PEC 2 - Genómica Computacional

Alejandro Keymer

Ejercicio 1. Estrategias de alineamiento [50%]

1.El programa CLUSTAL realiza alineamientos globales de dos o más secuencias. Conectaos al servidor implementado en el EBI para comparar la secuencia CDS del gen TMEM106B obtenida desde RefSeq (UCSC) para humano y ratón en la PEC1 anterior (hg38 y mm10, respectivamente). http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/

```
CLUSTAL O(1.2.4) multiple sequence alignment


human       ATGGGAAAGTCTCTTTCTCATTTGCCTTTGCATTCAAGCAAAGAAGATGCTTATGATGGA 60
mouse       ATGGGAAAGTCTCTTTCTCACTTACCTTTGCATTCAAATAAAGAAGATGGCTATGATGGC 60
            ******************** ** *************  **********  ******** 

human       GTCACATCT---GAAAACATGAGGAATGGACTGGTTAATAGTGAAGTCCATAATGAAGAT 117
mouse       GTTACATCGACAGACAATATGAGAAATGGATTGGTTAGCAGTGAAGTGCACAACGAAGAC 120
            ** *****    ** ** ***** ****** ******  ******** ** ** ***** 

human       GGAAGAAATGGAGATGTCTCTCAGTTTCCATATGTGGAATTTACAGGAAGAGATAGTGTC 177
mouse       GGAAGAAATGGAGATGTCTCTCAGTTCCCATATGTGGAATTTACTGGAAGAGATAGTGTC 180
            ************************** ********************** ********** 

human       ACCTGCCCTACTTGTCAGGGAACAGGAAGAATTCCTAGGGGGCAAGAAAACCAACTGGTG 237
mouse       ACTTGTCCCACTTGCCAAGGAACAGGAAGAATTCCTAGGGGACAAGAAAACCAACTGGTG 240
            ** ** ** ***** ** ********************** ********** 

human       GCATTGATTCCATATAGTGATCAGAGATTAAGGCCAAGAAGAACAAAGCTGTATGTGATG 297
mouse       GCATTGATTCCATATAGTGATCAGCGGTTACGGCCAAGAAGAACAAAGCTGTATGTGATG 300
            ************************ * *** ********************** 

human       GCTTCTGTGTTTGTCTGTCTACTCCTTTCTGGATTGGCTGTGTTTTTCCTTTTCCCTCGC 357
mouse       GCGTCTGTGTTTGTCTGCCTGCTCCTGTCTGGATTGGCTGTGTTTTTTCTTTTCCCTCGA 360
            ** ************** ** ***** ********** ********** 

human       TCTATCGACGTGAAATACATTGGTGTAAAATCAGCCTATGTCAGTTATGATGTTCAGAAG 417
mouse       TCTATTGAGGTGAAGTACATTGGAGTAAAATCAGCCTATGTCAGCTACGACGCTGAAAAG 420
            ***** ** ***** ******** ********** ** ** * * * *** 

human       CGTACAATTTATTTAAATATCACAAACACACTAAATATAACAAACAATAACTATTACTCT 477
mouse       CGAACCATATATTTAAATATCACGAACACACTAAATATAACAAATAATAACTATTATTCT 480
            ** ** ** ********** ********** ********** *** 

human       GTCGAAGTTGAAAACATCACTGCCCAAGTTCAATTTTCAAAAACAGTTATTGGAAAGGCA 537
mouse       GTTGAAGTTGAAAACATCACTGCTCAAGTCCAGTTTTCAAAAACCGTGATTGGAAAGGCT 540
            ** ********** ***** ** ********** ** ********** 

human       CGCTTAAACAACATAACCATTATTGGTCCACTTGATATGAAACAAATTGATTACACAGTA 597
```

```
mouse       CGTTTAAACAACATAACTAACATTGGCCCACTTGATATGAAGCAGATTGATTATACGGTA 600
            ** ************** *  ***** ************** ** ******** ** ***

human       CCTACCGTTATAGCAGAGGAAATGAGTTATATGTATGATTTCTGTACTCTGATATCCATC 657
mouse       CCCACAGTTATTGCAGAGGAAATGAGTTACATGTATGATTTCTGTACACTGCTCTCCATC 660
            ** ** ***** ***************** ***************** *** * ******

human       AAAGTGCATAACATAGTACTCATGATGCAAGTTACTGTGACAACAACATACTTTGGCCAC 717
mouse       AAAGTGCACAACATAGTACTCATGATGCAAGTTACTGTAACAACAGCATACTTTGGACAC 720
            ******** ***************************** ****** ********** ***

human       TCTGAACAGATATCCCAGGAGAGGTATCAGTATGTCGACTGTGGAAGAAACACAACTTAT 777
mouse       TCTGAGCAGATATCTCAGGAAAGGTACCAGTATGTCGACTGTGGAAGGAACACGACTTAC 780
            ***** ******** ***** ***** ******************** ***** *****

human       CAGTTGGGGCAGTCTGAATATTTAAATGTACTTCAGCCACAACAGTAA 825
mouse       CAGTTGGCCCAGTCTGAGTATCTAAATGTCCTTCAGCCACAACAATAA 828
            *******  ******** *** ******* ************** ***
```

2. Repetid este mismo alineamiento global, utilizando ahora las respectivas proteínas de este gen en cada especie (que previamente debéis volver a recuperar de la entrada de RefSeq). Valorad el grado de homología entre estas dos secuencias.

```
CLUSTAL O(1.2.4) multiple sequence alignment


human       MGKSLSHLPLHSSKEDAYDGVTS-ENMRNGLVNSEVHNEDGRNGDVSQFPYVEFTGRDSV 59
mouse       MGKSLSHLPLHSNKEDGYDGVTSTDNMRNGLVSSEVHNEDGRNGDVSQFPYVEFTGRDSV 60
            ************.***.****** :*******.**************************

human       TCPTCQGTGRIPRGQENQLVALIPYSDQRLRPRRTKLYVMASVFVCLLLSGLAVFFLFPR 119
mouse       TCPTCQGTGRIPRGQENQLVALIPYSDQRLRPRRTKLYVMASVFVCLLLSGLAVFFLFPR 120
            ************************************************************

human       SIDVKYIGVKSAYVSYDVQKRTIYLNITNTLNITNNNYYSVEVENITAQVQFSKTVIGKA 179
mouse       SIEVKYIGVKSAYVSYDAEKRTIYLNITNTLNITNNNYYSVEVENITAQVQFSKTVIGKA 180
            **:***************.:****************************************

human       RLNNITIIGPLDMKQIDYTVPTVIAEEMSYMYDFCTLISIKVHNIVLMMQVTVTTTYFGH 239
mouse       RLNNITNIGPLDMKQIDYTVPTVIAEEMSYMYDFCTLLSIKVHNIVLMMQVTVTTAYFGH 240
            ****** ******************************:*****************:****

human       SEQISQERYQYVDCGRNTTYQLGQSEYLNVLQPQQ  274
mouse       SEQISQERYQYVDCGRNTTYQLAQSEYLNVLQPQQ  275
            **********************.************
```

La homología para las proteínas es bastante elevada, y mayor a la de las secuencias de ADN. Esto tiene relación con la capacidad del ADN de codificar para un mismo AA a pesar de que una de las bases de los codones sea diferente. Para cada AA es usual que exista mas de una combinación de tripletes de bases.

