آزمایشگاه سنجشی بيستودومين المپياد

رستشناه بیوانفورماتیک آزمایشگاه بیوانفورماتیک آزمون نهایی

Analysis | IAA | Cloning | ORF | Kontorase ——

زمان آزمون: ۱۲۰ دقیقه



دانشپژوه گرامی لطفا موارد زیر را به دقت مطالعه کنید:

- تمامی سوالات را در پاسخبرگ پاسخ دهید (محتویات این دفترچه تصحیح نمیشود) .
 - تمامی اعداد مقادیر پیوسته را تا ۲ رقم اعشار گرد کنید.
- به هـمراه داشـتن هـر وسیله و شیئی بـه غیر از روپـوش آزمـایشگاهی، لـوازمالتحـریر مـورد نیاز (فـقط خـودکار آبی و خطکش)، ماشین حساب مجاز و ساعت (یا کرنومتر) ممنوع است.
 - پاسخهای خود را خوشخط و خوانا فقط در کادر مربوطه در پاسخبرگ بنویسید.
- تمامی سوالات غیرتشریحی این آزمون نمرهی منفی دارند. میزان نمرهی منفی هر سوال به صورتی تنظیم میگردد که امید ریاضی سوال مربوطه برابر صفر شود (برای مثال نمرهی منفی یکسوم برای سوال چهارگزینهای).
- در صورتی که مواد و وسایل و ابزارهای شما کامل نیست میتوانید با بلند کردن دست در ۱۵ دقیقهی اول آزمون آن را گزارش دهید . بعد از این مدت به هیچ عنوان به درخواست شما رسیدگی نمیشود.
- در پایان زمان آزمون زنگی به صدا در میآید . پروتکل خود را به سرعت ببندید . شما ۱۵ ثانیه فرصت دارید پروتکل خود را در درون پاکت کنار محل نشستن خود قرار دهید. بعد از پایان مهلت مقرر مسئول آزمون پاکتها را جمعآوری میکند.
- بعد از پایان مدت آزمون و جمع آوری پاکتها، محل نشستن شما توسط مسئول تسک چک شده و همان گونه که تحویل داده شده تحویل گرفته میشود.
 - توجه کنید صحبت کردن با صدای بلند <u>اکیداً ممنوع</u> است و به سوالهای علمی پاسخ داده نمیشود.
- استفاده از مواد و وسایل و ابزارهایی به جز موارد عنوان شده در بخش مواد و وسایل و ابزارها ممنوع است و تقلب محسوب میشود. صفحات کامپیوترهای شما توسط مسئول آزمون نظارت میشود ودر صورت تخلف از شما نمره کسر خواهد شد.

عدم رعایت هر کدام از موارد بالا منجر به اخراج و یا کسر نمره از آزمون خواهد شد.

| چرکنویس: |
|----------|
| |
| |
| |
| |
| |
| |
| |
| |
| |
| |
| |
| |
| |
| |
| |
| |
| |
| |
| |

| ها: | ابزار | ي و | وسايل | 9 | مواد |
|-----|-------|-----|-------|---|------|
| | | | | | |

کامپیوتر:

- NCBI (دسترسی کامل): /https://www.ncbi.nlm.nih.gov
 - EBI (دسترسی کامل): <u>https://www.ebi.ac.uk/</u>
- https://embnet.vital-it.ch/software/PRSS_form.html :PRSS3 -
 - Exam folder on desktop -

استفاده از ویکیپدیا، نوتپد، گوگل و ... ممنوع است.

همراه خود دانش پژوه:

- ماشین حساب مجاز
 - ساعت (کرنومتر)
- روپوش آزمایشگاهی
- لوازمالتحرير مورد نياز (فقط خودكار آبي و خطكش)

| | چرکنویس: |
|--|----------|
| | |
| | |
| | |
| | |
| | |
| | |
| | |
| | |
| | |
| | |
| | |
| | |
| | |
| | |
| | |
| | |
| | |

