Bericht zur Alignierung zweier Protein-Sequenzen

Johanna Böttger

2) ***Human Hemoglobin subunit alpha*** (HBA_HUMAN)

```
        10         20         30         40         50
MVLSPADKTN VKAAWGKVGA HAGEYGAEAL ERMFLSFPTT KTYFPHFDLS
        60         70         80         90        100
HGSAQVKGHG KKVADALTNA VAHVDDMPNA LSALSDLHAH KLRVDPVNFK
       110        120        130        140
LLSHCLLVTL AAHLPAEFTP AVHASLDKFL ASVSTVLTSK YR
```

Human Hemoglobin subunit beta (HBB_HUMAN)

```
        10         20         30         40         50
MVHLTPEEKS AVTALWGKVN VDEVGGEALG RLLVVYPWTQ RFFESFGDLS
        60         70         80         90        100
TPDAVMGNPK VKAHGKKVLG AFSDGLAHLD NLKGTFATLS ELHCDKLHVD
       110        120        130        140
PENFRLLGNV LVCVLAHHFG KEFTPPVQAA YQKVVAGVAN ALAHKYH
```

3)

Globales Alignment

Beide Sequenzen werden komplett betrachtet, sodass beide in etwa gleich lang sein sollten → nur sinnvoll, wenn beide Sequenzen einander über ihre gesamte Länge hinweg ähnlich

Lokales Alignment

Suche der am besten übereinstimmenden Teilsequenzen →sinnvoll, wenn die Sequenzen nicht über ihre ganze Länge homolog (evolutionär verwandt) sind, sondern nur in Teilen

4)

(1) Globales Alignment mit voreingestellten Parametern

```
########################################
# Program: needle
# Rundate: Tue 10 Jul 2018 21:01:35
# Commandline: needle
#    -auto
#    -stdout
#    -asequence emboss_needle-I20180710-210134-0282-50243963-p1m.asequence
#    -bsequence emboss_needle-I20180710-210134-0282-50243963-p1m.bsequence
#    -datafile EBLOSUM62
#    -gapopen 10.0
#    -gapextend 0.5
#    -endopen 10.0
#    -endextend 0.5
#    -aformat3 pair
#    -sprotein1
#    -sprotein2
# Align_format: pair
# Report_file: stdout
########################################

#=======================================
#
# Aligned_sequences: 2
# 1: EMBOSS_001
# 2: EMBOSS_001
# Matrix: EBLOSUM62
# Gap_penalty: 10.0
# Extend_penalty: 0.5
#
# Length: 149
# Identity:      65/149 (43.6%)
# Similarity:    90/149 (60.4%)
# Gaps:           9/149 ( 6.0%)
# Score: 292.5
#
#
#=======================================

EMBOSS_001         1 MV-LSPADKTNVKAAWGKVGAHAGEYGAEALERMFLSFPTTKTYFPHF-D     48
                     || |:|.:|:.|.|.|||||  :..|.|.|||.|:.:.:|.|:.:|..| |
EMBOSS_001         1 MVHLTPEEKSAVTALWGKV--NVDEVGGEALGRLLVVYPWTQRFFESFGD     48

EMBOSS_001        49 LS-----HGSAQVKGHGKKVADALTNAVAHVDDMPNALSALSDLHAHKLR     93
                     ||     .|:.:||.|||||..|.::.:||:|::.....:.||:||..||.
EMBOSS_001        49 LSTPDAVMGNPKVKAHGKKVLGAFSDGLAHLDNLKGTFATLSELHCDKLH     98

EMBOSS_001        94 VDPVNFKLLSHCLLVTLAAHLPAEFTPAVHASLDKFLASVSTVLTSKYR    142
                     |||.||:||.:.|:..||.|...||||.|.|:..|.:|.|:..|..||.
EMBOSS_001        99 VDPENFRLLGNVLVCVLAHHFGKEFTPPVQAAYQKVVAGVANALAHKYH    147
```

