第 4 次作业

崔晏菲 自硕 21 2021210976

1. **使用动态规划对 AGWGHEE 和 AWHEA 进行匹配**

使用 BLOSUM 矩阵作为打分矩阵。Gap Score 得分为−8。

a) Globule Alignment:

	-	A	W	H	E	A
-	0	-8	-16	-24	-32	-40
A	-8	4	-4	-12	-20	-28
G	-16	-4	2	-6	-14	-20
W	-24	-12	7	0	-8	-16
G	-32	-20	-1	5	-2	-8
H	-40	-28	-9	7	5	-3
E	-48	-36	-17	-1	12	4
E	-56	-44	-25	-9	4	11

匹配结果为 AGWGHEE 和 A-W-HEA，得分为 11。

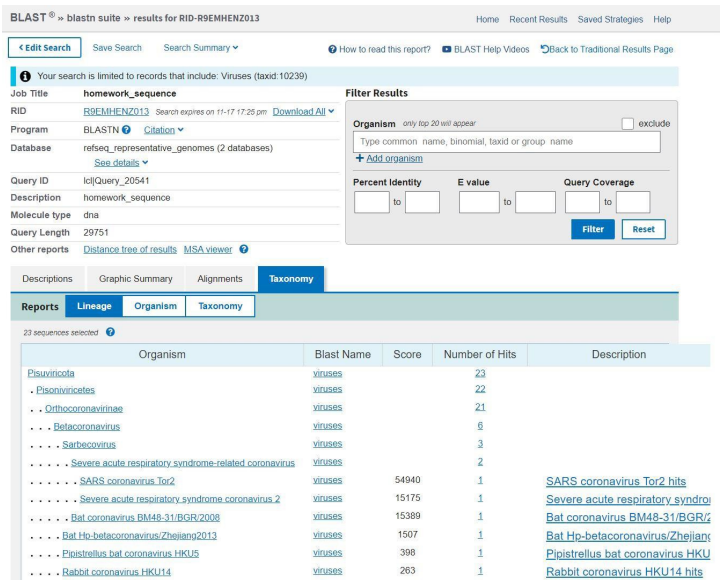
b) Local Alignment:

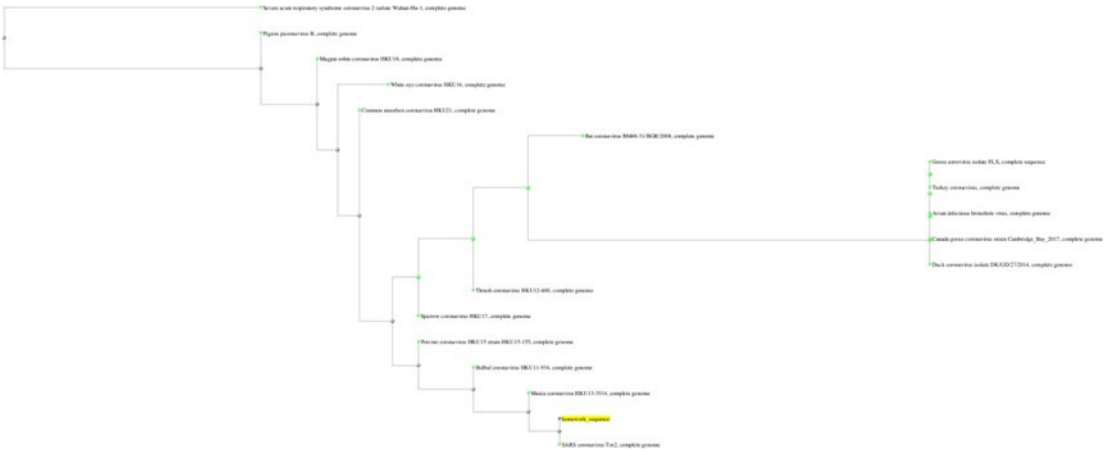
	-	A	W	H	E	A
-	0	0	0	0	0	0
A	0	4	0	0	0	4
G	0	0	2	0	0	0
W	0	0	11	3	0	0
G	0	0	3	9	1	0
H	0	0	0	11	9	1
E	0	0	0	3	16	8
E	0	0	0	0	8	15

匹配结果为 WGHE 和 W-HE，得分为 15。

2. **使用 NCBI BLAST WEB 进行序列匹配**

在 NCBI BLAST 网站上传 sequence1.fa 并选择相关参数进行比对，比对结果如下：





a) Which species does the sequence belong to?

根据比对结果，比对分数最高的是 SARS coronavirus Tor2，因此该序列属于 SARS coronavirus Tor2。

b) List at least 3 kinds of species whose genome is similar with this sequence.

比对结果的距离树如上图所示，根据距离树，和该物种序列最接近的三个物种为：Munia coronavirus HKU13-3514，Bulbul coronavirus HKU11-934 和 Porcine coronavirus HKU15 strain HKU15-155。

c) How many protein-coding genes are there in this genome?

