Laboratórios de Bioinformática





- A sequência a pesquisar pode ser introduzida em formato fasta, apenas a sequência (sem linha de título) ou usando o código da base de dados (accession number)
- A sequência a introduzir pode ser a sequência completa ou apenas um fragmento

BLAST – Escolher o tipo de BLAST

Blastn

 procurar uma sequência de DNA na base de dados de DNA

Blastp

 procurar uma proteína na base de dados de proteínas

Blastx

 procurar uma sequência de DNA traduzida na base de dados de proteínas

Tblastn

 procurar uma proteína na base dados de sequências de DNA traduzida

Tblastx

 procurar uma sequência de DNA traduzida na base de dados de sequências de DNA traduzidas

BLAST Assembled Genomes

Find Genomic BLAST pages:

Enter organism name or id--completions will be suggested



- Human
- Mouse
- □ Rat □ Cow
- o Pig
- Dog

- Rabbit
- Chimp
- Guinea pigFruit fly
- □ Honey bee
- Chicken

- Zebrafish
- Clawed frog
- Arabidopsis
- Rice
- Yeast
- Microbes

Basic BLAST

Choose a BLAST program to run.

nucleotide blast	Search a nucleotide database using a nucleotide query Algorithms: blastn, megablast, discontiguous megablast
protein blast	Search protein database using a protein query Algorithms: blastp, psi-blast, phi-blast, delta-blast
blastx	Search protein database using a translated nucleotide query
<u>tblastn</u>	Search translated nucleotide database using a protein query
<u>tblastx</u>	Search translated nucleotide database using a translated nucleotide query

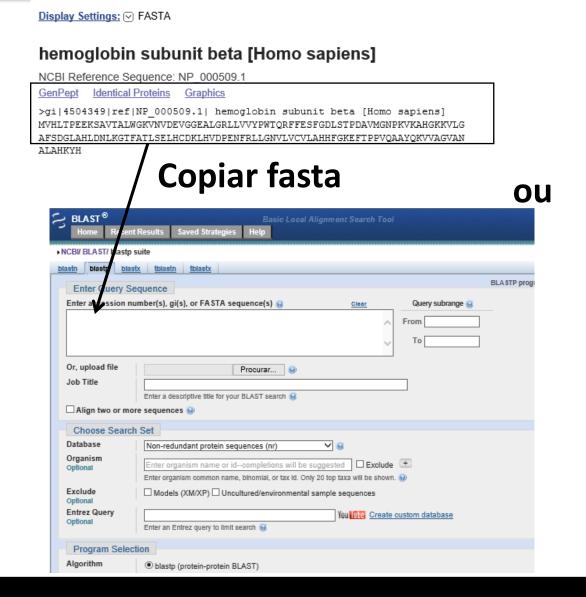
Specialized BLAST

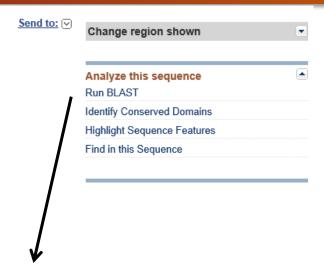
Choose a type of specialized search (or database name in parentheses.)

- Make specific primers with <u>Primer-BLAST</u>
- Cluster multiple sequences together with their database neighbors using MOLE-BLAST
- Find conserved domains in your sequence (cds)
- Find sequences with similar conserved domain architecture (cdart)
- Search sequences that have gene expression profiles (GEO)
- Search <u>immunoglobulins and T cell receptor sequences</u> (IgBLAST)
- Screen sequence for vector contamination (vecscreen)
- Align two (or more) sequences using BLAST (bl2seq)