3. El programa BLAST realiza alineamientos locales. Conectaos a BLAST, en el servidor principal del NCBI, para buscar qué versión de este programa debéis utilizar para alinear dos secuencias. Realizad ahora el alineamiento local de las dos regiones CDS del gen TMEM106B. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/

```
Query: human Query ID: lcl|Query_10551 Length: 825

>mouse
Sequence ID: Query_10553 Length: 828
Range 1: 1 to 828

Score:1000 bits(541), Expect:0.0,
Identities:733/828(89%),  Gaps:3/828(0%), Strand: Plus/Plus

Query  1    ATGGGAAAGTCTCTTTCTCATTTGCCTTTGCATTCAAGCAAAGAAGATGCTTATGATGGA  60
            ||||||||||||||||||| || |||||||||||||  ||||||||||  ||||||||
Sbjct  1    ATGGGAAAGTCTCTTTCTCACTTACCTTTGCATTCAAATAAAGAAGATGGCTATGATGGC  60

Query  61   GTCACAT---CTGAAAACATGAGGAATGGACTGGTTAATAGTGAAGTCCATAATGAAGAT  117
            || ||||   | || || ||||| |||||| ||||||  |||||||| || || |||||
Sbjct  61   GTTACATCGACAGACAATATGAGAAATGGATTGGTTAGCAGTGAAGTGCACAACGAAGAC  120

Query  118  GGAAGAAATGGAGATGTCTCTCAGTTTCCATATGTGGAATTTACAGGAAGAGATAGTGTC  177
            ||||||||||||||||||||||||| |||||||||||||||| ||||||||||||||||
Sbjct  121  GGAAGAAATGGAGATGTCTCTCAGTTCCCATATGTGGAATTTACTGGAAGAGATAGTGTC  180

Query  178  ACCTGCCCTACTTGTCAGGGAACAGGAAGAATTCCTAGGGGGCAAGAAAACCAACTGGTG  237
            || || || ||||| || ||||||||||||||||||||||| ||||||||||||||||||
Sbjct  181  ACTTGTCCCACTTGCCAAGGAACAGGAAGAATTCCTAGGGGACAAGAAAACCAACTGGTG  240

Query  238  GCATTGATTCCATATAGTGATCAGAGATTAAGGCCAAGAAGAACAAAGCTGTATGTGATG  297
            ||||||||||||||||||||||| | ||| ||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  241  GCATTGATTCCATATAGTGATCAGCGGTTACGGCCAAGAAGAACAAAGCTGTATGTGATG  300

Query  298  GCTTCTGTGTTTGTCTGTCTACTCCTTTCTGGATTGGCTGTGTTTTTCCTTTTCCCTCGC  357
            || ||||||||||||||| || ||||| |||||||||||||||||||| ||||||||||
Sbjct  301  GCGTCTGTGTTTGTCTGCCTGCTCCTGTCTGGATTGGCTGTGTTTTTTCTTTTCCCTCGA  360

Query  358  TCTATCGACGTGAAATACATTGGTGTAAAATCAGCCTATGTCAGTTATGATGTTCAGAAG  417
            ||||| || ||||| |||||||| |||||||||||||||||||| || || | | | |||
Sbjct  361  TCTATTGAGGTGAAGTACATTGGAGTAAAATCAGCCTATGTCAGCTACGACGCTGAAAAG  420

Query  418  CGTACAATTTATTTAAATATCACAAACACACTAAATATAACAAACAATAACTATTACTCT  477
            || || || ||||||||||||||| |||||||||||||||||||| |||||||||| |||
Sbjct  421  CGAACCATATATTTAAATATCACGAACACACTAAATATAACAAATAATAACTATTATTCT  480

Query  478  GTCGAAGTTGAAAACATCACTGCCCAAGTTCAATTTTCAAAAACAGTTATTGGAAAGGCA  537
            || |||||||||||||||||| ||||| || |||||||||| || ||||||||||
Sbjct  481  GTTGAAGTTGAAAACATCACTGCTCAAGTCCAGTTTTCAAAAACCGTGATTGGAAAGGCT  540

Query  538  CGCTTAAACAACATAACCATTATTGGTCCACTTGATATGAAACAAATTGATTACACAGTA  597
            || |||||||||||||  |  ||||| ||||||||||||||| || |||||||| || |||
Sbjct  541  CGTTTAAACAACATAACTAACATTGGCCCACTTGATATGAAGCAGATTGATTATACGGTA  600

Query  598  CCTACCGTTATAGCAGAGGAAATGAGTTATATGTATGATTTCTGTACTCTGATATCCATC  657
            || || ||||| |||||||||||||||| |||||||||||||||| ||| | ||||||
Sbjct  601  CCCACAGTTATTGCAGAGGAAATGAGTTACATGTATGATTTCTGTACACTGCTCTCCATC  660

Query  658  AAAGTGCATAACATAGTACTCATGATGCAAGTTACTGTGACAACAACATACTTTGGCCAC  717
```

```
            |||||||| |||||||||||||||||||||||||||| |||||| |||||||||| |||
Sbjct  661  AAAGTGCACAACATAGTACTCATGATGCAAGTTACTGTAACAACAGCATACTTTGGACAC  720
```

4. Ahora utilizad el servidor de CLUSTAL para alinear globalmente la secuencia genomicA.txt y la secuencia genomicB.txt que encontraréis adjuntas a este enunciado.

```
CLUSTAL O(1.2.4) multiple sequence alignment


genomicA      cagaagaattgcttgaaccagggaggtggaggttgcagtgagcagagatcacgccactgc  60
genomicB      -----------------gctgggatg--tggggagcagtgttctgaggctgagcag-gac  40
                             * **** *    **  ******  * ***     **     *

genomicA      actcctgcttaagtgacagagtgagactccatctcaaaaaaaaaaaaaaaaattcctatta  120
genomicB      agtgaggccttgggcctggcct----------ctgaaaccatttttttccacctaggcctc  90
              * *   ** *  *     *  *          ** ***  *        *  *     *

genomicA      tgtgcttgagtaataccacccactctggcaaatcttaaaaaaagctcttggccgggtgcag  180
genomicB      tgagcctgtgtcctataacttattgcaggctgttagaagc------------aggcagac  138
              ** ** ** **  **  **  * *   *    *   **              **   *

genomicA      tggctcatgcctgtaatccccagaagaattgcttgaaccagggaggtggaggttgcagtg  240
genomicB      tactttctggatgctttgctgcttagaatttttttctgcca--------------------  179
              *   *  **  **   * *     ******  **    *

genomicA      agcagagatcacgccactgcactcctgcttaagtgacagagtgagactccatctcaaaaa  300
genomicB      ----ga-----------tatcctaggtcatcactctATGAGTGTGGATCCAGCTTGT---  221
                  **          *   **    * * * *    ***** *  **** **

genomicA      aaaaaaaaaaattcctattatgtgcttgagtaataccacccactctggcaaatcttaaaa  360
genomicB      -------------------------------------CCCCAAAGCTTGCCTTGCTTTGAA  245
                                                  * ** *  ** **    ***  **

genomicA      aagctcttggccgggtgcagtggctcatgcctgtaatcccATGGGAAAGTCTCTTTCTCA  420
genomicB      GCATCat--gggaggagctgtctctaagatctctaaagtgactttgaggccttttgctca  303
                    *  *   ** ** **  ** *   ** ***    *     * * ** ** ****

genomicA      TTTGCCTTTGCATTCAAGCAAAGAAGATGCagttccccatttctgtcgccacacctctga  480
genomicB      ttgtcttggatattagccctt---------ggcacccttttagtcacgctaatccccta  354
              **  * *    ***    *            *  ***  **  *  *** *  ** *  *

genomicA      gatggtgcctgtgtctgtcattgtttcttgaatcaatctagacctcagttctaaagaacc  540
genomicB      gcaagtggttgctccacagcctgtttat-----------attcctctctc--aataatgc  401
              *   ***  **   *      ***** *           *  ****  *   **  *  *

genomicA      ctaaaaactctgtccgtgaatcttgggggaaggaggaagtcaatgtaaaatacttccata  600
genomicB      ttttttattctctgccacatgg--ctggctacgagttttccaaacttgta----tgcttt  455
               *    * *** * *   *       **  * ***     ***  *   *    * * *

genomicA      ttgtatttctaagatgtctatttccccttt--gtgattattttgactgcaagtgtccgtg  658
genomicB      gtttccctttaaatgtaagtttcagctttaagtcatttctttgcatggggagcagatga  515
               * *   * * * ****   ****  ****  ** ***  ****  **
```

```
genomicA      aatcttgggggaaggaggaagtcaatgtaaaatacttccatattgtatttctaagatgtc  718
genomicB      atcatatggtgagagaggaagtcacagagagagactaggatgtggtaccagactcttaag  575
              *   *  ** **  **********  *  * * ***   ** * ***        *

genomicA      tatttccccttgtgattattttgactgcaagATGAGTGTGGATCCAGCTTGTCCCCAAA  778
genomicB      caatcaaatctcacgtgaactaactgagcaagaa----------gtgacttatcaccaag  625
               * *      *   *   * *      ******              *** ** ****

genomicA      GCTTGCCTTGCTTTGAAGCATCagttccccattt-----------ctgtcgccacacctc  827
genomicB      gggtgttaaccattcatgagggatctgcccacatgatccaatcacctcccaccaggaaat  685
              *  **     * ** * *    *  * ****  *          **  * ***

genomicA      tgagatggtgcctgtgtctgtcattgtttcttgaatcaatctagacctcagttctaaaga  887
genomicB      cacattggtttccaaATGGGAAAGTCTCTTTCTCATTTG---------CCTTTGCATTCA  736
                   ****  *    *  *  * * * * *   **           *  **  *   *

genomicA      accctaaaaactcagttccccatttctgtcgccacacctctgagatggtgcctgtgtctg  947
genomicB      AGCAAAGAAGATGCtgcccacatgatccaatcacctcccaccaggaaatcacattgggaa  796
              * *  * **  *     ** ***       *  * **    **    *  *  **

genomicA      tcattgtttcttgaatcaatctagacctcagttctaaagaaccctaaaaactc 1000
genomicB      tcac---------------------------------------------------- 800
              ***
```

