告书: (1) 名称; (2) 目的和任务; (3) 实验步骤; (4) 实验结果; (5) 实验结果分析和讨论。
- 8. 课程设计答辩的 PPT 文件 (答辩时间 5 分钟)。

实验步骤

- 1. 打开 NCBI Gene 数据库,在搜索栏中输入基因名 *G*;在搜索结果中点击某个物种 *S* 的链接,进入 *S* 物种 *G* 基因的信息界面;下拉至 NCBI Reference Sequences (RefSeq)项目,找到紧邻其下的 Genomic 子项目,点击其中的 GenBank;在新页面的右侧点击 Send:,选择 File 后,点击 Create File 下载 *G* 基因的 GenBank 格式的 DNA 序列。
- 2. 对基因的 DNA 序列进行分析。打开 EMBOSS explorer 界面。
 - (a) 组成成分分析。找到 NUCLEIC COMPOSITION 分组。

- i. 使用程序 compseq 对 DNA 序列的基本组成成分进行分析。在 Input section 项目中,使用 upload 上传上一步从 NCBI 下载的 GenBank 格式的 DNA 序列;在 Required section 项目中,把 word size 分别设成 1、2;其他参数默认,或者自行调整;最后,点击 Run compseq 获得组成成分分析结果。
- ii. 尝试使用程序 wordcount 进行类似的组成成分分析。尝试使用程序 chaos 和 density 将组成成分结果可视化。
- (b) GC 含量分析。找到 NUCLEIC CPG ISLANDS 分组。使用程序 geecee对 DNA 序列的 GC 含量进行分析。与前述类似,以上传文件的方式提交 DNA 序列,之后点击Run geecee 得到 DNA 序列的 GC 含量。
- (c) CpG 岛分析。找到 NUCLEIC CPG ISLANDS 分组。
 - i. 使用程序 newcpgreport 寻找 DNA 序列中的 CpG 岛。上传 DNA 序列文件 后,调整相应参数,点击 Run newcpgreport 得到 CpG 岛的预测结果。
 - ii. 使用程序 cpgplot 直观观察 CpG 岛的预测结果。上传 DNA 序列并调整参数,点击 Run cpgplot 得到图形化的 CpG 岛预测结果。
 - iii. 尝试使用程序 cpgreport 和 newcpgseek 进行类似的 CpG 岛分析。
- (d) 提取 CDS 序列。找到 FEATURE TABLES 分组。
 - i. 使用程序 coderet 提取基因中的 CDS 序列。上传 DNA 序列文件并调整输 出格式为 Genbank, 点击 Run coderet 得到该基因 Genbank 格式的 CDS 序列。将其保存至本地以备后用。
 - ii. 尝试使用程序 extractfeat 提取 CDS 序列。尝试使用程序 showfeat 将整个基因的特征可视化。
- (e) 编码区密码子分析。找到 NUCLEIC CODON USAGE 分组。
 - i. 使用程序 cusp 计算 CDS 序列中密码子的使用频率。上传上一步保存的 CDS 序列文件,点击 Run cusp 得到 CDS 序列的密码子使用频率。
 - ii. 尝试使用程序 syco 对 CDS 序列中的同义密码子使用频率进行分析。
- (f) ORF 预测与分析。找到 NUCLEIC GENE FINDING 分组。
 - i. 使用程序 getorf 找到基因中的 ORF。上传基因的 DNA 序列并调整参数, 点击 Run getorf 获得全部的 ORF 序列。
 - ii. 使用程序 plotorf 和 showorf 将基因中的 ORF 以图形方式直观显示出来。
 - iii. 将上述步骤的 ORF 序列结果与图形结果结合起来,并与基因实际的 CDS 进行比较。