SARS coronavirus Tor2 的 Sequence ID 为 NC_004718.3，对应的网址为：https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NC_004718.3/。

根据网页上的信息可知该序列共有 12 个蛋白编码基因，分别为：ORFlab(265..21485), S(21492..25259), ORF3a (25268..26092), ORF3b (25689..26153), E(26117..26347), M(26398..27063), ORF6 (27074..27265), ORF7a (27273..27641), ORF7b (27638..27772), ORF8a (27779..27898), ORF8b (27864..28118), N(28120..29388)。

d) What is the percentage of the non-coding sequence in this genome?

根据上一小问的基因进行计算编码区域的长度：

$$\begin{aligned}(21485 - 265 + 1) + (25259 - 21492 + 1) + (26092 - 25268 + 1) \\ + (26347 - 25689 + 1) + (27063 - 26398 + 1) \\ + (27265 - 27074 + 1) + (27772 - 27273 + 1) \\ + (28118 - 27779 + 1) + (29388 - 28120 + 1) \\ = 29440bp\end{aligned}$$

非编码序列的比例为

$$\frac{29751 - 29440}{29751} = 1.045\%$$

3. 使用 blast 和 bowtie 进行序列匹配

a) 使用 Blast 进行序列匹配

命令行如下：

```
D:\硕士课程\计算分子生物学引论\作业\第4次作业_崔晏菲_2021210976\ncbi-blast-2.13.0+-x64-win64\ncbi-blast-2.13.0+\bin>blas
tn -query ../../../sequence2.fa -db ../../../ref/blast/hg19 -out ../../../seq2fa_blast.txt

D:\硕士课程\计算分子生物学引论\作业\第4次作业_崔晏菲_2021210976\ncbi-blast-2.13.0+-x64-win64\ncbi-blast-2.13.0+\bin>blas
tn -query ../../../seq2fastq.fa -db ../../../ref/blast/hg19 -out ../../../seq2fastq_blast.txt
```

其中 sequence2.fastq 在比对之前，先使用了 fastq2fa.py 脚本进行转换，转换为了.fa 类型的文件。

在命令行参数中，-query 后是待比对序列的文件位置，-db 后是 genome reference 的文件位置，-out 后是输出文件的位置。

匹配结果分别见 seq2fa_blast.txt 和 seq2fastq_blast.txt 文件。

Blast 对比结果如下图所示，该序列和 chrM 以及 chr5 最相似。

BLASTN 2.13.0+

Reference: Zheng Zhang, Scott Schwartz, Lukas Wagner, and Webb Miller (2000), "A greedy algorithm for aligning DNA sequences", J Comput Biol 2000; 7(1-2):203-14.

Database: /data/database/UCSC/hg19/genome/hg19.fa
25 sequences; 3,095,693,983 total letters

Query= SRR891268.1 HWI-ST281:266:C1LTTACXX:1:1101:1238:1978 length=50

Length=50

Sequences producing significant alignments:	Score (Bits)	E Value
chrM	91.6	2e-17
chr5	91.6	2e-17

b) 使用 Bowtie 进行序列匹配

命令行如下：

```
D:\硕士课程\计算分子生物学引论\作业\第4次作业_崔晏菲_2021210976\bowtie2-2.1.0-mingw-win64\bowtie2-2.1.0>bowtie2-align.ex
e --local -x ../../ref/bowtie2/hg19 -f ../../sequence2.fa -S ../../seq2fa_bowtie.txt
300 reads; of these:
  300 (100.00%) were unpaired; of these:
    3 (1.00%) aligned 0 times
    108 (36.00%) aligned exactly 1 time
    189 (63.00%) aligned >1 times
99.00% overall alignment rate

D:\硕士课程\计算分子生物学引论\作业\第4次作业_崔晏菲_2021210976\bowtie2-2.1.0-mingw-win64\bowtie2-2.1.0>bowtie2-align.ex
e --local -x ../../ref/bowtie2/hg19 -fq ../../sequence2.fastq -S ../../seq2fastq_bowtie.txt
3000 reads; of these:
  3000 (100.00%) were unpaired; of these:
    40 (1.33%) aligned 0 times
    973 (32.43%) aligned exactly 1 time
    1987 (66.23%) aligned >1 times
98.67% overall alignment rate
```

--local 表示在本地运行；-x 后为 genome reference 的文件位置；-f 表示待比对序列文件格式为(multi-)FASTA 文件，文件后缀为.fa/.mfa，-q 表示待比对序列为 FASTQ 格式文件，文件后缀为.fq/.fastq，-f/-q 后为待比对序

列的文件位置。-S 后为比对结果的存储位置。
对于 sequence2.fa 序列，300 个 reads 中有 189 个完成超过一次匹配，有 108 个完成 1 次匹配，有 3 个没有匹配，overall alignment rate 为 99%。
对于 sequence2.fastq 序列，3000 个 reads 中有 1987 个完成超过一次匹配，有 973 个完成 1 次匹配，有 40 个没有匹配，overall alignment rate 为 98.67%。
匹配结果分别见 sequence2fa.txt 和 sequence2fastq.txt 文件。