5. Proceded ahora a efectuar el alineamiento local con BLAST de la secuencia genómica genomicA.txt y la secuencia genomicB.txt adjuntadas con el enunciado.

```
Query: genomicA Query ID: lcl|Query_58539 Length: 1000

>genomicB
Sequence ID: Query_58541 Length: 800
Range 1: 201 to 251

Score:95.3 bits(51), Expect:2e-23,
Identities:51/51(100%),  Gaps:0/51(0%), Strand: Plus/Plus

Query  751  ATGAGTGTGGATCCAGCTTGTCCCCAAAGCTTGCCTTGCTTTGAAGCATCA  801
            |||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  201  ATGAGTGTGGATCCAGCTTGTCCCCAAAGCTTGCCTTGCTTTGAAGCATCA  251




Range 2: 701 to 750

Score:93.5 bits(50), Expect:6e-23,
Identities:50/50(100%),  Gaps:0/50(0%), Strand: Plus/Plus

Query  401  ATGGGAAAGTCTCTTTCTCATTTGCCTTTGCATTCAAGCAAAGAAGATGC  450
            ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  701  ATGGGAAAGTCTCTTTCTCATTTGCCTTTGCATTCAAGCAAAGAAGATGC  750
```

6. Comparad los resultados del alineamiento global y local en los dos casos anteriores (2 CDSs o las secuencias genomicA.txt y genomicB.txt). Decidid cuál de los dos programas probados

es más adecuado para cada caso en función de la estrategia empleada.

En el caso de alinear dos regiones CDS, dado que la preservación del codigo entre las especies es elevada, no hay mayor diferencia entre una alineamiento global con uno local. PAra alinear regiones CDS tiene mas sentido realizar una alineamiento global, que permita ver el grado de preservación y similitud de la proteína codificada.

En este caso de alinear dos secuencias desconocidas, si que hay diferencias entre un alineamiento global y uno local. El alineamiento local sólo nos muestra aquellas regiones que preservan un alineamiento por sobre un limite determinado. En este caso detecta que las regiones locales que mejor se alinean son una región mas inicial (201-251) del `genomicB` con una final (751-801) del `genomicA` y otra alineación de una región final (701-750) de `genomicB` con una media (401-450) de `genomicA`. Al tener dos secuencias desconocidas, tiene mas sentido realizar un alineamiento local para valorar si las secuencias tienen elementos comunes reconocibles, como secuencias de control.

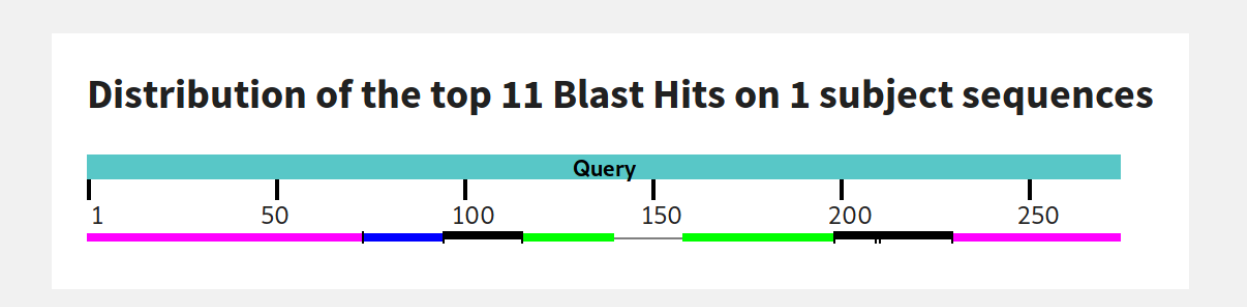
7. Unos investigadores que trabajan con el genoma del pollo (chicken) nos envían la secuencia adjunta genomicC.txt, pues sospechan que la forma ortóloga de nuestro gen TMEM106B está codificada en su interior. Decidid qué versión de BLAST debéis utilizar para validar esta hipótesis con la proteína humana (que tenéis de pasos previos), anotando su homóloga en esta región genómica de pollo. En caso de respuesta afirmativa, interpretad el grado de homología resultante entre ambas proteínas.

Esta pregunta la había formulado de dos maneras. Se podría utilizar el *tblastn* para que permite buscar secuencias de proteínas similares a la `TMEM106B`, o bien, utilizar *blastx* que permite buscar productos potenciales codificados en la secuencia de `genomicC.txt` y valorar su alineación con `TMEM106B`.

Por lo que entiendo de la pregunta, la Hipótesis que se baraja es que el *gen* ortólogo esta codificado en la secuencia, por lo que lo correcto sería utilizar la primera aproximación, es decir, utilizando *tblastn* para valorar si en la secuencia se encuentra el gen que codifica para la proteína que buscamos.

```
RID: Z9YBNTWX114
Job Title:Protein Sequence
Program: TBLASTN
Query: None ID: lcl|Query_24331(amino acid) Length: 274
Subject:genomicC ID: lcl|Query_24333(dna) Length: 21894

Sequences producing significant alignments:
                                                                  Max    Total Query   E    Per.
Description                                                       Score  Score cover Value Ident  Acces
genomicC                                                          114    537   93%   1e-31 75.68  Query
```

La consulta devuelve 11 resultados de alineamiento. El resultado global es relativamente bueno, con una identificación del 75% y un valor e bajo.



En la gráfica se puede observar que si hay *scores* altos en varios de los resultados, pero a su vez, hay algunas regiones que no se alinean tan bien.

8. El programa MEME representa una familia alternativa de herramientas bioinformáticas para comparar secuencias. Definid en pocas palabras qué tipo de tarea realiza esta aplicación y cómo puede ser empleado dentro del área de estudio de la regulación génica mediante factores de transcripción:

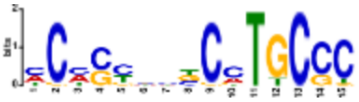
Las herramientas contenidas en la plataforma MEME permiten la utilización de herramientas matemáticas para el análisis de patrones o *motivos* que se pueden encontrar en secuencias de nucleótidos o proteínas. LA búsqueda de *motivos* es esencial en la tares de encontrar los segmentos de la secuencias que codifican para proteínas como las que actúan como señales de control en la maquinaria de transcripción.

9. Vamos a estudiar la regulación transcripcional de nuestro gen TMEM106B a lo largo de la evolución. En primer lugar, empleando el navegador genómico de UCSC y las anotaciones de RefSeq, debéis extraer la región promotora del gen (seleccionad 5000 nucleótidos de longitud justo antes del inicio de transcripción del gen en cada especie) para estas especies: humano (hg38), ratón (mm10), rata (rn6) y pollo (galgal6).

10. En segundo lugar, emplead el programa MEME para comparar esas cuatro secuencias ortólogas. Buscamos los 10 mejores motivos que posean una longitud entre 5 y 15 pares de bases. Explorad qué función puede jugar el programa TOMTOM integrado dentro de la suite de programas MEME y efectuad una prueba con alguno de los motivos identificados.

