

اهداف آزمایش: ۱. آشنایی با مقدمات بیوانفورماتیک

زمان آزمایش: ۹۰ دقیقه



این فایل به منظور آموزش عملی دانشپژوهان المپیاد زیستشناسی ایران گردآوری شده است.

— معرفی ابزارها و دیتابیسهای بیوانفورماتیک | بررسی یک پروتئین | سوالات عملی

معرفی ابزارها و دیتابیسهای بیوانفورماتیک

NCBI

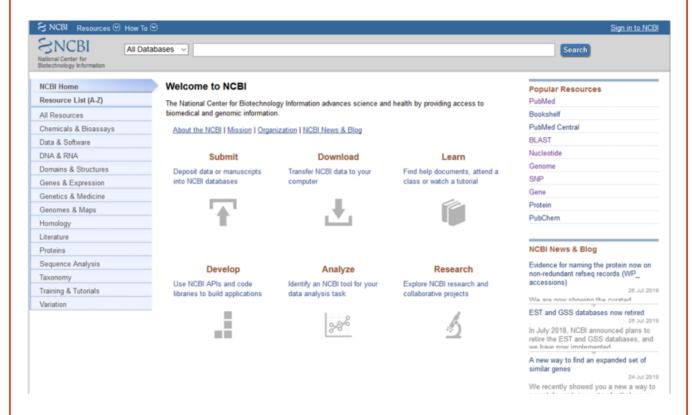
National Center for Biotechnology Information) NCBI حــاوی پــایگاه هــای داده عــمومی می باشد ، تحقیقات در زمینه زیست شناسی محاسباتی را هدایت می کند ، نرم افزار هایی برای آنالیز اطلاعات توسعه می دهد و اطلاعات زیست پزشکی را منتشر می کند.

در زیر مهم ترین منابع (Resources) ارائه شده توسط NCBl آمده است :

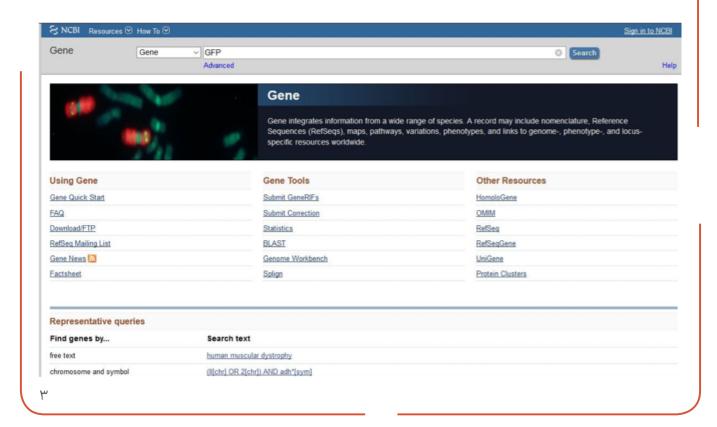
- PubMed: موتور جستجوی رایگان برای دسترسی به مقالات زیست پزشکی می باشد.
- BLAST: ابزار جستجوگر بر پایه شباهت توالی های نوکلئوتیدی یا پروتئینی که پس از جستجو در تمام پایگاه داده خود تعدادی از شبیه ترین توالی ها به توالی مدنظر شما را نمایش می دهد.
- BLAST-Primer: این ابزار برای طراحی پرایمر بصورت اتوماتیک و البته با تنظیماتی که شما انجام می دهید استفاده می شـود و تـوالی جـفت پـرایمر هـای FORWARD و REVERSE که مـناسـب تـر از بقیه هستند را در اختیار شما قرار می دهد.

اکنون به جستجو در پایگاه داده NCBI پرداخته و به دنبال ژن خاصی میگردیم.