BLAST - input

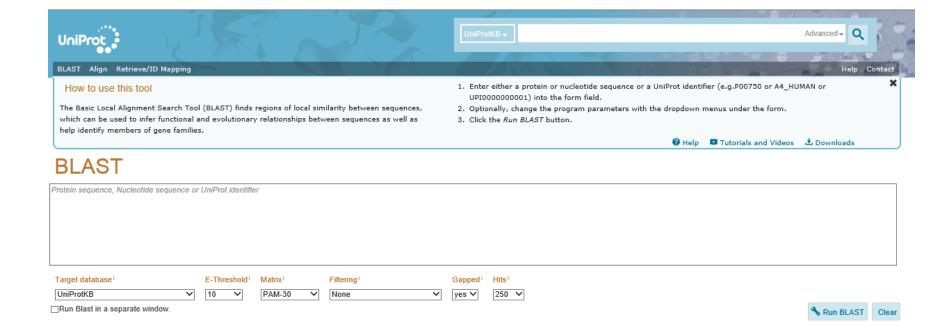




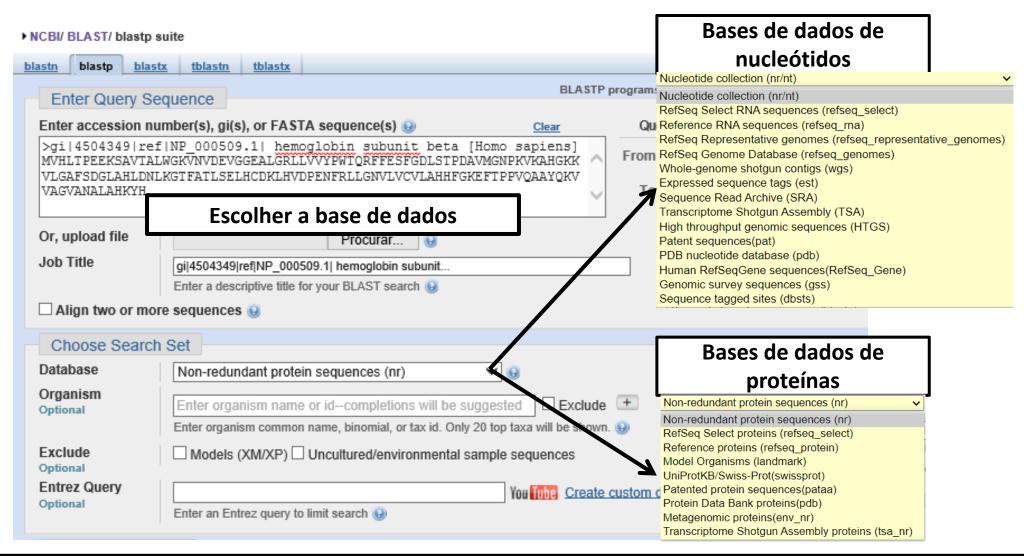
Executa um BLAST da sequência

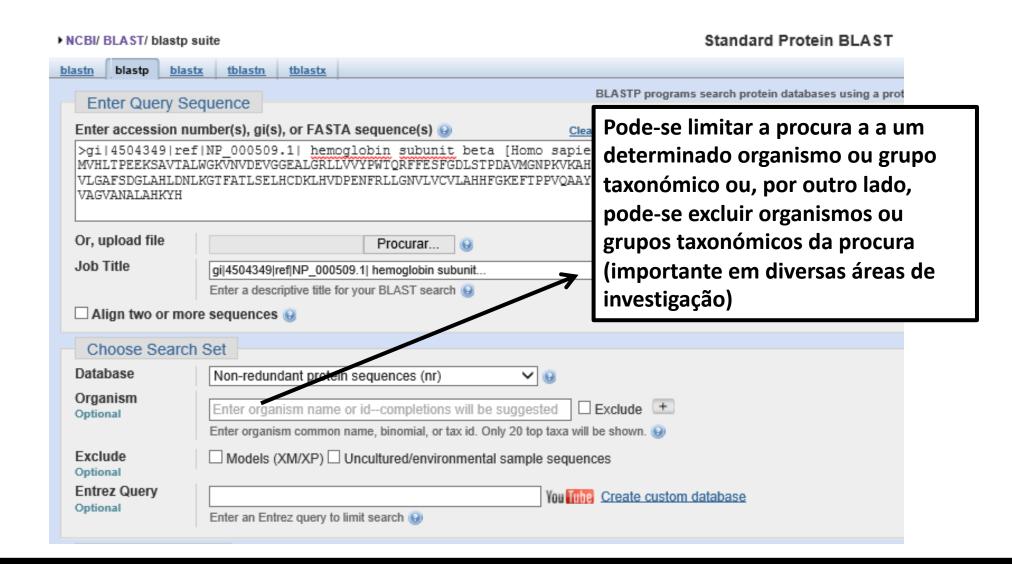