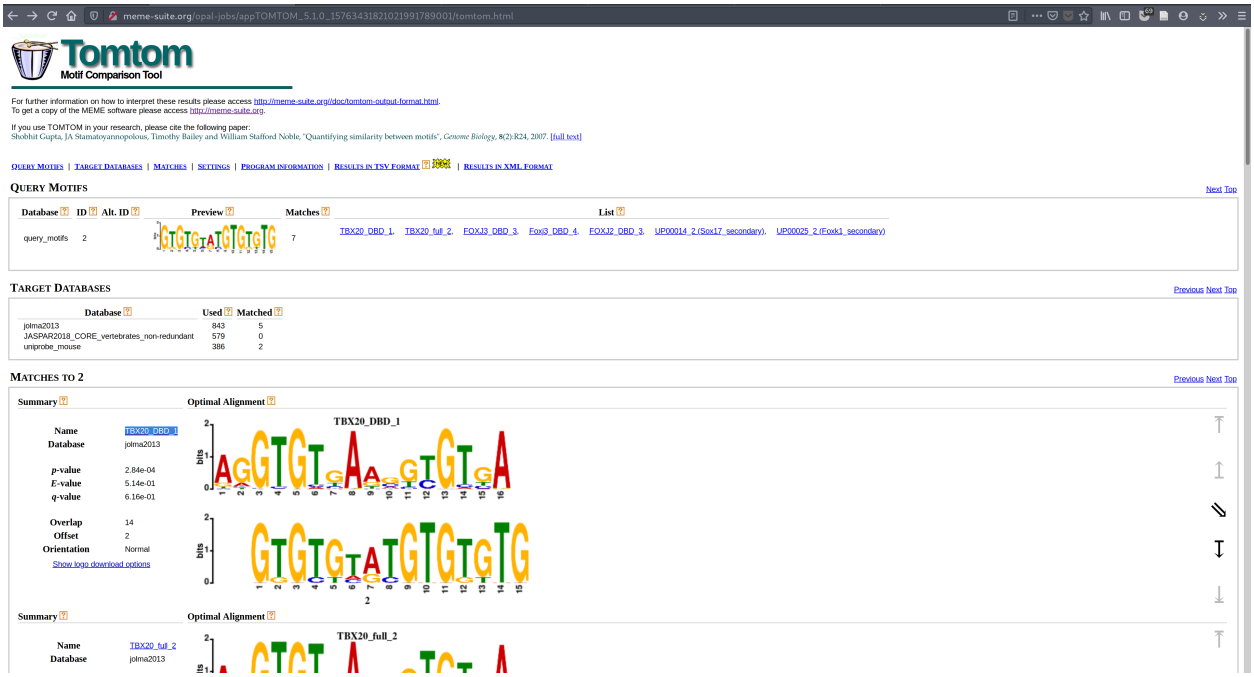
En este caso realicé la búsqueda utilizando la opción *any number of repetitions* en la sección de *Site Distribution*. Mi razonamiento fue que al ser la región promotora, me gustaría identificar patrones o *motivos* de esta región que se pueden repetir entre las especies o en cada secuencia. Además modifiqué los parámetros para buscar secuencias de entre 5 a 15 pares.

DISCOVERED MOTIFS

	Logo	E-value	Sites	Width	More	Submit/Download
1.		2.2e-019	19	15		
2.		3.8e-004	8	15		
3.		3.5e-006	18	15		
4.		1.7e-002	20	15		
5.		1.9e-003	17	15		
6.		7.6e+001	19	12		
7.		3.3e+002	18	15		
8.		3.0e+003	10	15		
9.		8.1e+003	9	14		
10.		3.5e+003	17	15		

Stopped because requested number of motifs (10) found.

Buscamos ahora el *motivo* `GTGTGTATGTGTGTG`. La primera coincidencia encontrada en TOMTOM es con el factor de anclaje de ADN, una **caja-T**, la `TBX20_DBD_1`



Ejercicio 2. Anotación computacional de genes [50%]

Estamos colaborando con un laboratorio de biología molecular que sospecha que la secuencia anónima.fa codifica un gen humano. Este fragmento genómico está representado en el formato FASTA habitual con una cabecera inicial y la secuencia a continuación (adjunto al enunciado):

1. Deseamos conocer las coordenadas de los exones que constituyen el gen codificado en esta secuencia. Como primer paso de nuestro protocolo de anotación, debéis utilizar el programa GENEID para recuperar el mejor gen identificado computacionalmente en esta región del genoma humano:

GENEID devuelve dos genes; uno primer gen de 11 exones y uno de 4 exones.

```
## date Thu Dec 12 12:44:56 2019
## source-version: geneid v 1.2 -- geneid@imim.es
# Sequence human - Length = 37571 bps
# Optimal Gene Structure. 2 genes. Score = 31.87
# Gene 1 (Forward). 11 exons. 622 aa. Score = 31.58
   First      157      286   9.81   + 0 1    8.07    2.83   20.67    0.00   AA   1: 44 human_1
Internal    10376    10458   1.45   + 2 0    5.58    2.65    3.77    0.00   AA  44: 71 human_1
Internal    12800    12857   0.89   + 0 1    3.87    3.09    5.54    0.00   AA  72: 91 human_1
Internal    15504    15655  -0.00   + 2 0    0.91    4.65    5.41    0.00   AA  91:141 human_1
Internal    16764    16828   1.03   + 0 2    4.32    1.67    6.10    0.00   AA 142:163 human_1
Internal    17225    17406   5.73   + 1 1    3.69    3.72   15.71    0.00   AA 163:224 human_1
Internal    23771    23865  -1.35   + 2 0   -0.44    3.68    4.25    0.00   AA 224:255 human_1
Internal    25045    25142   2.96   + 0 2    3.54    0.05   14.52    0.00   AA 256:288 human_1
Internal    26262    26281   2.17   + 1 1    6.90    4.53    0.77    0.00   AA 288:295 human_1
Internal    27296    27427   2.70   + 2 1    0.45    5.26   10.70    0.00   AA 295:339 human_1
Terminal    28008    28858   6.20   + 2 0    4.56    0.00   21.14    0.00   AA 339:622 human_1

# Gene 2 (Forward). 4 exons. 141 aa. Score = 0.28
   First    30518    30529  -2.92   + 0 0    1.42    1.23    1.21    0.00   AA   1:  4 human_2
```

```
Internal    30780    30932   0.68   + 0 0    2.81    3.31    5.01    0.00   AA   5: 55 human_2
Internal    31931    31994   2.93   + 0 1    4.88    4.80    5.31    0.00   AA  56: 77 human_2
Terminal    33682    33875  -0.40   + 2 0   -0.70    0.00   12.53    0.00   AA  77:141 human_2
```

2. Como segundo componente de nuestro pipeline, debéis emplear GENSCAN para recuperar el gen codificado internamente en esta secuencia humana:

GENSCAN devuelve un gen con 19 intrones, + una señal poly A

```
GENSCAN Output
View gene model output: PS | PDF
GENSCAN 1.0 Date run: 12-Dec-119    Time: 06:10:40

Sequence /tmp/12_12_19-06:10:39.fasta : 37571 bp : 47.68% C+G : Isochore 2 (43 - 51 C+G%)
Parameter matrix: HumanIso.smat
Predicted genes/exons:

Gn.Ex Type S .Begin ...End .Len Fr Ph I/Ac Do/T CodRg P.... Tscr..

----- ---- - ------ ------ ---- -- -- ---- ---- ----- ----- ------
 1.01 Init +    157    286  130  0  1  107   80   324 0.752  33.81
 1.02 Intr +  10376  10458   83  0  2   94   92    26 0.829   2.96
 1.03 Intr +  12800  12857   58  1  1   97   99    62 0.963   6.66
 1.04 Intr +  14362  14447   86  2  2   47   95    49 0.678   1.04
 1.05 Intr +  15128  15189   62  1  2   53   86    51 0.694  -1.07
 1.06 Intr +  15526  15655  130  1  1   27   99   108 0.642   6.50
 1.07 Intr +  16764  16828   65  2  2   78   83    73 0.995   3.32
 1.08 Intr +  17225  17406  182  2  2   77   91   192 0.962  17.91
 1.09 Intr +  23771  23865   95  0  2   37   94    55 0.688   0.68
 1.10 Intr +  25045  25142   98  0  2   64   26   129 0.640   3.11
 1.11 Intr +  26262  26281   20  0  2   91  100    -1 0.600  -2.35
 1.12 Intr +  27296  27427  132  0  0   41  121   120 0.872  11.22
 1.13 Intr +  27663  27851  189  1  0   51   67    92 0.625   2.96
 1.14 Intr +  28008  28732  725  1  2   85   95   470 0.762  38.55
 1.15 Intr +  30236  30380  145  1  1   71   48    71 0.368   1.26
 1.16 Intr +  30589  30671   83  2  2   30   51    91 0.478  -1.04
 1.17 Intr +  30780  30932  153  2  0  100  101   109 0.999  13.67
 1.18 Intr +  31931  31994   64  1  1  114  131    52 0.996  10.39
 1.19 Term +  33682  33875  194  2  2   52   55   187 0.999   9.38
 1.20 PlyA +  35500  35505    6                              -0.45
```