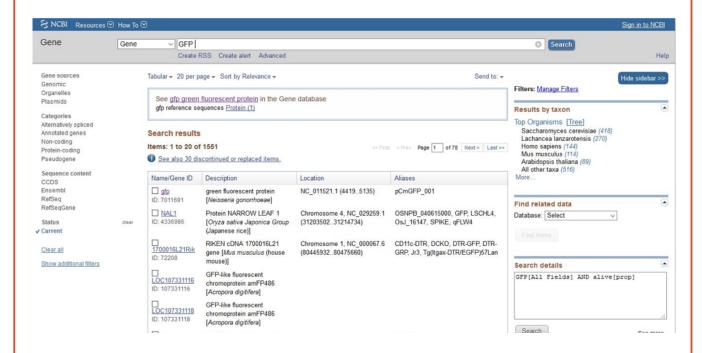
پس از وارد شدن به سایت NCBI برای دسترسی به تمام منابع سایت می توانید از زبانه Resources در بالای صفحه استفاده کنید اما امکانات محبوب سایت را می توانید در قسمت Popular Resources در سمت راست صفحه مشاهده کنید.



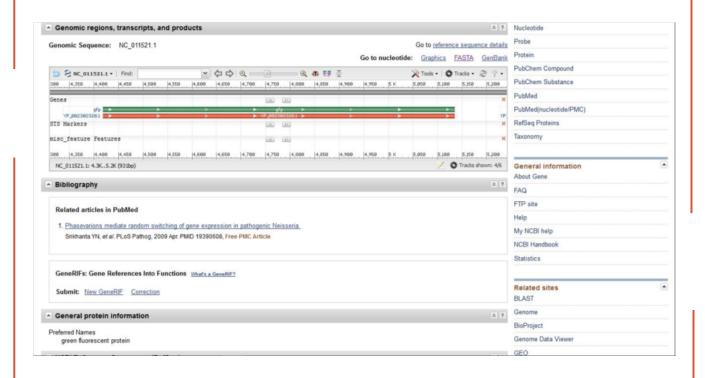
روی Gene کلیک کنید تا صفحه جدیدی باز شود.



نام ژن یا پروتئین مورد نظر را وارد کنید، می توانید برای اختصاصی تر شدن جستجو نام علمی گونه را هم در ادامــه وارد کنید و روی دکمه search کلیک کنید. بــدلیل انــتخاب گــزینه Gene در هــر صــورت تــوالی نوکلئوتیدی برایتان به نمایش در می آید.

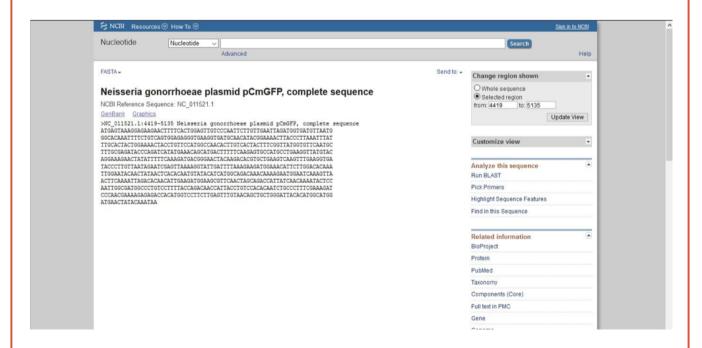


از بین ژن های نشان داده شده روی نام (Gene ID/Name) ژن مورد نظر خود کلیک کنید.



در این صفحه اطلاعات مربوط به ژن از قبیل توالی آن به همراه annotationها و همچنین در قسمت RefSeq لینک مربوط به پروتئین مربوطه در UniProt آمده است که با استفاده از آن می توانید اطلاعات بیشتری درباره خود پروتئین کسب کنید.

برای دانلود توالی ژن در ابتدا در بخش Genomic Region روی FASTA کلیک کنید.

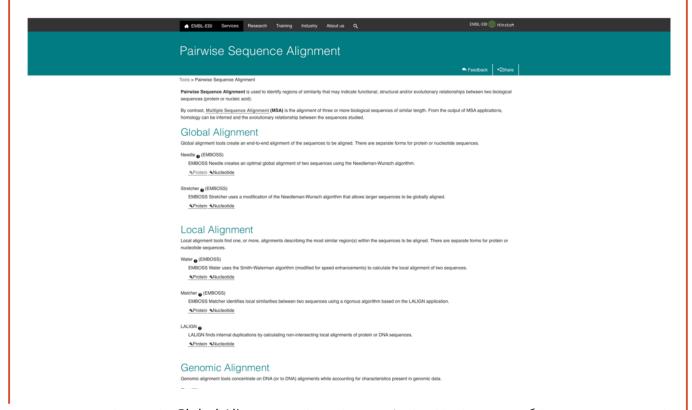


در این قسمت می توانید توالی مربوطه را با فرمت FASTA ببینید اما برای دانلود فایل متنی آن روی Send در این قسمت می توانید توالی مربوطه را با فرمت choose Destination را انتخاب کرده و در قسمت عنید. در این قسمت در ضمن می توانید coding sequence را انتخاب کرده و با استفاده از FASTA Protein توالی آمینواسیدی را دانلود کنید.