(2) Globales Alignment mit Pam80

```
########################################
# Program: needle
# Rundate: Tue 10 Jul 2018 21:06:34
# Commandline: needle
#    -auto
#    -stdout
#    -asequence emboss_needle-I20180710-210632-0909-64082032-p1m.asequence
#    -bsequence emboss_needle-I20180710-210632-0909-64082032-p1m.bsequence
#    -datafile EPAM80
#    -gapopen 10.0
#    -gapextend 0.5
#    -endopen 10.0
#    -endextend 0.5
#    -aformat3 pair
#    -sprotein1
#    -sprotein2
# Align_format: pair
# Report_file: stdout
########################################

#=======================================
#
# Aligned_sequences: 2
# 1: EMBOSS_001
# 2: EMBOSS_001
# Matrix: EPAM80
# Gap_penalty: 10.0
# Extend_penalty: 0.5
#
# Length: 149
# Identity:      65/149 (43.6%)
# Similarity:    87/149 (58.4%)
# Gaps:           9/149 ( 6.0%)
# Score: 318.5
#
#
#=======================================

EMBOSS_001         1 MV-LSPADKTNVKAAWGKVGAHAGEYGAEALERMFLSFPTTKTYFPHF-D     48
                     || |:|.:|:.|.|.||||  :..|.|.|||.|:...:|.|..:|..| |
EMBOSS_001         1 MVHLTPEEKSAVTALWGKV--NVDEVGGEALGRLLVVYPWTQRFFESFGD     48

EMBOSS_001        49 LSH-----GSAQVKGHGKKVADALTNAVAHVDDMPNALSALSDLHAHKLR     93
                     ||.     |:..||.|||||..|.::..||.|::..:.::||:||..||.
EMBOSS_001        49 LSTPDAVMGNPKVKAHGKKVLGAFSDGLAHLDNLKGTFATLSELHCDKLH     98

EMBOSS_001        94 VDPVNFKLLSHCLLVTLAAHLPAEFTPAVHASLDKFLASVSTVLTSKYR    142
                     |||.||:||.:.|...||.|...||||.|:|:..|..|.|:..|:.||.
EMBOSS_001        99 VDPENFRLLGNVLVCVLAHHFGKEFTPPVQAAYQKVVAGVANALAHKYH    147
```