3. Finalmente, como tercer componente del proceso, utilizad el programa FGENESH para identificar también la predicción de este sistema:

FGNESH identifica 16 exones + region Poly A

```
FGENESH 2.6 Prediction of potential genes in Homo_sapiens genomic DNA
 Time     :   Thu Dec 12 06:14:21 2019
 Seq name: human
 Length of sequence: 37571
 Number of predicted genes 1: in +chain 1, in -chain 0.
 Number of predicted exons 16: in +chain 16, in -chain 0.
 Positions of predicted genes and exons: Variant   1 from   1, Score:115.993872
   G Str   Feature   Start        End    Score           ORF           Len

   1 +    1 CDSf       157 -       286   28.30       157 -       285    129
```

1	+	2	CDSi	10376	-	10458	7.43	10378 -	10458	81
1	+	3	CDSi	12800	-	12857	6.33	12800 -	12856	57
1	+	4	CDSi	14362	-	14447	3.34	14364 -	14447	84
1	+	5	CDSi	15128	-	15189	2.40	15128 -	15187	60
1	+	6	CDSi	15526	-	15655	6.39	15527 -	15655	129
1	+	7	CDSi	16764	-	16828	6.62	16764 -	16826	63
1	+	8	CDSi	17225	-	17406	12.24	17226 -	17405	180
1	+	9	CDSi	23771	-	23865	2.10	23773 -	23865	93
1	+	10	CDSi	25045	-	25142	0.60	25045 -	25140	96
1	+	11	CDSi	26262	-	26281	-1.21	26263 -	26280	18
1	+	12	CDSi	27296	-	27427	8.29	27298 -	27426	129
1	+	13	CDSi	28008	-	28732	33.29	28010 -	28732	723
1	+	14	CDSi	30780	-	30932	9.89	30780 -	30932	153
1	+	15	CDSi	31931	-	31994	13.04	31931 -	31993	63
1	+	16	CDSl	33682	-	33875	1.90	33684 -	33875	192
1	+		PolA	33923			-4.47			

4. Para evaluar la coherencia de las predicciones obtenidas por cada programa, emplead CLUSTAL para comparar las proteínas reportadas por GENEID, GENSCAN y FGENESH. Realizad una primera interpretación de estos resultados en el contexto de este alineamiento global.

```
CLUSTAL O(1.2.4) multiple sequence alignment


GENEID          MAPAMQPAEIQFAQRLASSEKGIRDRAVKKLRQYISVKTQRETGGFSQEELLKIWKGLFY  60
GENESCAN        MAPAMQPAEIQFAQRLASSEKGIRDRAVKKLRQYISVKTQRETGGFSQEELLKIWKGLFY  60
FGENESH         MAPAMQPAEIQFAQRLASSEKGIRDRAVKKLRQYISVKTQRETGGFSQEELLKIWKGLFY  60
                ************************************************************

GENEID          CMWVQDEPLLQEELANTIAQLVHAVNNSAAQAC----------------------------  93
GENESCAN        CMWVQDEPLLQEELANTIAQLVHAVNNSAAQHLFIQTFWQTMNREWKGIDRLRLDKYYML  120
FGENESH         CMWVQDEPLLQEELANTIAQLVHAVNNSAAQHLFIQTFWQTMNREWKGIDRLRLDKYYML  120
                ******************************

GENEID          ---------------VWFFSRIKVFLDVLMKEVLCPESQSPNGVRFHFIDIYLDELSKVG  138
GENESCAN        IRLVLRQSFEVLKRNGWEESRIKVFLDVLMKEVLCPESQSPNGVRFHFIDIYLDELSKVG  180
FGENESH         IRLVLRQSFEVLKRNGWEESRIKVFLDVLMKEVLCPESQSPNGVRFHFIDIYLDELSKVG  180
                              *  ****************************************

GENEID          GKELLADQNLKFIDPFCKIAAKTKDHTLVQTIARGVFEAIVDQSPFVPEETMEEQKTKVG  198
GENESCAN        GKELLADQNLKFIDPFCKIAAKTKDHTLVQTIARGVFEAIVDQSPFVPEETMEEQKTKVG  240
FGENESH         GKELLADQNLKFIDPFCKIAAKTKDHTLVQTIARGVFEAIVDQSPFVPEETMEEQKTKVG  240
                ************************************************************

GENEID          DGDLSAEEIPENEVSLRRAVSKKKTALGKNHSRKDGLSDERGRDDCGTFEDTGPLLQFDY  258
GENESCAN        DGDLSAEEIPENEVSLRRAVSKKKTALGKNHSRKDGLSDERGRDDCGTFEDTGPLLQFDY  300
FGENESH         DGDLSAEEIPENEVSLRRAVSKKKTALGKNHSRKDGLSDERGRDDCGTFEDTGPLLQFDY  300
                ************************************************************

GENEID          KAVADRLLEMTSRKNTPHFNRKRLSKLIKKFQDLSEGSSISQLSFAEDISADEDDQILSQ  318
GENESCAN        KAVADRLLEMTSRKNTPHFNRKRLSKLIKKFQDLSEGSSISQLSFAEDISADEDDQILSQ  360
FGENESH         KAVADRLLEMTSRKNTPHFNRKRLSKLIKKFQDLSEGSSISQLSFAEDISADEDDQILSQ  360
                ************************************************************
```

```
GENEID       GKHKKKGNKLLEKTNLEKE----------------------------------------  337
GENESCAN     GKHKKKGNKLLEKTNLEKEKGKQELQGALGGGCLMTTRDLWFLPLSPKISGNGTISVPYV  420
FGENESH      GKHKKKGNKLLEKTNLEKE----------------------------------------  379
             ******************

GENEID       ----------------------KGSRVFCVEEEDSESSLQKRRRKKKKKHHLQPENPGPG  375
GENESCAN     FINGQKEGFQSQLGMEEVGPDDKGSRVFCVEEEDSESSLQKRRRKKKKKHHLQPENPGPG  480
FGENESH      ----------------------KGSRVFCVEEEDSESSLQKRRRKKKKKHHLQPENPGPG  417
                                    ************************************

GENEID       GAAPSLEQNRGREPEASGLKALKARVAEPGAEATSSTGEESGSEHPPAVPMHNKRKRPRK  435
GENESCAN     GAAPSLEQNRGREPEASGLKALKARVAEPGAEATSSTGEESGSEHPPAVPMHNKRKRPRK  540
FGENESH      GAAPSLEQNRGREPEASGLKALKARVAEPGAEATSSTGEESGSEHPPAVPMHNKRKRPRK  477
             ************************************************************

GENEID       KSPRAHREMLESAVLPPEDMSQSGPSGSHPQGPRGSPTGGAQLLKRKRKLGVVPVNGSGL  495
GENESCAN     KSPRAHREMLESAVLPPEDMSQSGPSGSHPQGPRGSPTGGAQLLKRKRKLGVVPVNGSGL  600
FGENESH      KSPRAHREMLESAVLPPEDMSQSGPSGSHPQGPRGSPTGGAQLLKRKRKLGVVPVNGSGL  537
             ************************************************************

GENEID       STPAWPPLQQEGPPTGPAEGANSHTTLPQRRRLQKKKAGPGSLELCGLPSQKTASLKKRK  555
GENESCAN     STPAWPPLQQEGPPTGPAEGANSHTTLPQRRRLQKKKAGPGSLELCGLPSQKTASLKKRK  660
FGENESH      STPAWPPLQQEGPPTGPAEGANSHTTLPQRRRLQKKKAGPGSLELCGLPSQKTASLKKRK  597
             ************************************************************

GENEID       KMRVMSNLVEHNGVLESEAGQPQALVRWEHP--------------QASSPQRHSL-ASMG  600
GENESCAN     KMRVMSNLVEHNGVLESEAGQPQALAAHLNLPEPPVCRQRHWAAHTSESQVRDPVSLWVA  720
FGENESH      KMRVMSNLVEHNGVLESEAGQPQAL-----------------------------------  622
             *************************

GENEID       LHCLLRGR---------------VGAGGQASGLSSS*MKIKGSSGTCSSLKKQKLRAESD  644
GENESCAN     VSCCTRNECPGPASVVLCVKPELCRMEGLSASAVRKTAGRRGSSGTCSSLKKQKLRAESD  780
FGENESH      ----------------------------------------GSSGTCSSLKKQKLRAESD  641
                                                    ******************

GENEID       FVKFDTPFLPKPLFFRRAKSSTATHPPGPAVQLNKTPSSSKKVTFGLNRNMTAEFKKTDK  704
GENESCAN     FVKFDTPFLPKPLFFRRAKSSTATHPPGPAVQLNKTPSSSKKVTFGLNRNMTAEFKKTDK  840
FGENESH      FVKFDTPFLPKPLFFRRAKSSTATHPPGPAVQLNKTPSSSKKVTFGLNRNMTAEFKKTDK  701
             ************************************************************

GENEID       SILVSPTGPSRVAFDPEQKPLHGVLKTPTSSPASSPLVAKKPLTTTPRRRPRAMDFF*    761
GENESCAN     SILVSPTGPSRVAFDPEQKPLHGVLKTPTSSPASSPLVAKKPLTTTPRRRPRAMDFF-    897
FGENESH      SILVSPTGPSRVAFDPEQKPLHGVLKTPTSSPASSPLVAKKPLTTTPRRRPRAMDFF-    758
             ********************************************************
```