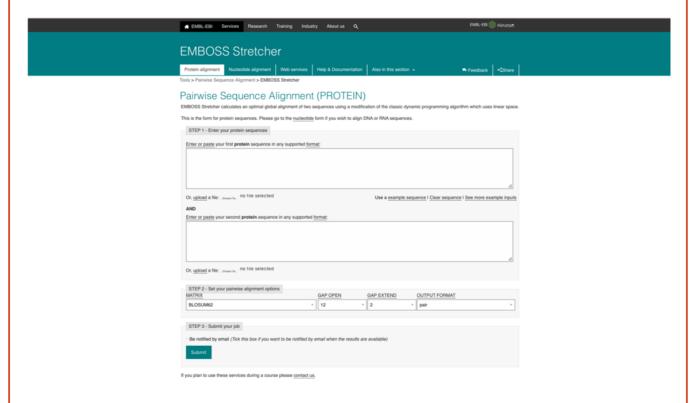
EBI

Pairwise alignment: برای مقایسهی دوتایی توالی ها استفاده میشود.

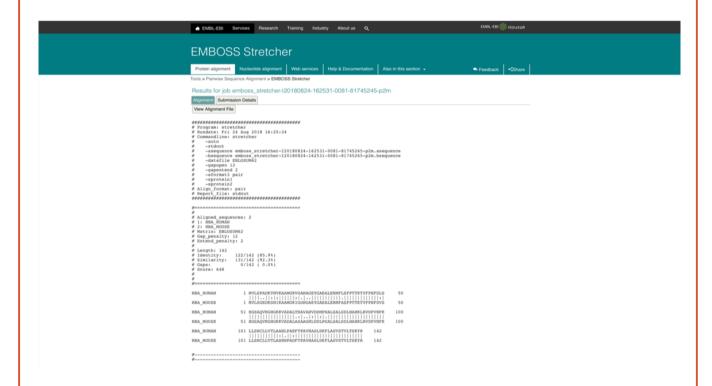
برای استفاده از این ابزار مرورگر خود را بر روی آدرس ebi.ac.uk/tools/msa قرار دهید. در این صفحه الگوریتم های مختلف برای همراستایی توالی ها وجود دارد که هر کدام را میتوان بر روی توالی های نوکلئوتیدی یا آمینواسیدی اجرا کرد.



با توجه به پروژهی خود الگوریتم مربوطه را انتخاب کنید. در این مثال Global Alignment برای دو توالی پروتئینی نشان داده شده است. توالیهای FASTA خود را در پنجره های مربطه کپی کنید. با کلیک کردن روی دکمهی more options میتوانید

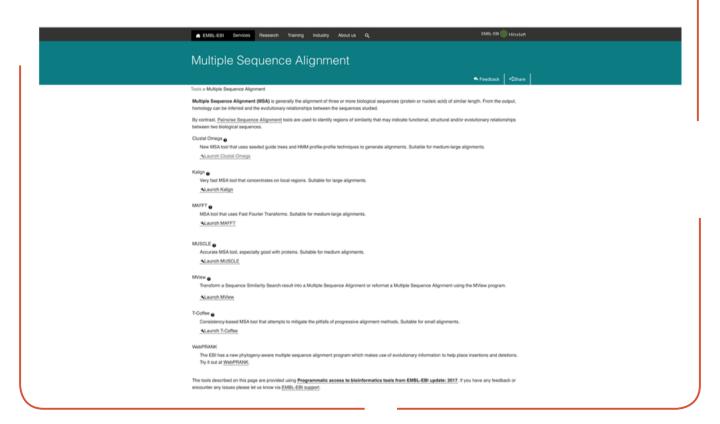


تنظیمات همراستایی را از حالت پیش فرض تغییر دهید. ماتریس جهش مورد استفاده و گپ پنالتی از جمله این موارد هستند. در آخر دکمهی submit را زده و منتظر شوید تا همراستایی انجام شود. در پایان با چنین صفحه ای مواجه میشوید که خلاصه تنظیمات و نتایج همراستایی را در بر دارد.