- 3. 翻译 CDS 序列。找到 NUCLEIC TRANSLATION 分组。使用程序 transeq 把 CDS 核苷酸序列翻译成氨基酸序列。上传 CDS 序列,调整参数与输出格式后,点击 Run transeq 得到翻译后的氨基酸序列。将其保存以备后用。
- 4. 对蛋白质的氨基酸序列进行分析。
 - (a) 组成成分与理化性质分析。找到 PROTEIN COMPOSITION 分组。
 - i. 使用程序 pepstats 分析蛋白质的基本理化性质。上传翻译得到的氨基酸序列,调整参数后点击 Run pepstats 得到蛋白质的基本理化性质信息。
 - ii. 使用程序 compseq 查看蛋白质的基本组成成分。
 - iii. 使用程序 iep 计算蛋白质的等电点。
 - iv. 尝试使用程序 charge 获得每个氨基酸的带电量数据。尝试使用程序 octanol 和 pepwindow 对蛋白质的疏水性进行可视化。尝试使用程序 pepinfo 对蛋白质氨基酸残基的极性进行分析。尝试使用 DISPLAY 分组中 的程序 pepnet 和 pepwheel 对蛋白质氨基酸残基的亲水性和疏水性进行可视化。
 - (b) 基序分析。找到 PROTEIN MOTIFS 分组。
 - i. 使用程序 sigcleave 寻找蛋白质中的信号切割位点。上传蛋白质序列后调整参数,点击 Run sigcleave 找到蛋白质的信号切割为点。
 - ii. 使用程序 sigcleave 寻找蛋白质中的信号切割位点。上传蛋白质序列后调整参数,点击 Run sigcleave 找到蛋白质的信号切割为点。
 - iii. 使用程序 helixturnhelix 寻找蛋白质上的核苷酸结合基序。上传蛋白质序列后调整参数,点击 Run helixturnhelix寻找蛋白质上的核苷酸结合基序。
 - iv. 尝试使用此分组中的其他程序(如: antigenic)寻找更多的功能与结构基序。
 - (c) 结构分析。找到 PROTEIN 2D STRUCTURE 分组。
 - i. 使用程序 garnier 预测蛋白质的二级结构。上传蛋白质序列后调整参数, 点击 Run garnier 预测得到蛋白质的二级结构。
 - ii. 使用程序 tmap 预测蛋白质中的跨膜片段。上传蛋白质序列后,点击 Run tmap 预测得到蛋白质中的跨膜片段。
 - iii. 尝试使用此分组中的其他程序预测蛋白质的二级结构。
- 5. 整合上述所有结果、分析基因 G 的生物学功能、特性等。

学时分配

设计讲解: 2 学时

实验: 18 学时

总结和课程设计报告: 12 学时

答辩: 4学时

总共: 36 学时

地点: 教一楼 205 室生物信息学实验室

资源网站

1. EMBOSS 官网: http://emboss.sourceforge.net/

- 2. EMBOSS explorer: http://emboss.bioinformatics.nl/; http://bioinfo.nhri.org.tw/gui/; http://genome.csdb.cn/emboss/
- 3. EMBOSS GUI: http://anabench.bcm.umontreal.ca/html/EMBOSS/; http://bips.u-strasbg.fr/EMBOSS/
- 4. NCBI Gene: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene

名称: 基于 Galaxy 平台分析 *** 物种基因在基因组中的分布

总学时: 36

学分: 2

对象: 生物医学工程系生物技术与生物信息专业本科生

指导教师: 伊现富

课程设计目的: 在学习分子生物学、生物计算技术、生物网络数据库、生物信息学课程的基础上,培养学生分析大规模基因组数据的能力。此题目旨在帮助学生熟悉易用、强大且日渐流行的 Galaxy 生物信息学分析平台,并使用此平台处理基因组数据,分析基因在每条染色体上的分布情况。

实验内容

- 1. 选择合适的物种 S。
- 2. 熟悉 Galaxy 界面。
- 3. 获取该物种基因组范围的基因信息和每条染色体的长度。
- 4. 计算每条染色体上的基因数目。
- 5. 计算每条染色体上的基因密度。
- 6. 绘制条形图将数据结果可视化。
- 7. 结合数据表格和条形图分析结果。

技术指标

- 1. 基因组范围的基因数据。
- 2. 基因组上每条染色体的长度。
- 3. 每条染色体上的基因数目。
- 4. 每条染色体上的基因密度。
- 5. 基因数目与基因密度的条形图。
- 6. 对所得结果的分析与理解。
- 7. 课程设计报告书: (1) 名称; (2) 目的和任务; (3) 实验步骤; (4) 实验结果; (5) 实验结果分析和讨论。
- 8. 课程设计答辩的 PPT 文件 (答辩时间 5 分钟)。