(مجموعا ۲۸ نمره) Kontorase

شما در هنگام تحقیقات بر روی مولکول کنتور (یک مولکول مهم و بسیار حیاتی دخیل در تمام فرایندهای شناختی موجودات زنده ذی شعور) در یک گونه جاندار خاص، ژنی کدکننده کشف میکنید که پروتئین آن (Kontorase) این مولکول را تجزیه میکند و قابلیت درک را از جاندار مورد بررسی سلب میکند. با بررسیهای بیشتر متوجه می شوید این ژن دارای چندین اینترون و اگزون بوده و واریتههای مختلفی از mRNA از آن ایجاد می شوند (با فرایند پیرایش متناوب) که نسخههای مختلفی از پروتئین Kontorase را ایجاد میکنند. با بررسیهای بیشتر کلmRNAهای مربوط به این ژن از جاندار مورد بررسی استخراج و به CDNA تبدیل و توالی یابی شدند. توالی ژن مورد بررسی و بخش کدینگ (CDS) این واریتهها در پوشه 2 Part قرار دارد و عدد هر فایل متنی متناظر عدد واریتهی مورد نظر است. فرض کنید هم اگزون حداقل در یکی از واریتهها موجود می باشد. همچنین توجه کنید کد ژنتیکی (کدونهای آغاز و پایان و آمینواسیدها) در جاندار مورد بررسی ما لزوما با حالت استاندارد یکسان نیست.

سوال ۱. تعداد اگزونهای ژن مورد بررسی و شماره نوکلئوتید شروع و پایان هر کدام را بنویسید. (۱۴ نمره) اگزونها را به ترتیب محل قرارگیری در ژن (از نوکلئوتید با شماره کمتر به نوکلئوتید با شمارهی بیشتر) مرتب کنید و آنها را به ترتیب از ۱ شمارهگذاری کنید و مقابل هر کدام شمارهی نوکلئوتید شروع و پایان را بنویسید.

| تعداد اگزونها (۲ نمره): |
|-------------------------|
| |
| |
| |
| |
| |
| |
| |

سوال ۲. با پر کردن جدول زیر مشخص کنید هر کدام از واریتهها شامل کدام اگزونها میباشند؟ (مجموعاً ۱۲ نمره)

در خانهیی مربوطه ضربدر یا تیک بگذارید.

توجه کنید اشتباه در پاسخ به سوال ۱ این بخش می تواند پاسخ شما را به این سوال به شدت تحت تاثیر قرار دهد. همچنین توجه کنید در جدول زیر تعداد ستونها (تعداد اگزون ها) مازاد نیاز می باشد.

هر خانه ۰.۲ نمره

| اگزون | | | | | | | | | | |
|--------------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|----|
| | ١ | ٢ | ٣ | k | ۵ | ۶ | ٧ | ٨ | ٩ | ۱٠ |
| mRNA واریتهی | | | | | | | | | | |
| ١ | | | | | | | | | | |
| ۲ | | | | | | | | | | |
| ٣ | | | | | | | | | | |
| k | | | | | | | | | | |
| ۵ | | | | | | | | | | |
| ۶ | | | | | | | | | | |

سوال ۳. روش پاسخگویی خود به ۲ سوال قبلی را به اختصار شرح دهید. توجه کنید این سوال نمره ندارد اما در صورت خالی گذاشتن این سوال، ۲ سوال قبلی تصحیح نمیشود. (۰ نمره)

ORF (مجموعاً ۲۷ نمره)

ORF یا Open Reading Frame به توالی پیوستهای از کدونها در DNA میگویند که با کدون آغاز (ATG) شروع و با یکی از کدونهای پایان خاتمه مییابد.

در این قسمت، بخشی از توالی DNA یک باکتری به شما داده شده است. این توالی در فایل متنی DNA در فولدر Part 2 قرار گرفته است. هدف شما پیدا کردن تمامی ORFهای موجود در این توالی DNA است. بدین منظور ساختار یک ژن پروکاریوتی برای شما شرح داده شده که میتواند به شما در پیدا کردن ORFهای موجود کمک کند.