En este primer resultado se observa que el alineamiento global de las tres versiones es bueno. Al analizar con mas detalle destacan que GENEID tiene mas *gaps* al inicio y FGNESH mas *gaps* al final. Otro factor importante es GENEID identifica **dos** genes diferentes, y GENESCAN y FGNESH sólo 1. En este caso he decidido concatenar lod dos genes de GENEID. Aun así la alineación de GENEID es la que mas difiere de las otras dos.

5. Finalmente, para comparar cuantitativamente los tres sistemas de predicción, rellenad la siguiente tabla con las coordenadas de todos los exones identificados dentro del mejor gen

presentado por cada programa. Seleccionad dos de estos exones para realizar una búsqueda con BLASTP contra la base de datos completa de proteínas. Interpretad estos resultados para elaborar una primera anotación factible de este gen en función de estas predicciones:

coordenadas	GENEID	GENSCAN	FGENSH
157 - 286	X	X	X
10376 - 10458	X	X	X
12800 - 12857	X	X	X
14362 - 14447		X	X
15128 - 15189		X	X
15526 - 15655	X[1]	X	X
16764 - 16828	X	X	X
17225 - 17406	X	X	X
23771 - 23865	X	X	X
25045 - 25142	X	X	X
26262 - 26281	X	X	X
27296 - 27427	X	X	X
27663 - 27851		X	
28008 - 28732	X[2]	X	X
30236 - 30380		X	
30518 - 30529	X[3]		
30780 - 30932	X[3]		X
31931 - 31994	X[3]		X
33682 - 33875	X[3]	X	X

[1]: GENEID identifica que el exón comienza en 15504
[2]: GENEID identifica que el exón termina en 28858
[3]: Estos exones corresponden a un **segundo** gen segun GENEID

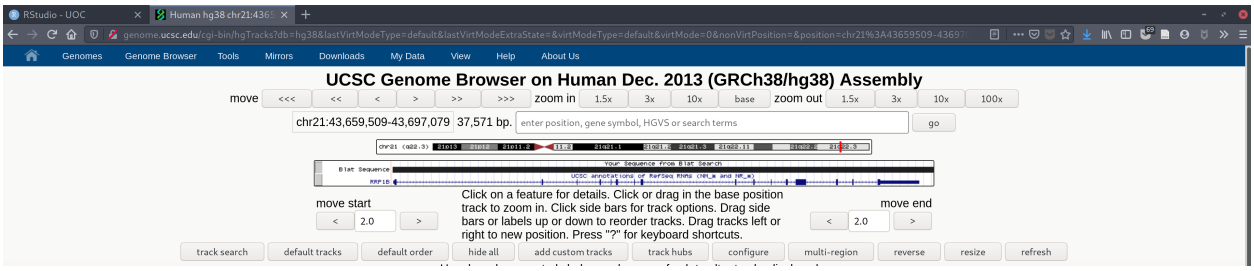
Busqueda con BLASTp

```
Query: 1 Query ID: lcl|Query_86461 Length: 44

>RRP1B protein, partial [Homo sapiens]
Sequence ID: AAH14005.1 Length: 408
Range 1: 1 to 44

Score:91.3 bits(225), Expect:4e-23,
Method:Compositional matrix adjust.,
Identities:44/44(100%), Positives:44/44(100%), Gaps:0/44(0%)

Query  1   MAPAMQPAEIQFAQRLASSEKGIRDRAVKKLRQYISVKTQRETG  44
           MAPAMQPAEIQFAQRLASSEKGIRDRAVKKLRQYISVKTQRETG
Sbjct  1   MAPAMQPAEIQFAQRLASSEKGIRDRAVKKLRQYISVKTQRETG  44

Query: 2 Query ID: lcl|Query_86462 Length: 62

>RRP1B protein, partial [Homo sapiens]
Sequence ID: AAH14005.1 Length: 408
Range 1: 205 to 266

Score:127 bits(318), Expect:5e-36,
Method:Compositional matrix adjust.,
Identities:62/62(100%), Positives:62/62(100%), Gaps:0/62(0%)
```

```
Query  1    DHTLVQTIARGVFEAIVDQSPFVPEETMEEQKTKVGDGDLSAEEIPENEVSLRRAVSKKK  60
            DHTLVQTIARGVFEAIVDQSPFVPEETMEEQKTKVGDGDLSAEEIPENEVSLRRAVSKKK
Sbjct  205  DHTLVQTIARGVFEAIVDQSPFVPEETMEEQKTKVGDGDLSAEEIPENEVSLRRAVSKKK  264

Query  61   TA  62
            TA
Sbjct  265  TA  266
```

En ambos casos la consulta de los exones identifica (parte de) la proteína `RRP1B` localizada en el cromosoma 21, ubicado en 43,659,560-43,696,079 en la hebra positiva.

6. Aprovechad BLAT para identificar en qué parte del genoma humano se encuentra anonima.fa (cromosoma, inicio, final, hebra). Verificad visualmente que el inicio y el final de nuestra secuencia encajan con la región correcta.

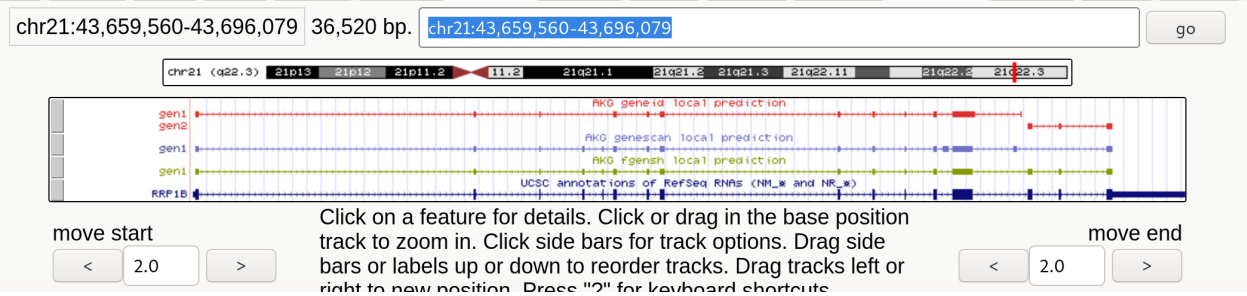


7. Convertid manualmente nuestras predicciones de GENEID, GENSCAN y FGENESH en formato GFF para visualizarlas como Custom tracks en UCSC (será necesario adaptar las coordenadas de los exones para trasladarlos sobre el cromosoma 21):