实验步骤

- 1. 选择完成基因组测序且注释比较完善的物种,如:人、小鼠,等。1
- 2. 打开 Galaxy Test 主页,熟悉其界面布局。
- 3. 获取基因与染色体信息数据。
 - (a) 获取基因信息。
 - i. 获取数据。打开 Galaxy 的 Get Data 分组,点击 UCSC Main 进入 UCSC Table 界面。在 UCSC Table 界面中,clade 选择 Mammal、genome 选择 Human、assembly 选择 Feb. 2009 (GRCh37/hg19)、group 选择 Genes and Gene Prediction Tracks、track 选择 RefSeq Genes、table 选择 refGene、region 点选 genome、output format 选择 BED browser extensible data、Send output to 勾选 Galaxy、file type returned 点选 plain text,之后点击 get output,新界面中的 Create one BED record per 点选 Whole Gene,最后点击 Send query to Galaxy 即可将基因组中的基因信息载入到 Galaxy 平台的工作空间中。
 - ii. 修改属性。为了便于区分工作空间中的不同数据,可以点击 1: UCSC Main on Human: refGene (genome) 右侧的铅笔图标,修改数据集的属性,如:修改 Name 为 refGene,之后点击 Save 更新其属性。
 - (b) 获取染色体长度。
 - i. 获取数据。在 UCSC Table 界面中,修改 group 为 All Tables、database 为 hg19、table 为 chromInfo,待界面刷新后,直接点击 get output 并继续点击 Send query to Galaxy 即可将染色体的长度信息载入到工作空间中。
 - ii. 修改属性。为便于区分不同数据,可以点击 2: UCSC Main on Human: chromInfo (genome) 右侧的铅笔图表,修改 Name 为 chromInfo, 点击 Save 更新数据属性。

4. 计算基因数目。

- (a) 计算每条染色体上的基因数目。打开 Galaxy 的 Statistics 分组,点击其中的 Count 工具。其中, from dataset 选择 1: refGene, Count occurrences of values in column(s)点选 c1,最后点击 Execute 即可计算出每条染色体上的基因数目。同样修改数据的属性,把 Name 改为 geneOnChromAll。
- (b) 过滤数据。打开 Galaxy 的 Filter and Sort 分组,点击其中的 Select 工具。其中,Select lines from 选择 3: geneOnChromAll,that 选择 NOT Matching,the pattern 填写_,最后点击 Execute 过滤数据。修改 Name 为 geneOnChromFilter。

¹此处以"人"为例详述步骤。

5. 计算基因密度。

- (a) 整合染色体上的基因数目数据和染色体的长度信息。打开 Galaxy 的 Join, Subtract and Group 分组,点击其中的 Join two Datasets 工具。其中, Join 选择 2: chromInfo, using column 选择 c1, with 选择 4: geneOnChromFilter, and column 选择 c2,其他参数默认即可,最后点击 Execute 整合两套数据。
- (b) 计算每条染色体上的基因密度。打开 Galaxy 的 Text Manipulation 分组,点击 其中的 Compute 工具。在 Add expression 中填写 c4/c2*1000000000,其他参数 默认即可,最后点击 Execute 计算染色体上每 100 Mb 的基因数目。
- (c) 提取染色体号、长度及其上的基因数目、基因密度等有用信息。打开 Galaxy 的 Text Manipulation 分组,点击其中的 Cut 工具。在 Cut columns 中填写 c1,c2,c4,c6,其他参数默认即可,最后点击 Execute 提取需要的几列。
- (d) 根据染色体长度排序数据。打开 Galaxy 的 Filter and Sort 分组,点击其中的 Sort 工具。其中, on column 选择 c2,其他参数默认,最后点击 Execute 即可 根据染色体长度将数据进行排序。修改 Name 属性为 geneNumberDensity。

6. 绘制并查看条形图。

- (a) 绘图。打开 Galaxy 的 Graph/Display Data 分组,点击其中的 Bar chart 工具。其中,在 Numerical columns 中点选 c3 和 c4,其他参数适当调整后,点击 Execute 即可将上一步的结果可视化。
- (b) 查看并保存图片。点击数据右侧的眼睛图表,可以在 Galaxy 中查看绘制的条形图;也可点击数据左下方的软盘图表,将图片保存至本地。
- (c) 尝试使用 Bar chart 工具分开绘制基因数目和基因密度的条形图。
- 7. 分析结果。如: 哪条染色体上的基因数目最多/少? 哪条染色体上的基因密度最高/低? 数目最多和密度最高的染色体是不是同一条? 从中学到了什么²? 此外, 还可以把得到的结果和教材或文献中的数据进行比较。