ساختار یک ژن پروکارپوتی:

ژنهای کدکنندهی پروتئین برای انجام کامل عملکرد خود نیاز به توالیهایی دارند که سیستم رونویسی و ترجمه را بهوسیلهی آن توالیها به کار بگیرند. بعضی از این توالیها در جدول زیر آمدهاند:

| توضيحات | توالى ('3→'5) | نام توالی | | | |
|---------------------------------|--|--------------------------------|--|--|--|
| دخیل در رونویسی | | | | | |
| قسمتی از پروموتور که معمولا ۱۰ | | | | | |
| نوكلئوتيد بالادست نقطهى شروع | TATAAT | -10 element (Pribnow box) | | | |
| رونویسی قرار دارد. | | | | | |
| قسمتی از پروموتور که معمولا ۳۵ | | | | | |
| نوكلئوتيد بالادست نقطه شروع | TTGACA | -35 element | | | |
| رونویسی قرار دارد. | | | | | |
| در محلی قرار میگیرد که | | | | | |
| رونویسی از قسمت کدکننده تمام | | | | | |
| شده باشد. این توالی در بین | بسیار مت ن یر در بین گونهها | transcription termination site | | | |
| گونههای مختلف بسیار متغیر | | | | | |
| است. | | | | | |
| | دخیل در ترجمه | | | | |
| حدودا ۴ - ۱۴ از بالادست کدون | | | | | |
| آغاز میآید و برای اتصال ریبوزوم | AGGAGGT | توالی شاین – دلگارنو | | | |
| به mRNA ضروری است. | | | | | |
| لازم برای شروع ترجمه و کدکننده | ATG | كدون آغاز | | | |
| آمینواسید متیونین (M) | ΛIU | تدون اعار | | | |
| لازم برای پایان ترجمه و جدا شدن | TAG / TAA / TGA | کدون های پایان | | | |
| ريبوزوم | 1/10/1/10/1 | حدوں تعلق پایان | | | |

نكات مهم:

- ORFهایی در این سوال مد ظر ما هستند (باید شمرده شوند) که محصولشان پلیپپتید فعال باشد (PRF عالی در این سوال مد ظر ما هستند (باید شمرده شوند) که محصولشان پلیپپتید فعال باشد (RNA نیاشد) .
 - حداقل طول یک پلیپپتید برای آن که فعال در نظر گرفته شود ۲۵ آمینو اسید است.
 - در این سوال فقط توالی رشته '5 به '3 به شما داده شده است ولی هر دو رشته میتواند حاوی ژن باشد.

سوال ۱. با توجه به توضیحات داده شده، ORFها را پیدا کرده و طبق آنها جدول زیر را پر کنید . (مجموعا ۲۷ نمره)

تعداد سطرها الزاما با تعداد ORF واقعی موجود برابر نیست. در خانه های اضافی خط تیره بگذارید.

تعداد ORF موجود (۳ نمره)

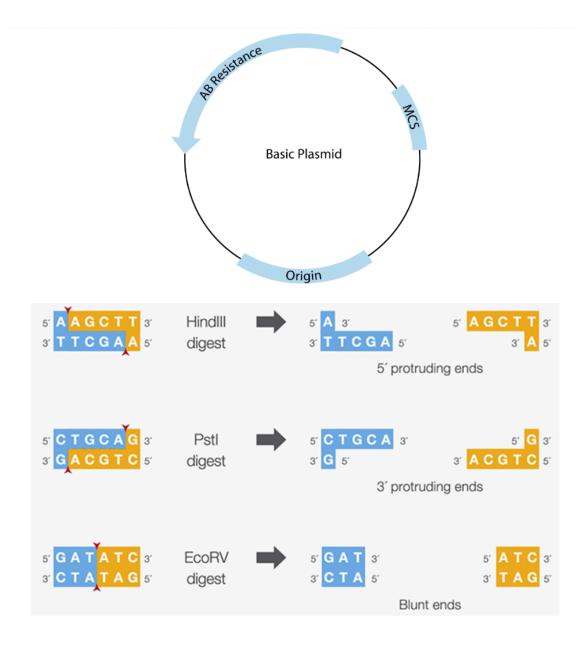
| توالی ژن در کدام رشته قرار گرفته ('3 ←'5) / ('5 ←'3) ۰.۵ نمره | تعداد آمینواسید در پلیپپتید متناظر ژن ۰.۵ نمره | شمارهی اولین باز کدون پایان از سمت '5 ۱ .۵ نمره | شمارهی اولین باز کدون آغاز از سمت '5 ۱.۵ نمره | شماره ORF |
|--|--|--|---|-----------|
| | | | | ١ |
| | | | | ۲ |
| | | | | ٣ |
| | | | | k |
| | | | | ۵ |
| | | | | ۶ |

Cloning (مجموعاً ۳۶ نمره)

تولید پروتئینهای طبیعی و نوترکیب در ابعاد صنعتی قدمی بزرگ در جهت درمان بیماران (به طور مثال تولید انسولین انسانی) و یکی از بزرگترین موفقیتهای زیستفناوری در دهههای اخیر میباشد. این فرایند با روشهای مختلفی انجام میشود که یکی از آنها کلونینگ کلاسیک با استفاده از پلازمید بیانی (وکتور) میباشد.