REalizamos la conversión y creamos el archivo GFF

```
browser position chr21:43657160-43699428
track name=GENEID   description="AKG geneid local prediction" visibility=2 color=220,50,47
chr21   Man exon    43659664    43659793    1000    +   .   gen1
chr21   Man exon    43669883    43669965    1000    +   .   gen1
chr21   Man exon    43672307    43672364    1000    +   .   gen1
chr21   Man exon    43675011    43675162    1000    +   .   gen1
chr21   Man exon    43676271    43676335    1000    +   .   gen1
chr21   Man exon    43676732    43676913    1000    +   .   gen1
chr21   Man exon    43683278    43683372    1000    +   .   gen1
chr21   Man exon    43684552    43684649    1000    +   .   gen1
chr21   Man exon    43685769    43685788    1000    +   .   gen1
chr21   Man exon    43686803    43686934    1000    +   .   gen1
chr21   Man exon    43687515    43688365    1000    +   .   gen1
chr21   Man exon    43690025    43690036    1000    +   .   gen1
chr21   Man exon    43690287    43690439    1000    +   .   gen2
chr21   Man exon    43691438    43691501    1000    +   .   gen2
chr21   Man exon    43693189    43693382    1000    +   .   gen2
track name=GENESCAN description="AKG genescan local prediction" visibility=2 color=108,113,196
chr21   Man exon    43659664    43659793    1000    +   .   gen1
chr21   Man exon    43669883    43669965    1000    +   .   gen1
chr21   Man exon    43672307    43672364    1000    +   .   gen1
chr21   Man exon    43673869    43673954    1000    +   .   gen1
chr21   Man exon    43674635    43674696    1000    +   .   gen1
chr21   Man exon    43675033    43675162    1000    +   .   gen1
```

```
chr21   Man exon    43676271    43676335    1000    +   .   gen1
chr21   Man exon    43676732    43676913    1000    +   .   gen1
chr21   Man exon    43683278    43683372    1000    +   .   gen1
chr21   Man exon    43684552    43684649    1000    +   .   gen1
chr21   Man exon    43685769    43685788    1000    +   .   gen1
chr21   Man exon    43686803    43686934    1000    +   .   gen1
chr21   Man exon    43687170    43687358    1000    +   .   gen1
chr21   Man exon    43687515    43688239    1000    +   .   gen1
chr21   Man exon    43689743    43689887    1000    +   .   gen1
chr21   Man exon    43693189    43693382    1000    +   .   gen1
track name=FGENSH   description="AKG fgensh local prediction" visibility=2 color=133,153,0
chr21   Man exon    43659664    43659793    1000    +   .   gen1
chr21   Man exon    43669883    43669965    1000    +   .   gen1
chr21   Man exon    43672307    43672364    1000    +   .   gen1
chr21   Man exon    43673869    43673954    1000    +   .   gen1
chr21   Man exon    43674635    43674696    1000    +   .   gen1
chr21   Man exon    43675033    43675162    1000    +   .   gen1
chr21   Man exon    43676271    43676335    1000    +   .   gen1
chr21   Man exon    43676732    43676913    1000    +   .   gen1
chr21   Man exon    43683278    43683372    1000    +   .   gen1
chr21   Man exon    43684552    43684649    1000    +   .   gen1
chr21   Man exon    43685769    43685788    1000    +   .   gen1
chr21   Man exon    43686803    43686934    1000    +   .   gen1
chr21   Man exon    43687515    43688239    1000    +   .   gen1
chr21   Man exon    43690287    43690439    1000    +   .   gen1
chr21   Man exon    43691438    43691501    1000    +   .   gen1
chr21   Man exon    43693189    43693382    1000    +   .   gen1
```



8. Emplead el Table Browser de UCSC para calcular la correlación, dentro de la región genómica delimitada por la secuencia anonima.fa, entre las predicciones de (a) GENEID y GENSCAN, (b) GENEID y FGENESH, (c) GENSCAN y FGENESH. A continuación, repetid el mismo procedimiento para calcular la correlación entre cada predicción individual y el gen anotado por el consorcio RefSeq.**

1. Correlaciones entre las predicciones

- chr21:43,657,160-43,699,428
- 42,269 data points

(a) Correlacion entre GENEID y GENSCAN

r	r^2	Track	Min	Max	Mean	Var	SD	Reg line (m - b)
0.806	0.65	GENEID	0	1	0.054	0.051	0.226	0.789 - 0.009
		GENESCAN	0	1	0.057	0.053	0.231	

(b) Correlacion entre GENEID y FGNESH

r	r^2	Track	Min	Max	Mean	Var	SD	Reg line (m - b)
0.929	0.863	GENEID	0	1	0.054	0.051	0.226	0.931 - 0.004
		FGENSH	0	1	0.054	0.051	0.226	

(c) Correlación entre GENSCAN y FGNESH

r	r^2	Track	Min	Max	Mean	Var	SD	Reg line (m - b)
0.876	0.766	GENESCAN	0	1	0.056	0.053	0.231	0.896 - 0.008
		FGENSH	0	1	0.054	0.051	0.226	

En este caso se puede observar que GENID correlaciona mejor con FGNESH

---

2. Correlaciones con RefSeq

- chr21:43,659,560-43,696,079
- 36,520 data points

(a) Correlacion entre RefSeq y GENEID

r	r^2	Track	Min	Max	Mean	Var	SD	Reg line (m - b)
0.587	0.345	UCSC RefSeq	0	1	0.139	0.12	0.346	0.838 - 0.087
		GENEID	0	1	0.063	0.059	0.242	

(b) Correlacion entre RefSeq y GENSCAN

r	r^2	Track	Min	Max	Mean	Var	SD	Reg line (m - b)
0.548	0.301	UCSC RefSeq	0	1	0.139	0.12	0.346	0.766 - 0.088
		GENESCAN	0	1	0.065	0.061	0.247	

(c) Correlacion entre RefSeq y FGNESH

r	r^2	Track	Min	Max	Mean	Var	SD	Reg line (m - b)
0.637	0.405	UCSC RefSeq	0	1	0.139	0.12	0.346	0.911 - 0.082
		FGNESH	0	1	0.062	0.062	0.242	

Aquí se puede observar que la predicción que mejor correlaciona con el gen `RRP1B` es FGNESH, con una correlación de Pearson de 0.4, y una linea de regresión bastante cercana a una recta con pendiente cercana a 1.