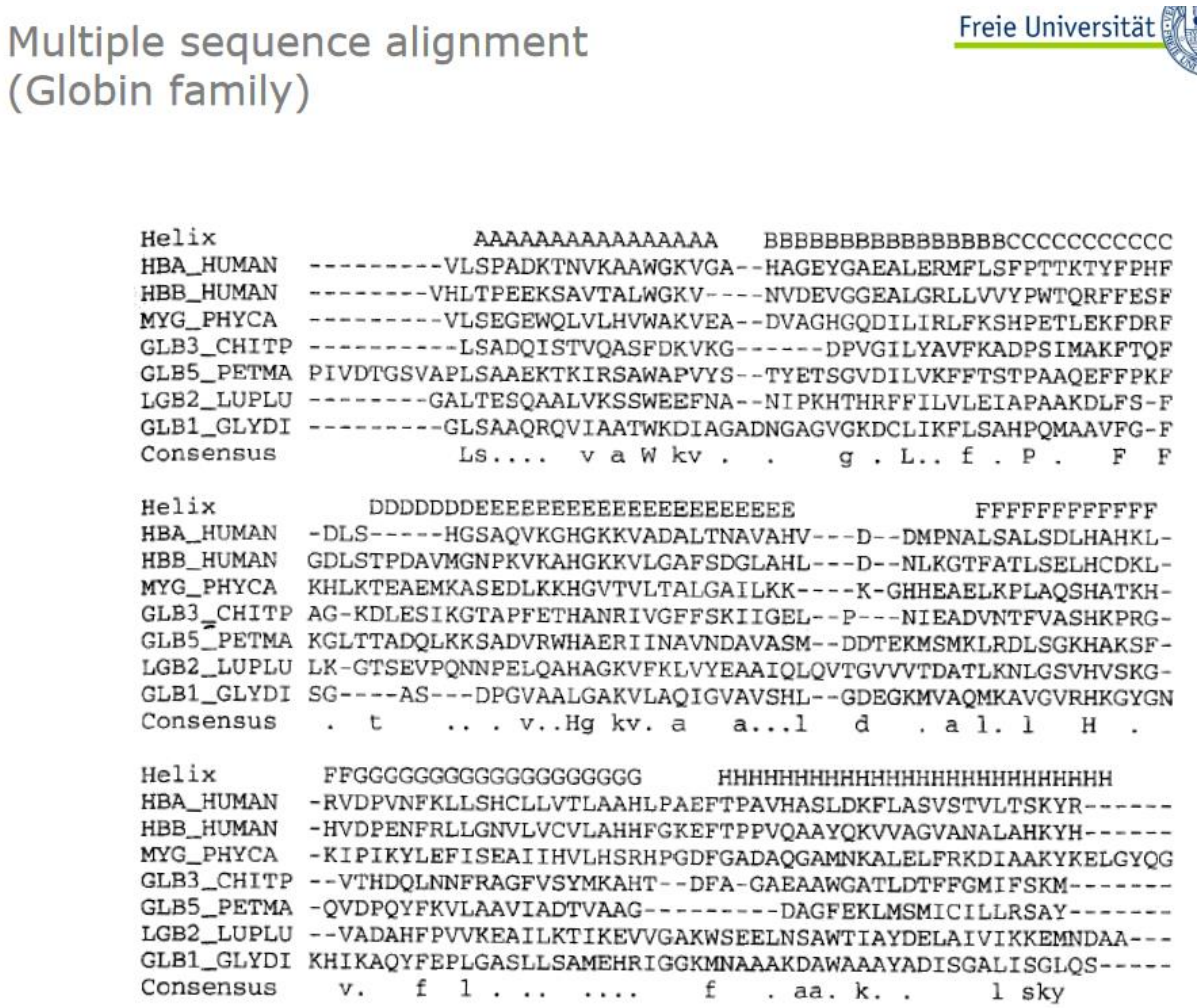
(3) Globales Alignment mit GAP OPEN penalty = 50

```
########################################
# Program: needle
# Rundate: Tue 10 Jul 2018 21:11:36
# Commandline: needle
#    -auto
#    -stdout
#    -asequence emboss_needle-I20180710-211134-0982-84718056-p2m.asequence
#    -bsequence emboss_needle-I20180710-211134-0982-84718056-p2m.bsequence
#    -datafile EBLOSUM62
#    -gapopen 50.0
#    -gapextend 0.5
#    -endopen 10.0
#    -endextend 0.5
#    -aformat3 pair
#    -sprotein1
#    -sprotein2
# Align_format: pair
# Report_file: stdout
########################################

#=======================================
#
# Aligned_sequences: 2
# 1: EMBOSS_001
# 2: EMBOSS_001
# Matrix: EBLOSUM62
# Gap_penalty: 50.0
# Extend_penalty: 0.5
#
# Length: 149
# Identity:      61/149 (40.9%)
# Similarity:    87/149 (58.4%)
# Gaps:           9/149 ( 6.0%)
# Score: 210.0
#
#
#=======================================

EMBOSS_001         1 -MVLSPADKTNVKAAWGKVGAHAGEYGAEALERMFLSFPTTKTYFPHF--     47
                     :.|:|.:|:.|.|.|||||  :..|.|.|||.|:.:.:|.|:.:|..|
EMBOSS_001         1 MVHLTPEEKSAVTALWGKV--NVDEVGGEALGRLLVVYPWTQRFFESFGD     48

EMBOSS_001        48 ----DLSHGSAQVKGHGKKVADALTNAVAHVDDMPNALSALSDLHAHKLR     93
                         |...|:.:||.|||||..|.::.:||:|::....:.||:||..||.
EMBOSS_001        49 LSTPDAVMGNPKVKAHGKKVLGAFSDGLAHLDNLKGTFATLSELHCDKLH     98

EMBOSS_001        94 VDPVNFKLLSHCLLVTLAAHLPAEFTPAVHASLDKFLASVSTVLTSKYR    142
                     |||.||:||.:.|:..||.|...||||.|.|:..|.:|.|:..|..||.
EMBOSS_001        99 VDPENFRLLGNVLVCVLAHHFGKEFTPPVQAAYQKVVAGVANALAHKYH    147
```