وکتور یک پلازمید طراحی شده برای دریافت ژنهای مورد نظر ما با توان بیان کردن آنها در موجود مورد نظر میباشد. یک وکتور به طور کلی از بخشهای زیر تشکیل میشود:

- (Multiple Cloning Site) محلی که ژن مورد نظر ما در آن قرار میگیرد و حاوی تعداد زیادی توالی آنزیمهای محدودکننده میباشد.
 - Origin : محل آغاز همانندسازی پلازمید
 - ژن مقاومت آنتیبیوتیکی که در جهت تشخیص و جداسازی باکتریهای نوترکیب در محیط کشت به کار میرود.

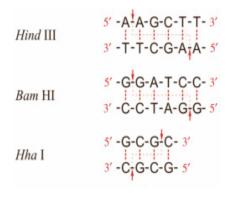


آنزیمهای محدودکننده یا آندونوکلئازهای محدودکننده آنزیمهایی هستند که به طور اختصاصی، توالی خاصی از DNA را شناسایی کرده و آن را برش میدهند. در صورتی که توالیهایی توسط عواملی مثل متیله شدن تغییر یافته باشند مورد شناسائی آنزیم قرار نمیگیرند. از آنزیمهای محدودکننده جهت انتقال ژن به وکتور پلاسمیدی در فرایند کلونینگ ژن و تولید پروتئین استفاده میشود.

در شکل صفحه قبل و روبهرو توالی برش اختصاصی چندین آنزیم محدود کننده نـشان داده شـده اسـت. بـرای کلون کردن یک ژن کدکنندهی خـاص ۲-۲-۲-۵ تراحل زیر دنبال میشود:

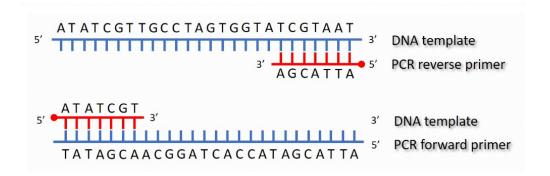
- انتخاب وکتور مناسب و تعیین آنزیمهای محدودکننده مناسب
- طراحی جفت پرایمرهایی برای تکثیر ژن مورد نظر با روش PCR که در انتهای 5′ خود توالی برش آنزیمهای انتخاب شده را دارا باشند.
 - · تکثیر ژن با پرایمرهای طراحی شده و روش PCR
- برش وکتور با آنزیمهای انتخاب شده و انکوبه کردن آن با فراوردههای PCR در جهت تولید وکتور نوترکیب
 - انتقال وکتور نوترکیب به باکتری و

در شکل زیر این مراحل نشان داده شدهاند:



Cloning Generate compatible Restriction Restriction ends Enzyme Enzyme Fragment of DNA ligation Appropriate vector Intramolecular ligation **Intermolecular ligation** Non-Recombinant Recombinant Transformation Recombinant cell Non-Recombinant cell 1 plasmid/1 cell

به شکل زیر در مورد اسم دو پرایمر به کار رفته در فرآیند PCR توجه کنید.

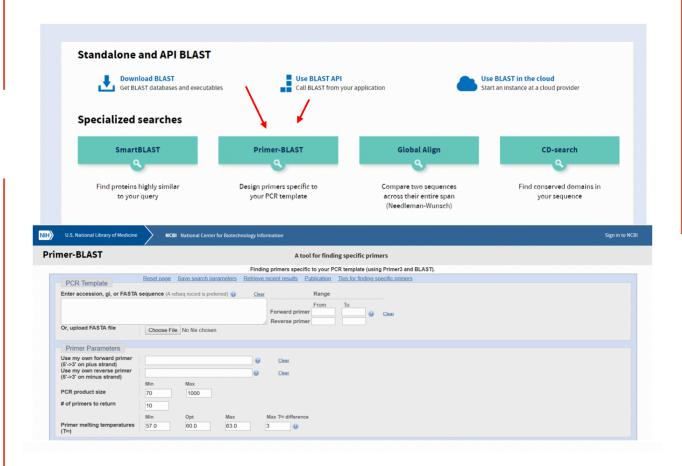


جدول زیر خصوصیات مطلوب برای پرایمرهای طراحی شده ما را مشخص میکند. <u>توجه کنید این خصوصیات لزوماً در</u> پرایمرهای واقعی (به دلیل محدودیتهای موجود برای طراحی در شرایط واقعی) رعایت نمیشوند.