9. Para acabar, efectuad con CLUSTAL el alineamiento múltiple global de las tres proteínas predichas por cada programa junto con la proteína real RRP1B. Analizad cuidadosamente cada sección de la proteína en busca de las mejores predicciones en ese fragmento. Con todas estas informaciones, decidid qué programa ha efectuado la mejor predicción.

```
CLUSTAL O(1.2.4) multiple sequence alignment
```

```
GENEID      MAPAMQPAEIQFAQRLASSEKGIRDRAVKKLRQYISVKTQRETGGFSQEELLKIWKGLFY   60
GENSCAN     MAPAMQPAEIQFAQRLASSEKGIRDRAVKKLRQYISVKTQRETGGFSQEELLKIWKGLFY   60
FGENESH     MAPAMQPAEIQFAQRLASSEKGIRDRAVKKLRQYISVKTQRETGGFSQEELLKIWKGLFY   60
RRP1B       MAPAMQPAEIQFAQRLASSEKGIRDRAVKKLRQYISVKTQRETGGFSQEELLKIWKGLFY   60
            ************************************************************

GENEID      CMWVQDEPLLQEELANTIAQLVHAVNNSAAQAC---------------------------   93
GENSCAN     CMWVQDEPLLQEELANTIAQLVHAVNNSAAQHLFIQTFWQTMNREWKGIDRLRLDKYYML  120
FGENESH     CMWVQDEPLLQEELANTIAQLVHAVNNSAAQHLFIQTFWQTMNREWKGIDRLRLDKYYML  120
RRP1B       CMWVQDEPLLQEELANTIAQLVHAVNNSAAQHLFIQTFWQTMNREWKGIDRLRLDKYYML  120
            ******************************

GENEID      ---------------VWFFSRIKVFLDVLMKEVLCPESQSPNGVRFHFIDIYLDELSKVG  138
GENSCAN     IRLVLRQSFEVLKRNGWEESRIKVFLDVLMKEVLCPESQSPNGVRFHFIDIYLDELSKVG  180
FGENESH     IRLVLRQSFEVLKRNGWEESRIKVFLDVLMKEVLCPESQSPNGVRFHFIDIYLDELSKVG  180
RRP1B       IRLVLRQSFEVLKRNGWEESRIKVFLDVLMKEVLCPESQSPNGVRFHFIDIYLDELSKVG  180
                       *  ****************************************

GENEID      GKELLADQNLKFIDPFCKIAAKTKDHTLVQTIARGVFEAIVDQSPFVPEETMEEQKTKVG  198
GENSCAN     GKELLADQNLKFIDPFCKIAAKTKDHTLVQTIARGVFEAIVDQSPFVPEETMEEQKTKVG  240
FGENESH     GKELLADQNLKFIDPFCKIAAKTKDHTLVQTIARGVFEAIVDQSPFVPEETMEEQKTKVG  240
RRP1B       GKELLADQNLKFIDPFCKIAAKTKDHTLVQTIARGVFEAIVDQSPFVPEETMEEQKTKVG  240
            ************************************************************

GENEID      DGDLSAEEIPENEVSLRRAVSKKKTALGKNHSRKDGLSDERGRDDCGTFEDTGPLLQFDY  258
GENSCAN     DGDLSAEEIPENEVSLRRAVSKKKTALGKNHSRKDGLSDERGRDDCGTFEDTGPLLQFDY  300
FGENESH     DGDLSAEEIPENEVSLRRAVSKKKTALGKNHSRKDGLSDERGRDDCGTFEDTGPLLQFDY  300
RRP1B       DGDLSAEEIPENEVSLRRAVSKKKTALGKNHSRKDGLSDERGRDDCGTFEDTGPLLQFDY  300
            ************************************************************

GENEID      KAVADRLLEMTSRKNTPHFNRKRLSKLIKKFQDLSEGSSISQLSFAEDISADEDDQILSQ  318
GENSCAN     KAVADRLLEMTSRKNTPHFNRKRLSKLIKKFQDLSEGSSISQLSFAEDISADEDDQILSQ  360
FGENESH     KAVADRLLEMTSRKNTPHFNRKRLSKLIKKFQDLSEGSSISQLSFAEDISADEDDQILSQ  360
RRP1B       KAVADRLLEMTSRKNTPHFNRKRLSKLIKKFQDLSEGSSISQLSFAEDISADEDDQILSQ  360
            ************************************************************

GENEID      GKHKKKGNKLLEKTNLEKE-------------------------------------------  337
GENSCAN     GKHKKKGNKLLEKTNLEKEKGKQELQGALGGGCLMTTRDLWFLPLSPKISGNGTISVPYV  420
FGENESH     GKHKKKGNKLLEKTNLEKE-------------------------------------------  379
RRP1B       GKHKKKGNKLLEKTNLEKE-------------------------------------------  379
            ******************

GENEID      ----------------------KGSRVFCVEEEDSESSLQKRRRKKKKKHHLQPENPGPG  375
GENSCAN     FINGQKEGFQSQLGMEEVGPDDKGSRVFCVEEEDSESSLQKRRRKKKKKHHLQPENPGPG  480
FGENESH     ----------------------KGSRVFCVEEEDSESSLQKRRRKKKKKHHLQPENPGPG  417
RRP1B       ----------------------KGSRVFCVEEEDSESSLQKRRRKKKKKHHLQPENPGPG  417
                                  ************************************

GENEID      GAAPSLEQNRGREPEASGLKALKARVAEPGAEATSSTGEESGSEHPPAVPMHNKRKRPRK  435
GENSCAN     GAAPSLEQNRGREPEASGLKALKARVAEPGAEATSSTGEESGSEHPPAVPMHNKRKRPRK  540
FGENESH     GAAPSLEQNRGREPEASGLKALKARVAEPGAEATSSTGEESGSEHPPAVPMHNKRKRPRK  477
RRP1B       GAAPSLEQNRGREPEASGLKALKARVAEPGAEATSSTGEESGSEHPPAVPMHNKRKRPRK  477
```

```
            ************************************************************

GENEID      KSPRAHREMLESAVLPPEDMSQSGPSGSHPQGPRGSPTGGAQLLKRKRKLGVVPVNGSGL   495
GENSCAN     KSPRAHREMLESAVLPPEDMSQSGPSGSHPQGPRGSPTGGAQLLKRKRKLGVVPVNGSGL   600
FGENESH     KSPRAHREMLESAVLPPEDMSQSGPSGSHPQGPRGSPTGGAQLLKRKRKLGVVPVNGSGL   537
RRP1B       KSPRAHREMLESAVLPPEDMSQSGPSGSHPQGPRGSPTGGAQLLKRKRKLGVVPVNGSGL   537
            ************************************************************

GENEID      STPAWPPLQQEGPPTGPAEGANSHTTLPQRRRLQKKKAGPGSLELCGLPSQKTASLKKRK   555
GENSCAN     STPAWPPLQQEGPPTGPAEGANSHTTLPQRRRLQKKKAGPGSLELCGLPSQKTASLKKRK   660
FGENESH     STPAWPPLQQEGPPTGPAEGANSHTTLPQRRRLQKKKAGPGSLELCGLPSQKTASLKKRK   597
RRP1B       STPAWPPLQQEGPPTGPAEGANSHTTLPQRRRLQKKKAGPGSLELCGLPSQKTASLKKRK   597
            ************************************************************

GENEID      KMRVMSNLVEHNGVLESEAGQPQALVRWEHP--------------QASSPQRHSL-ASMG   600
GENSCAN     KMRVMSNLVEHNGVLESEAGQPQALAAHLNLPEPPVCRQRHWAAHTSESQVRDPVSLWVA   720
FGENESH     KMRVMSNLVEHNGVLESEAGQPQAL-----------------------------------   622
RRP1B       KMRVMSNLVEHNGVLESEAGQPQAL-----------------------------------   622
            *************************

GENEID      LHCLLRGR---------------VGAGGQASGLSSS*MKIKGSSGTCSSLKKQKLRAESD   644
GENSCAN     VSCCTRNECPGPASVVLCVKPELCRMEGLSASAVRKTAGRRGSSGTCSSLKKQKLRAESD   780
FGENESH     ----------------------------------------GSSGTCSSLKKQKLRAESD   641
RRP1B       ----------------------------------------GSSGTCSSLKKQKLRAESD   641
                                                     ******************

GENEID      FVKFDTPFLPKPLFFRRAKSSTATHPPGPAVQLNKTPSSSKKVTFGLNRNMTAEFKKTDK   704
GENSCAN     FVKFDTPFLPKPLFFRRAKSSTATHPPGPAVQLNKTPSSSKKVTFGLNRNMTAEFKKTDK   840
FGENESH     FVKFDTPFLPKPLFFRRAKSSTATHPPGPAVQLNKTPSSSKKVTFGLNRNMTAEFKKTDK   701
RRP1B       FVKFDTPFLPKPLFFRRAKSSTATHPPGPAVQLNKTPSSSKKVTFGLNRNMTAEFKKTDK   701
            ************************************************************

GENEID      SILVSPTGPSRVAFDPEQKPLHGVLKTPTSSPASSPLVAKKPLTTTPRRRPRAMDFF  761
GENSCAN     SILVSPTGPSRVAFDPEQKPLHGVLKTPTSSPASSPLVAKKPLTTTPRRRPRAMDFF  897
FGENESH     SILVSPTGPSRVAFDPEQKPLHGVLKTPTSSPASSPLVAKKPLTTTPRRRPRAMDFF  758
RRP1B       SILVSPTGPSRVAFDPEQKPLHGVLKTPTSSPASSPLVAKKPLTTTPRRRPRAMDFF  758
            ***********************************************************
```

Se aprecia que al inicio de la proteína (60-180) hay un gran *gap* de la predicción realizada por GENEID. Luego en +-380 hay una región identificada por GENESCAN como codificante, que no es un exon del gen. El final de la proteína vuelven a haber *gaps* de GENEID y regiones codificantes que no están presentes en el gen tanto por GENEID como por GENESCAN.

En este caso la mejor predicción es la realizada por FGNESH

10. El navegador genómico VISTA permite observar la conservación entre diversos genomas. Analizad la documentación existente sobre esta aplicación y averiguad el significado que tienen las gráficas y los colores empleados sobre cada alineamiento entre dos genomas. Posteriormente, seleccionad nuestro gen de estudio para analizar el grado de conservación que poseen los exones de éste. Razonad brevemente sobre cómo podríamos mejorar las predicciones iniciales servidas por GENEID, GENSCAN y FGENESH utilizando esta información sobre la conservación de secuencia en regiones funcionales.

Los picos y valles de las curvas que entrega el programa, tienen relación con el porcentaje de conservación en las diferentes posiciones, entre las diferentes secuencias y la secuencia base. El color azul es para los exones.

En este caso podemos observar que efectivamente las regiones que no se conservan tan bien, como podrían ser los exones 3, 9, 10, 11, 12 y 13 coinciden con las regiones que daban mas errores en la predicciones por las diferentes herramientas.

En este sentido entiendo entonces que la las regiones con mejor conservación en las especies debieran ser mejor detectadas por las herramientas preditoras de genes, pudiendo utilizar esta información para mejorar la predicción utilizando bases de datos externas y genómica comparativa.