学时分配

设计讲解: 2 学时

实验: 18 学时

总结和课程设计报告: 12 学时

答辩: 4学时

²提示:数据要经过标准化后才能互相比较。

总共: 36 学时

地点: 教一楼 205 室生物信息学实验室

资源网站

1. Galaxy Test: https://test.g2.bx.psu.edu/

2. Galaxy Main: https://main.g2.bx.psu.edu/

名称:基于 Galaxy 平台分析 *** 物种 SNP 在不同特征区域中的分布

总学时: 36

学分: 2

对象: 生物医学工程系生物技术与生物信息专业本科生

指导教师: 伊现富

课程设计目的: 在学习分子生物学、生物计算技术、生物网络数据库、生物信息学课程的基础上,培养学生分析大规模基因组数据的能力。此题目旨在帮助学生熟悉易用、强大且日渐流行的 Galaxy 生物信息学分析平台,并使用此平台处理基因组数据,分析SNP 在不同特征区域上的分布情况。

实验内容

- 1. 选择合适的物种 S。
- 2. 熟悉 Galaxy 界面。
- 3. 获取该物种不同特征区域(如: 5' UTR 外显子、编码区外显子和 3' UTR 外显子)的信息。
- 4. 获取该物种 dbSNP 数据库的 SNP 信息。
- 5. 计算不同特征区域的 SNP 数目和密度。
- 6. 将 SNP 密度进行标准化。
- 7. 比较不同特征区域的 SNP 密度。
- 8. 对所得结果进行综合分析。

技术指标

- 1. 基因组范围不同特征区域的数据。
- 2. 基因组范围上 SNP 的数据。
- 3. 不同特征区域 SNP 的数目。
- 4. 不同特征区域 SNP 的密度。
- 5. 标准化之后的 SNP 密度。
- 6. 对所得结果的分析与理解。

- 7. 课程设计报告书: (1) 名称; (2) 目的和任务; (3) 实验步骤; (4) 实验结果; (5) 实验结果分析和讨论。
- 8. 课程设计答辩的 PPT 文件 (答辩时间 5 分钟)。

实验步骤

- 1. 选择完成基因组测序且注释比较完善的物种,如:人、小鼠,等。3
- 2. 打开 Galaxy Main 主页,熟悉其界面布局。
- 3. 获取基因组范围不同特征区域的基本信息。
 - (a) 获取数据。打开 Galaxy 的 Get Data 分组,点击UCSC Main 进入 UCSC Table 界面。在 UCSC Table 界面中,clade 选择 Mammal、genome 选择 Human、assembly 选择 Feb. 2009 (GRCh37/hg19)、group 选择 Genes and Gene Prediction Tracks、track 选择 RefSeq Genes、table 选择 refGene、region 点选 genome、output format 选择 BED browser extensible data、Send output to 勾选 Galaxy、file type returned 点选 plain text,之后点击 get output,新界面中的 Create one BED record per 点选 5' UTR Exons,最后点击 Send query to Galaxy 即可将 5' UTR 外显子的基本信息载入到 Galaxy 平台的工作空间中。
 - (b) 修改属性。为了便于区分工作空间中的不同数据,可以点击 UCSC Main on Human: refGene (genome) 数据集右侧的铅笔图标,修改数据集的属性,如:修改 Name 为 5UTR,之后点击 Save 更新其属性。
 - (c) 重复操作。重复上述步骤,在 Create one BED record per 分别点选 Coding Exons 和 3' UTR Exons,将编码区外显子和 3' UTR 外显子的基本信息载入到 Galaxy 平台的工作空间中。
- 4. 获取 dbSNP 数据库中 SNP 的信息。
 - (a) 获取数据。在 UCSC Table 界面中,修改 group 为 Variation and Repeats、track 为 Common SNPs(135)、table 为 snp135Common,待界面刷新后,点选 Create one BED record per 中的 Whole Gene,最后点击 Send query to Galaxy 即可将 SNP 的基本信息载入到 Galaxy 平台的工作空间中。
 - (b) 修改属性。为便于区分不同数据,可以点击 UCSC Main on Human: snp135Common (genome) 数据集右侧的铅笔图表,修改 Name 为 SNP135,点击 Save 更新数据属性。
- 5. 计算不同特征区域中的 SNP 数目及其密度。