| Parameter | Primers |
|----------------------------------|---|
| GC content (%) | 30-80% |
| Calculated $T_{\rm m}$ | 50–60°C, always >55°C as UNG works at 50°C |
| | $T_{\rm m}$ of the primers should not differ >2°C |
| Runs of identical nucleotides | Maximum 3 (no Gs!!) |
| Sequence length | Minimum 15 bp (15–30 bp) |
| Amplicon length | The shorter the better. With TaqMan probes, 50–150 bp |
| Distance forward primer to probe | Maximum 50 bp |
| Primer dimers, hairpin loops | Avoid |
| 3'- instability (3'- rule) | Primers only. Maximum two Gs/Cs in the last 5 bp |

T_m یا دمای ذوب به معنای دمایی میباشد که دو رشته DNA از هم جدا میشوند (و در مورد پرایمر یعنی دمایی که پرایمر از رشتهی DNA جدا می شود) و در تعیین دمای Annealing اهمیت دارد.

برای طراحی پرایمر از Primer BLAST در NCBI استفاده میکنیم. برای دسترسی به این ابزار در صفحه BLAST به بخش Specialized searches می رویم.



- در بخش Enter sequence توالی مورد نظر برای جستجو را در فرمت FASTA وارد میکنیم و یا میتوانیم فایل آن را آیلود کنیم.
 - در بخش Range میتوانیم محل پرایمرها را مشخص کنیم.
 - در بخش PCR product size اندازهی محصول PCR را میتوان مشخص کرد.
 - of primers to return # تعداد جوابهایی که نمایش داده میشوند را مشخص میکند.
 - در بخش T_m می توان دمای ذوب پرایمرها را تعیین کرد. Opt به معنی مقدار مطلوب میباشد.

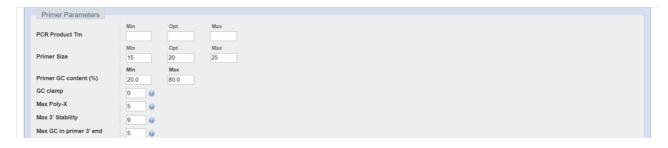
| Primer Pair Specificity Ch | ecking Parameters |
|-------------------------------|--|
| Specificity check | |
| Search mode | Automatic v |
| Database | Refseq mRNA |
| Exclusion | □ Exclude predicted Refseq transcripts (accession with XM, XR prefix) □ Exclude uncultured/environmental sample sequences 📦 |
| Organism | Homo sapiens |
| | Enter an organism name (or organism group name such as enterobacteriaceae, rodents), taxonomy id or select from the suggestion list as you type. 😝 |
| | Add more organisms |
| Entrez query (optional) | 9 |
| Primer specificity stringency | Primer must have at least [2 ▼ total mismatches to unintended targets, including |
| | at least 2 v mismatches within the last 5 v bps at the 3 end. |
| | Ignore targets that have [6 ▼] or more mismatches to the primer. |
| Max target size | 4000 |
| Allow splice variants | Allow prime to amplify mRNA splice variants (requires refseq mRNA sequence as PCR template input) |
| | |
| Get Primers | ☐ Show results in a new window ☐ Use new graphic view ☑ |
| ▼ Advanced parameters | |

هـمان طـور که می دانید اخـتصاصیت پـرایمرهـای طـراحی شـده یکی از مـوارد مـهم و مـورد تـوجـه در طـراحی پـرایمر میباشد. بدین منظور ابزار مورد استفاده ما پرایمرهای کاندید را در دیتابیس BLAST میکند.