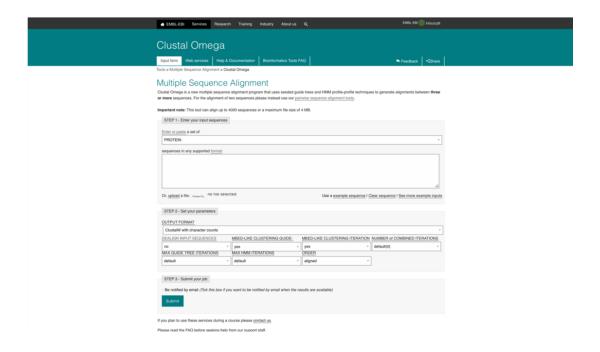


Multiple alignment: با استفاده از این ابزار میتوانید چندین توالی را با هم مقایسه کنید. امکان استفاده از خروجی این نوع همراستایی برای کشیدن درخت فیلوژنتیک نیز وجود دارد.

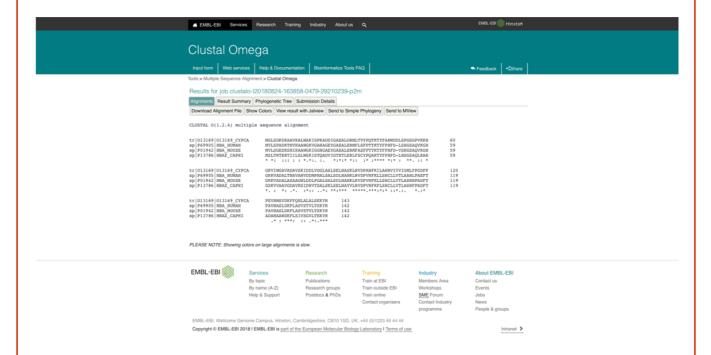
برای شروع مرورگر خود را بر روی آدرس ebi.ac.uk/tools/msa قرار دهید. در این صفحه الگوریتم های مختلف برای همراستایی چندگانه را مشاهده میکنید. در این مثال از الگوریتم Clustal Omega برای مقایسهی چند توالی پروتئین استفاده می کنیم.



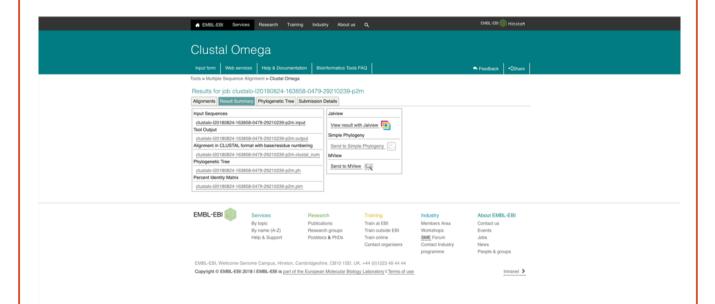
در اولین پنجره Enter or paste a set of امکان تغییر همراستایی برای نوکلئوتید وجود دارد. در ابتدا توالی های FASTA مورد نظر خود را در پنجره مربوطه کپی کنید. دقت داشته باشید که بین پایان یک توالی و آغاز توالی بعد باید یک خط فاصله باشد.



پس از پایان کار صفحهی زیر را مشاهده خواهید کرد. با کلیک کردن روی تب های مختلف بالای صفحه میتوانید اطلاعات بیشتری راجع به این همراستایی پیدا کنید یا آن را به عنوان ورودی به برنامه های دیگر بدهید.



با کلیک بر روی تب Result summary با صفحهی زیر مواجه خواهید شد. هر کدام از لینک های موجود در صفحه اطلاعاتی در مورد همراستایی انجام شده به شما میدهد.



Uniprot

Uniprot یکی از مهم ترین Data Base های بیوانفورماتیکی به ویژه در زمینه پروتئین هاست. از این سایت میتوانید برای اهداف زیر استفاده کنید :

- 1) پیدا کردن توالی پروتئین با داشتن اسم آن
- 2) پیدا کردن توالی پروتئین با داشتن قطعه ای از توالی آن
- 3) به دست آوردن اطلاعات پیشرفته در رابطه با پروتئین ها (برهمکنش ها ، بیماری ها و ...)