(4) Lokales Alignment (Water) mit voreingestellten Parametern

```
########################################
# Program: water
# Rundate: Tue 10 Jul 2018 21:18:55
# Commandline: water
#    -auto
#    -stdout
#    -asequence emboss_water-I20180710-211852-0917-19526312-p1m.asequence
#    -bsequence emboss_water-I20180710-211852-0917-19526312-p1m.bsequence
#    -datafile EBLOSUM62
#    -gapopen 10.0
#    -gapextend 0.5
#    -aformat3 pair
#    -sprotein1
#    -sprotein2
# Align_format: pair
# Report_file: stdout
########################################

#=======================================
#
# Aligned_sequences: 2
# 1: EMBOSS_001
# 2: EMBOSS_001
# Matrix: EBLOSUM62
# Gap_penalty: 10.0
# Extend_penalty: 0.5
#
# Length: 145
# Identity:      63/145 (43.4%)
# Similarity:    88/145 (60.7%)
# Gaps:           8/145 ( 5.5%)
# Score: 293.5
#
#
#=======================================

EMBOSS_001         3 LSPADKTNVKAAWGKVGAHAGEYGAEALERMFLSFPTTKTYFPHF-DLS-     50
                     |:|.:|:.|.|.||||  :..|.|.|||.|:.:.:|.|:.:|..| |||
EMBOSS_001         4 LTPEEKSAVTALWGKV--NVDEVGGEALGRLLVVYPWTQRFFESFGDLST     51

EMBOSS_001        51 ----HGSAQVKGHGKKVADALTNAVAHVDDMPNALSALSDLHAHKLRVDP     96
                         .|:.:||.|||||..|.::.:||:|::....:.||:||..||.|||
EMBOSS_001        52 PDAVMGNPKVKAHGKKVLGAFSDGLAHLDNLKGTFATLSELHCDKLHVDP    101

EMBOSS_001        97 VNFKLLSHCLLVTLAAHLPAEFTPAVHASLDKFLASVSTVLTSKY    141
                     .||:||.:.|:..||.|...||||.|.|:..|.:|.|:..|..||
EMBOSS_001       102 ENFRLLGNVLVCVLAHHFGKEFTPPVQAAYQKVVAGVANALAHKY    146
```

Vergleich mit mit dem Alignment aus der Vorlesung (Folie 9)



Das Alignment aus der Vorlesung betrachtet mehrere Sequenzen der Globin-Familie, sodass, um ein stimmiges Gesamtbild zu erhalten, anders aligniert wurde. Beispielsweise ist aufgrund der Sequenz von GLB5_PETMA notwendig bei allen anderen Sequenzen Lücken zu Beginn einzufügen.

Erläuterung der verwendeten Parameter

PAM80-Matrix

= **P**oint **A**ccepted **M**utation Matrix

Substitutionsmatrix, die anhand statistischer Sequenzunterschiede die Wahrscheinlichkeiten einer Veränderung einer Sequenz ausgibt. Die Zahl gibt die Wahrscheinlichkeit der Umwandlung einer Aminosäure in die andere an (80 % Wahrscheinlichkeit der Umwandlung, 20 % Wahrscheinlichkeit der Nicht-Umwandlung).

BLOSUM62-Matrix

= **BLO**cks **SU**bstitution **M**atrix

Substitutionsmatrix, die mittels lokalem Alignment, Scores zwischen evolutionär divergierenden Proteinsequenzen. Sie wird bei hochkonservierten Regionen von Proteinfamilien verwendet. Die Zahl gibt, dass die Sequenzen, die benutzt wurden um diese Matrix zu erstellen zu ca. 62 % identisch waren. Allen BLOSUM-Matrices ist gemeinsam, dass sie auf beobachteten Alignments basieren und nicht wie PAM-Matrices aus Vergleichen nahe verwandter Proteine extrapolarisiert werden.

Gap Open penalty

Gibt den Wert der Bestrafung für das Einfügen einer einzelnen Lücke in die alignten Sequenzen an. Wenn der Wert hoch ist, ist die Bestrafung bezüglich des finalen Scores stärker.

Gap Extend penalty

Gibt den Wert der Bestrafung für das Einfügen mehrerer aufeinander folgender Lücken in die alignten Sequenzen an.

Je höher der Score, desto besser das Alignment. Zur Berechnung des Scores werden Gaps mit negativen Werten gewichtet, wohingegen Matches positive Werte erhalten. Missmatches verrechnen sich mit größeren negativen Zahlen.