- تیک بخش Specificity check روشن یا خاموش بودن این فرایند را مشخص میکند.
- در بخش Database می توانیم دیتابیسی که BLAST در آن انجام میشود را مشخص کنیم. این پارامتر را بر روی Genome For Selected Organisms تنظیم کنید.
 - در بخش Organism میتوان جاندار مورد بررسی را تعیین کرد.



با کلیک کردن بر روی Advance Parameters می توان وارد تنظیمات پیشرفته تر شد.



- در بخش Primer Size میتوان اندازهی پرایمر را تنظیم کرد. Opt به معنی مقدار مطلوب میباشد.
 - در بخش Primer GC content میتوان درصد نوکلئوتیدهای G و C را تنظیم کرد.

شما تمایل دارید پروتئین حاصل از یک ژن کدکننده تازه کشف شده (<u>که اینترون ندارد)</u> در یک جاندار خیالی را در مقادیر بالا تولید کنید. به این منظور باید مراحل شرح داده شده در بالا را انجام دهید. توالی این ژن در فایل متنی Gene در فولدر Part 3 قرار گرفته است. مکان CDC (ناحیهای که به پروتئین ترجمه میشود) در این ژن از نوکلئوتید ۲۱ تا ۱۰۲ میباشد. بررسیهای شما نشان میدهد استفاده از وکتور بیانی خیالی KB79 مناسب میباشد. توالی این وکتور در فایل متنی Vec در فولدر Part 3 قرار گرفته است. توجه کنید مکان MCS در این وکتور از نـوکلئوتید ۳۴۶ تـا ۵۶۷ میبـاشـد. همچنین تـوجـه کنید کد ژنتیکی (کدونهـای آغـاز و پـایان و آمینواسیدها) در جاندار مورد بررسی ما لزوماً با حالت استاندارد یکسان نیست. سـوال ۱ . بـا تـوجـه بـه دانسـته هـای خـود آنـزیم هـای محـدود کننده مـناسـب بـرای کلونینگ را پیدا کنید و بنویسید. (۲۰ نمره) توجه کنید آنزیمها نباید بقیهی وکتور (به جز MCS) و محصول PCR ژن را برش بدهند. <u>تنها آنزیمهایی در دسترس</u> هستند که توالی برش و اسم آنها در صفحه ۱۶ آمده است. نمره منفی این سوال برابر نمرهی آن میباشد. آنزیمهای محدودکنندهی انتخاب شده: (لزوما نیاز به پر کردن تمامی کادر ها نیست.) سوال ۲. با توجه به دانستههای خود جفت پرایمرهای مناسب برای مورد عنوان شده را پیدا کنید و بنویسید. (مجموعاً ۱۶ نمره) حتما جهت '3 و '5 توالی نوشته شده را مشخص کنید و در صورتی که بیش از یک جفت پرایمر را مناسب میدانید بهترین آنها را انتخاب کنید. (هر کدام ۸ نمره) يرايمر Forward: يرايمر Reverse:

(مجموعاً ۱۷ نمره)

در پژوهشی به منظور بررسی ژنهای دخیل در مسیر بیوسنتز اکسین در گیاه مدل آرابیدوپسیس تالیانا، بافتی از گیاه که برای تولید اکسین تحریک شده بود جدا و از کلیه mRNAهای موجود در این بافت cDNA تهیه شد. سپس تمام cDNAها توسط توالییابی نسل جدید (NGS) توالی یابی شدند.

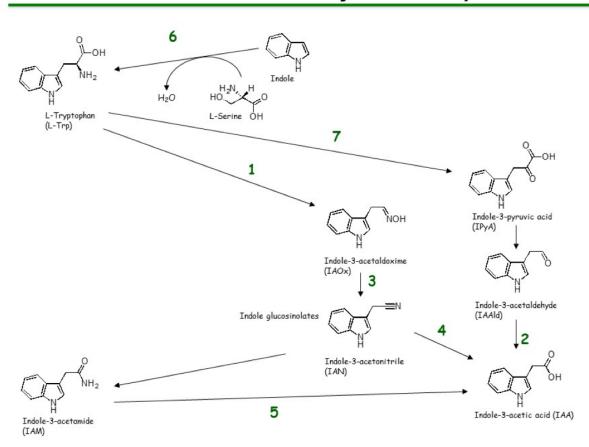
در مرحلهی بعد مقدار بیان تمامی ژنهای یافت شده از روی تعداد کپی cDNA موجود تخمین زده شد و cDNAهایی که افزایش بیان معنادار از لحاظ آماری داشتند، انتخاب شده و قطعه کدکنندهی پروتئین در این cDNAها مشخص شده و به آمینواسید ترجمه شدند.