در ادامه به توضیح بخش های مختلف این سایت می پردازیم . عکس های مربوط به این بخش در قالب ضمیمه به شما داده شده است .

بخش اول: صفحه اصلى (عكس شماره 1)

بخش اصلی این سایت به نام UniProtKB (knowledgebase) متشکل از داده های پروتئین ها به صورت مجزاست (هر پروتئین کد و صفحه مخصوص به خود را دارد) .

فلش ۱: از این قسمت با جستجو نام پروتئین یا ژن کد کننده آن می توانید به اطلاعات آن پروتئین دسترسی پیدا کنید.

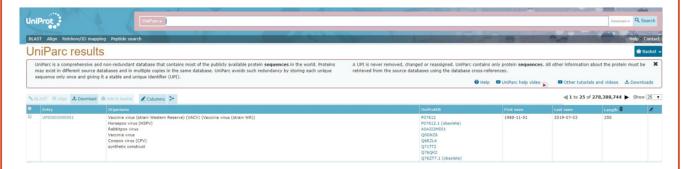
فلش ۲: UniProtKB از دو دسته داده پروتئین تشکیل شده است :

- دسته اول یا Prot-Swiss شامل پروتئین هایی است که علاوه بر پیش بینی وجود و توالی شان از روی داده های DNA ، به صورت مستقیم (خود پروتئین) نیز بررسی و تایید شده است .
- دسته دوم یا TrEMBL هـمان طـور که از اسـم اش نیز مـشخص می شـود (Translate of EMBL) تـنها از پیش
 بینی وجود و توالی پروتئین از روی توالی های DNA موجود در DataBase سایت EMBL بوجود آماده است و از
 اعتبار کمتری بر خوردار می باشد

فلش <u>۳</u>: UniRef دربردارنده خانواده های پروتئینی است (آستانه ای که دو توالی را در یک خانواده در نظر بگیرد در سه سطح 50 و 90 و 100 درصد قابل تنظیم است).



فلش $rac{}{}$: UniParc در واقع DataBase ای است که از یکی کردن توالی های که در UniProtKB بیش از یک بار با نام های متفاوت تکرار شده بودند به وجود آمده است .



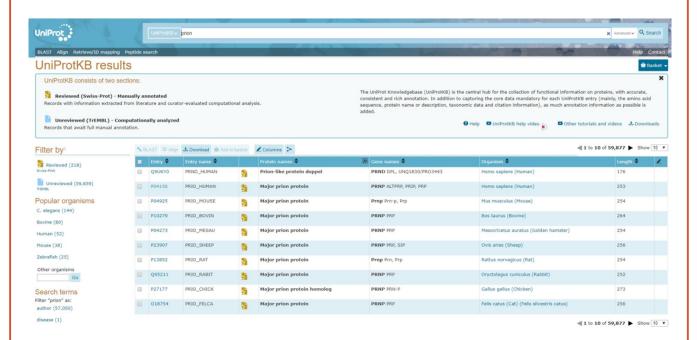
فلش ۵: Proteomes دربردارنده تمام توالی های پروتئینی مربوط به یک ارگانیسم می باشد . اکثر این توالی ها از پیش بینی وجود و توالی پروتئین از روی ژنوم این ارگانیسم ها به دست آمده است .



فلش <u>6</u> : برای جست و جوی بیماری ها و از آن طریق فهمیدن پروتئین های دخیل در آن بیماری ها به کار می رود . فلش <u>7</u> : برای جست و جوی ساختار های سلولی و پروتئین های موجود در آن ساختار ها به کار می رود .

