

Przewidywanie struktury drugorzędowej z uwzględnieniem więzów oraz wizualizacja struktur RNA

I. Przewidywanie struktury drugorzędowej tRNA za pomocą RNAfold z zastosowaniem „twardych” więzów (ang. *hard constrains*)

1. Przeprowadź przewidywanie struktury tRNA-Ala(AGC) *Saccharomyces cerevisiae* za pomocą programu RNAfold.

```
> tRNA | Ala | AGC | Saccharomyces cerevisiae | cytosolic  
GGGCGUGUGGCGUAGUCGGUAGCGCGCUCCCUUAGCAUGGGAGAGGUCUCCGGUUCGAUUCCGGAC  
UCGUCCACCA
```

2. Skorzystaj z bazy danych MODOMICS [<http://modomics.genesilico.pl>]. Znajdź informacje o modyfikacjach w badanej cząsteczce tRNA.
3. W tabeli znajdują się modyfikacje, które destabilizują kanoniczne parowanie w strukturze drugorzędowej RNA. Skorzystaj z poniższej tabeli w celu zdefiniowania pozycji jednoniciowych w sekwencji.

MODOMICS abbreviation	Short name	Full name
”	m1A	1-Methyladenosine
‘	m3C	3-Methylcytidine
+	i6A	N6-isopentyladenosine
6	t6A	N6-threonylcarbamoyladenosine
D	D	Dihydrouridine
I	I	Inosine
K	m1G	1-Methylguanosine
R	m2,2G	N2,N2-dimethylguanosine
Y	yW	Wybutosine

4. Uwzględnij informacje o modyfikacjach tRNA w przewidywaniu struktury drugorzędowej tRNA. Przeprowadź przewidywanie struktury za pomocą programu RNAfold.

Wizualizacja wyników

1. Zwizualizuj otrzymane struktury za pomocą programu forna [<http://rna.tbi.univie.ac.at/forna/>]
2. Porównaj struktury. Czy zastosowanie więzów poprawiło przewidywaną strukturę? Która struktura przypomina kanoniczną strukturę tRNA? Czy modyfikacje wpływają na strukturę drugorzędową RNA?

II. Przewidywanie struktury drugorzędowej ryboprzełącznika TPP za pomocą RNAfold z zastosowaniem „miękkich” więzów (ang. *soft constraints*) uzyskanych w wyniku eksperymentu SHAPE-MaP.

1. Użyj programu shapemapper w celu obliczenia reaktywności dla poszczególnych pozycji w cząsteczce. Dane znajdują się w folderze cw3_dane. Ustaw parametr min_depth na 1000.

Dane potrzebne do przeprowadzenia analizy:

- 16S.fa - sekwencja cząsteczki (—target)
- Wyniki eksperymentu SHAPE-MaP (w formacie fastq):
 - Próba modyfikowana - folder TPPplus
 - Próba kontrolna- folder TPPminus

2. Przeanalizuj otrzymane wyniki. Umieść w protokole wykresy i statystyki informujące o jakości uzyskanych danych (pokrycie odczytami, informacja o liczbie mutacji).
3. Zastosuj reaktywności znajdujące się w pliku .shape jako więzy do przewidywania struktury w programie RNAfold.
4. Zwizualizuj uzyskane struktury za pomocą programu VARNA. Spróbuj przedstawić strukturę w jak najbardziej czytelny sposób.