اکنون شما در فولدر ۴ Part ۱۰، ۱۰ فایل متنی حاوی توالی پروتئینی مربوط به ژنهایی دارید که در اثر تحریک تولید اکسین، افزایش بیان داشتهاند. میدانیم ۷ پروتئین از این ۱۰ پروتئین در مسیر بیوسنتز اکسین نقش دارند.

مسیر متابولیسمی اکسین در تصویر زیر آمده است. شمارههای ۱ تا ۷ روی تصویر نشاندهندهی آنزیمهای دخیل در این مسیر هستند.

وظیفهی شما این است که تشخیص دهید هر کدام از توالیهای ۱ تا ۱۰ (P1 تا P10) مربوط به کدام یک از آنـزیم های ۱ تا ۷ است.

Auxin Metabolic Pathway in Arabidopsis



سوال ۱. جدول زير را تكميل كنيد. (مجموعاً ۱۴ نمره)

جدول آنزیمها و توالیها:

هر کدام ۱.۸ نمره

| نام توالی | شماره آنزیم |
|-----------|-------------|
| | ١ |
| | ٢ |
| | ٣ |
| | k |
| | ۵ |
| | ۶ |
| | ٧ |

سوال ۲. باتوجه به پژوهش قبل صحیح یا غلط بودن گزارههای زیر را مشخص کنید. (مجموعاً ۳ نمره) هر کدام ۱ نمره

آ. به احتمال زیاد اشتباه در انتخاب پرایمر مناسب برای ساخت cDNA، دلیل پیدا کردن سه توالی غیر از توالیهای دخیل در مسیر بیوسنتز اکسین بوده است.

ب. پرایمرهای مورد استفاده برای ساخت cDNAها باید برای ژنهای دخیل در بیوسنتز اکسین تقریبا اختصاصی باشند.

ج. وجـود همبسـتگی میان بیان ژنهـای مسیر بیوسـنتز اکسین بـا بیان ژنهـای کمپلکس ATP-Synthase ، نـشان دهـندهی اثـر تنظیمی مثبتِ هورمون اکسین بر روی ژن کدکنندهی این کمپلکس میباشد.

(مجموعاً ۲۵ نمره) Analysis

این بخش شامل دو قسمت است.

در قسمت اول پس از Align کردن دوبهدوی ۳ توالی، معنیداری شباهت این سه توالی را با یکدیگر از طریق به دست آوردن p-value میکنید.

در قسمت دوم، شما با یک توزیع ارزیابی Alignment جدید (به جز توزیع Gumbel) کار میکنید . به این صورت که با وارد کردن بعضی از پارامترهای این توزیع، شکل نمودار آن را مشاهده خواهید کرد. شما باید از این طریق معادلهی صحیح این توزیع جدید را انتخاب کرده و درستی یا نادرستی گزارهها را در مورد این توزیع نشان دهید.

قسمت اول

سه توالی با نام های Seq1, Seq2, Seq3 در فولدر ۵ Part به شما داده شده است.

مرحلهی اول. ابتدا هر سه توالی را دو به دو با یکدیگر <u>توسط سایت Align ، PRSS3 کنی</u>د. بدین منظور در پنجرهی **1st Query sequence** را در قسمت sequence و و توالیهای خود را در قسمت sequence و ارد کنید. سپس روی دکمهی Run PRSS کنید.

Alignment را برای هر (Smith-Waterman score, Lambda (λ), K) را برای هر در صفحهی نتایج سه پارامتر (λ), K) در جدول زیر یادداشت کنید.

سپس از طریق این پارامترها و فرمول زیر p-value را برای هر Alignment محاسبه کنید.

فرمول محاسبهی p-value:

$$p = 1 - e^{-K.m.n.e^{-\lambda.x}}$$

K: پارامتری که از صفحه نتایج سایت به دست میآورید.

n, m: که طول توالی اول و دوم هستند.

e: عدد نير (e = 2.718)

. یارامتری که از صفحهی نتایج سایت به دست می آورید. Lambda (λ)

x : برابر با Smith-Walterman score که از صفحهی نتایج سایت به دست میآورید.