بررسی یک پروتئین

برای این کار ابتدا نام پروتئین مد نظر (در این مورد prion) را در نوار جست و جو UniProtKB وارد می کنیم . صفحه زیر ظاهر میشود:



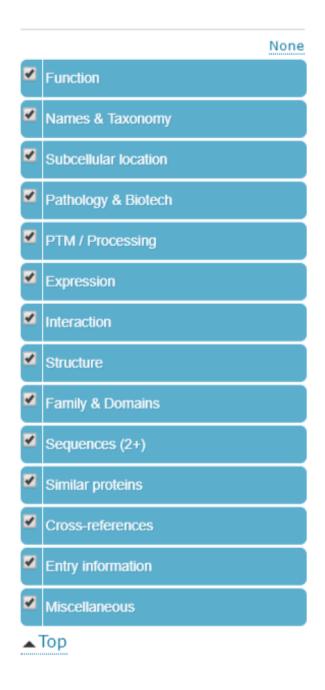
در این صفحه لیستی از پروتئین ها با نام های مشابه یا یکسان با نام وارد شده مشاهده می کنید با انتخاب یکی از پروتئین ها می توانید وارد صفحه جزییات آن شوید .

*از ستون سمت چپ می توان برای انتخاب ارگانیسمی که پروتئین متعلق به آن است استفاده کرد .

^{*}با انتخاب چند پروتئین می توان Alignment انجام داد .

اطلاعات پروتئین (تصویر شماره ۲):

این صفحه شامل اطلاعات متنوعی در مورد پروتئین مد نظر ما است که در چند دسته بندی قرارگرفته اند . برای مشاهده هر کدام از این قسمت ها باید تیک کنار آن قسمت در جدول سمت چپ صفحه زده شده باشد. * پیشنهاد می شود که ابتدا همه تیک ها را برداشته (بوسیله دکمه None) و سپس تک تک قسمت ها را بررسی کنید .



دستەبندىھا:

- 1. Function : این قسمت نمایی کلی از ساختار و عملکرد پروتئین به ما می دهد .
- 2. Taxonomy & Name : نام رسمی و کد مخصوص این پروتئین را در این سایت و پایگاه داده های دیگر می دهد .
 - 3. Subcellular location : جایگاه پروتئین مد نظر را در سلول نشان می دهد
- 4. Biotech & Pathology : نـشان دهـنده بيماری هـای مـرتبط بـا اين پـروتئين و جـهش هـایی در پـروتئين اسـت که باعث آن بيماری ها ميشوند .
 - 5. Processing/PTM : نشان دهنده تغییرات بعد از ترجمه پروتئین (سیگنال پپتید ، گلیکوزیلاسیون و ...) است .
 - 6. Expression : حاوی لینک پایگاه داده های بیان این پروتئین در بافت های مختلف است .
 - 7. Interaction : نشان دهنده برهمکنش دو به دو پروتئین مد نظر ما با دیگر پروتئین ها است .
 - 8. Structure : نشان دهنده ساختار سه بعدی پروتئین می باشد .
 - 9. Domains & Family : نشان دهنده دمین های ساختاری یا عملکردی موجود در پروتئین است .
- Sequences.10 : این قـسمت شـامـل تـوالی پـروتئین اسـت که میتوان آن را بـه صـورت فـایل FASTA ذخیره کرد و همچنین جهش ها و پلی مورفیسم موجود برای این پروتئین است .
 - Similar proteins.11 : این قسمت پروتئین های شبیه به این پروتئین از نظر ساختار اول را نشان می دهد .
- references-Cross.12 و Entry information : حاوی اطلاعاتی مربوط به کد مخصوص این پروتئین در این پایگاه داده یا کد معادل در پایگاه داده های دیگر است .

سؤالات عملي

تنها ابزار های مجاز برای استفاده در این بخش سایت های EBI , NCBI , Uniport می باشند و استفاده از اینترنت (غیر از موارد ذکر شده) و یا ابزار های آفلاین (مانند نوت پد یا اکسل) ممنوع می باشد و با فرد خاطی برخورد خواهد شد .