³此处以"人"为例详述步骤。

- (a) 关联特征区域和 SNP 的信息。打开 Galaxy 的 Operate on Genomic Intervals 分组,点击其中的 Join 工具。其中, Join (First dataset) 选择 5UTR 数据,with (Second dataset) 选择 SNP135 数据,其余参数默认即可,最后点击 Execute 即可将特征区域的信息与 SNP 的信息关联起来。4
- (b) 计算特征区域中的 SNP 数目。打开 Galaxy 的 Statistics 分组,点击其中的 Count 工具。其中, from dataset 选择上一步的结果, Count occurrences of values in column(s) 点选 c4,最后点击 Execute 即可计算出每个 5' UTR 外显子上的 SNP 数目。
- (c) 恢复计数结果中的特征区域信息。打开 Galaxy 的 Join, Subtract and Group 分组,点击其中的 Join two Datasets 工具。其中, Join 选择上一步的结果, using column 选择 c2, with 选择 5UTR 数据, and column 选择 c4, 其他参数默认即可,最后点击 Execute 整合两套数据。
- (d) 计算每个特征区域的长度。打开 Galaxy 的 Text Manipulation 分组,点击其中的 Compute 工具。在Add expression 中填写 c5-c4, 其他参数默认即可,最后点击 Execute 计算每个特征区域的长度。
- (e) 提取数据集中的有用信息。打开 Galaxy 的 Text Manipulation 分组,点击其中的 Cut 工具。在 Cut columns 中填写 c3,c9,c1,其他参数默认即可,最后点击 Execute 提取需要的几列。
- (f) 按染色体整理数据。打开 Galaxy 的 Join, Subtract and Group 分组,点击其中的 group 工具。其中,Select data 选择上一步的结果,Group by column 选择 c1;之后,点击 Add new Operation, Type 选择 Sum, on column 选择 c2;之后,继续点击 Add new Operation, Type 选择 Sum, on column 选择 c3;其他参数默认,最后点击Execute 即可。
- (g) 过滤数据。打开 Galaxy 的 Filter and Sort 分组,点击其中的 Select 工具。其中,Select lines from 选择上一步的结果,that 选择 NOT Matching,the pattern 填写,最后点击 Execute 过滤数据。
- (h) 计算每个特征区域上 SNP 的密度。打开 Galaxy 的 Text Manipulation 分组,点 击其中的 Compute 工具。在 Add expression 中填写 c3/c2*1000,其他参数默认即可,最后点击 Execute 计算 SNP 的密度。将 Name 属性修改为 5UTRSNP。
- 6. 标准化 SNP 密度。
 - (a) 计算基因组上特征的总长度及 SNP 的总数目。打开 Galaxy 的 Statistics 分

⁴注意: 此步舍弃了没有 SNP 的特征区域。

组,点击其中的 Summary Statistics 工具。其中,Summary statistics on 选择 5UTRSNP,Column or expression 填写 c2 或 c3,最后点击Execute 分别计算特征总长 L 及 SNP 的总数 N。

- (b) 将每条染色体上的 SNP 密度进行标准化。首先计算 M = N/L*1000。然后,打开 Galaxy 的 Text Manipulation 分组,点击其中的 Compute 工具。在 Add expression 中填写 c4-M,as a new column to 选择 5UTRSNP,最后点击 Execute 标准化 SNP 密度。将 Name 属性修改为 5UTRSNPNormalized。
- 7. 比较不同特征区域的 SNP 密度。
 - (a) 重复第 5、6 两步5, 获得其他特征区域的 SNP 密度。
 - (b) 比较不同特征区域的 SNP 密度。打开 Galaxy 的 Join, Subtract and Group 分组, 点击其中的 Join two Datasets 工具。其中, Join 选择 5UTRSNPNormalized 数据, using column 选择 c1, with 选择 codingSNPNormalized 数据, and column 选择 c1, 其他参数默认即可,最后点击 Execute 整合 5' UTR 和编码区两套数据。以类似的操作,再将 3' UTR 数据整合进去。
- 8. 综合分析所得结果6。如:对于同一条染色体来说,不同特征区域的 SNP 密度有没有差别?对于同一类特征区域来说,不同染色体的 SNP 密度有没有差别?此外,还可以将两者结合起来进行分析,并尝试对分析结果进行解释。

学时分配

设计讲解: 2 学时

实验: 18 学时

总结和课程设计报告: 12 学时

答辩: 4学时

总共: 36 学时

地点: 教一楼 205 室生物信息学实验室

资源网站

1. Galaxy Main: https://main.g2.bx.psu.edu/

2. Galaxy Test: https://test.g2.bx.psu.edu/

⁵提示:可以提取工作流程后,修改输入数据,自动化重复前述操作!

⁶敬请注意:因为处理过程中的取舍问题,请不要把此处的计算结果当作常识来使用!