سوال ۱. جدول زیر را تکمیل کنید . (مجموعاً ۱۸ نمره)

| ايج | نتا | , | ۵. | حد |
|------|-----|---|-----|----|
| تعن) | | U | יכי | |

| p-value (به صورت عدد | Smith- Waterman score | К | Lambda(λ) | n | نام توالی | m | نام توالی اول |
|-------------------------|-----------------------------|--------|-----------|----------|-----------|----------|---------------|
| علمی بنویسید) | | ۱ نمره | ۱ نمره | ۰.۵ نمره | دوم | ۰.۵ نمره | 0, 0, 1 |
| ۲ نمره | ۱ نمره | | | | | | |
| | | | | | Seq2 | | Seq1 |
| | | | | | Seq3 | | Seq1 |
| | | | | | Seq3 | | Seq2 |

قسمت دوم

بـرای ارزیابی معنیداری یک Alignment معـمولا Score آن Alignment را بـا تـوزیع Scoreهـای بـه دسـت آمـده از Alignment کردن تعداد بسیار زیادی توالی به هم ریخته شده، که از یکی از دو توالی Alignment اول به دست آمدهاند، مقایسه میکنیم.

شـما بـا تـوزیح Gumbel بـرای این کار آشـنایید. امـا دانـشمـندان بـه تـازگی تـوزیح جـدیدی را کشف کردهانـد که نـتایج واقعیتری را در مورد معنیداری Alignment به ما میدهد.

در این قسمت شما باید با کمک از نرمافزار Part5 - Task2 معادلهی صحیح برای توزیع جدید را پیدا کنید.

- به این منظور:
- ۱. ابتدا روی آیکون نرمافزار Part5 Task2 دبل کلیک کنید.
 - ۲. کمی صبر کنید تا نرم افزار اجرا شود.
- ۳. در صفحهی نرمافزار ۳ جای خالی برای وارد کردن مقدار دلخواهتان برای ۳ پارامتر c ،b ،a وجود دارد.
- ۴. کمی پایینتر یک نوار قابل جابهجایی وجود دارد که به وسیلهی آن میتوانید مقدار پارامتر d را تغییر دهید.
- ۵. وقتی مقدار دلخواه خود را برای هر ۴ پارامتر وارد کردید، روی دکمه Draw کلیک کنید، با این کار پنجرهی جدیدی
 برای شما باز میشود که در آن توزیع جدید با پارامترهایی که شما وارد کردید، کشیده شده است.
- 9. در صورت تمایل به رسم توزیع با پارامترهایی متفاوت، دکمه ضربدر در پنجره توزیع را بزنید و پس از تغییر پارامترها در صفحهی اصلی نرمافزار دوباره دکمهی Draw را بزنید.

نکته: در صفحهای که نمودار توزیع کشیده شده است، می توانید با استفاده از دکمهی بزرگ نمایی را بیشتر کرده و با استفاده از دکمهی 🚮 به حالت اولیه برگردید.

سوال ۲. حال با توجه به نتایج نرمافزار معادلهی مربوط به توزیع جدید را انتخاب کنید. (۱۰ نمره)

نمرهی منفی این سوال برابر نمره آن می باشد.

توجه: یارامتر K < 1 در تمامی معادلات زیر یک ثابت مجهول است. (K < 1)

توجه: در تمامی معادلات زیر x نشاندهندهی مؤلفهی افقی (alignment score) و y نشان دهندهی مؤلفهی عمودی (Probability) است.

$$y = K * \left(\sqrt{a} * c * ((x - d) * b) * \sqrt[4]{1 - ((x - d) * b)} \right)$$
 .

$$y = K * (\sqrt{a} * c * (x * b) * \sqrt{1 - (x * b)})$$
.

$$y = K * (a * (x - d) * e^{-1*(\frac{b}{c})*(x-d)})$$

$$y = K * (a * c * (x - d) * e^{-b*(x-d)})$$

$$y = K * (\frac{a}{\sqrt{2 * (\pi - d)}} * (e^{-b * \frac{x^2}{2 * c}}))$$

$$y = K * (\frac{a}{\sqrt{2 * \pi}} * (e^{-1*\frac{b}{c}*\frac{(x-d)^2}{2}}))$$