- ۱. برای هر کدام از بیماری های ژنتیکی زیر : در کل 50 نمره
- توضیح کوتاهی از پاتولوژی بیماری به فارسی بنویسید . **1 نمره**
- ژن یا ژن ها و پروتئین یا پروتئین های درگیر در بیماری را بیابید . **2 نمره**
- عملکردهای احتمالی پروتئین یا پروتئین های درگیر در بیماری را بنویسید . **1 نمره**
- توالی بخش CDC ژن یا ژن های درگیر در بیماری را در فرمت FASTA در فایل Q1.TEXT در پوشه Q1 ذخیره کنید (اسم هر بیماری را قبل توالی های مورد نظر ذکر کنید) . **3 نمره**
 - جهش یا جهش های عامل بیماری را مشخص کنید (در صورت تعداد بالا 3 مورد ذکر شود) **. 2 نمره**
 - مکان تجمع و قرارگیری پروتئین ها را معین کنید . **1 نمره**

فاويسم (Favism)

) هانتینگتون (Huntington) :
	: (Phenylketonuria) فنیل کتونوریا
	. (۱ nenymetonana) عين حين

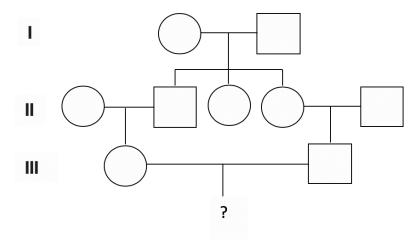
	: (Alkaptonuria)):
	دیستروفی عضلانی دوشن (Duchenne muscular dystrophy) :
ı	
I	

برای سوالات بعدی به توضیحات زیر توجه کنید:

کمخونی داسی شکل یک بیماری ژنتیکی و یک اختلال خونی است که با هموگلوبین معیوب (Hbss) شناخته میشود. سلول های هموگلوبین سلول داسی سفت و به شکل داس میباشند. این مولکولهای هموگلوبین تمایل دارند به شکل خوشهای و در کنار یکدیگر قرار گیرند، بنابراین به راحتی از مویرگهای خونی عبور نمیکنند.

سلولهای طبیعی بیش از ۱۲۰ روز زنده هستند، سلولهای داسی بعد از ۲۰–۱۰ روز از بین میروند. این روند طی یک دوره مزمن منجر به بروز کم خونی میگردد.

هر دو نسخه ژن بتا هموگلوبین افراد یک شجره نامه توالی یابی شد و توالی آن ها در پوشه Q2 در اختیار شما گرفته است , برای هر فرد دو توالی (دو کروموزوم) وجود دارد که با L1 و L2 مشخص شده اند , با توجه به توالی ها و اطلاعات بالا به سوالات زیر پاسخ دهید . فرض کنید فراوانی آلل این بیماری در جامعه برابر 10 درصد می باشد .



۱. ژنوتیپ تمام افراد شجره را مشخص کرده و بنویسید. در مواردی که پاسخ به صورت قطعی مشخص نیست حالت های ممکن و احتمال هر یک را بنویسید . 9 نمره

۳. صحت صحت گزاره های زیر را بررسی کنید . 20 نمره (هر پاسخ درست 25+ هر پاسخ نادرست -2)
الف) برای تشخیص اولیه هانتینگتون در جمعیت باید از تستی با حساسیت بالا استفاده کنیم .
ب) انتظار می رود در خون بیمار مبتلا به فنیل کتونوریای کنترل نشده شاهد مقادیر افزایش یافته هورمون های
تیروئیدی آزاد باشیم . پ) بیماری گلبول قرمز داسی شکل را می توان یک بیماری اتوزومی غالب با تجلی پذیری پایین در حالت هتروزیگوت
پ) بینماری خببول فرمز قاسی شمل را می فوال یک بینماری الوروندی عالب به قبلی پاتیری پایین فار خانک معروریتوک در نظر گرفت .
ت) هموگلوبین معیوب (Hbss) در کانفورماسیون Tight نسبت به کانفورماسیون Relax تمایل بیشتری به تجمع و
پلیمر شدن دارد .
ج) به دلیل فشار سهمی اکسیژن کمتر در خون جنین , تجلی پذیری بیماری گلبول قرمز داسی شکل در دوران جنینی شهرای ت
بیشتر است. د) در بیماری فاویسم میزان بیان ژن گلوتاتیون <u>در گلبول های قرمز</u> افزایش می یابد.
ه) با توجه به اطلاعات داده شده , خانواده مورد بررسی ما احتمالا از مناطقی با شیوع بالای مالاریا انتخاب شده است .
ی) در بیماری بتا تالاسمی , جهش ایجاد شده در زنجیره بتا از نوعMissense می باشد.

۲. چه قدر احتمال دارد فرزند مشخص شده با علامت سوال , دختری بیمار باشد ؟ 1 نمره