BLAST - UniProt

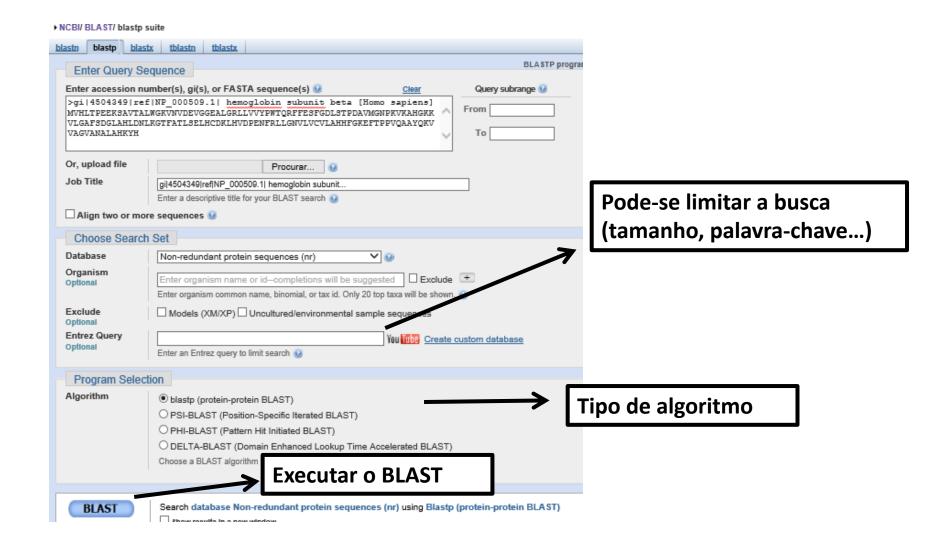




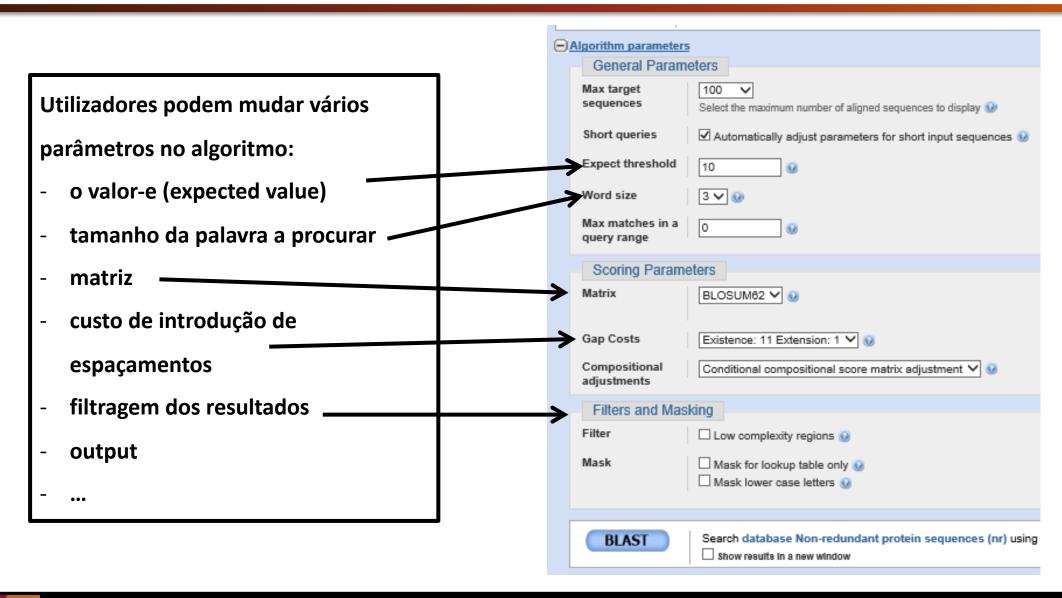






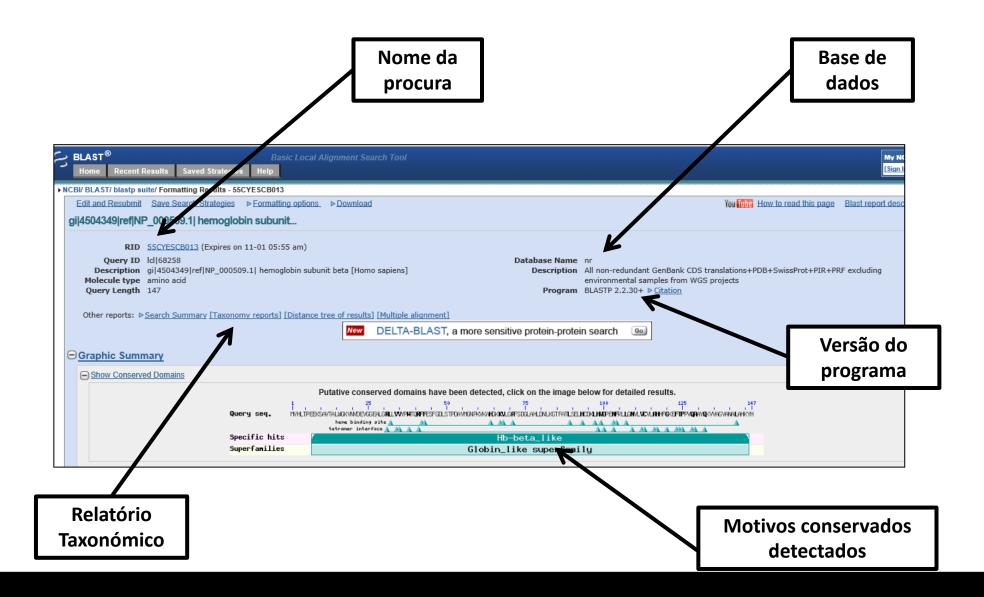








BLAST - Output



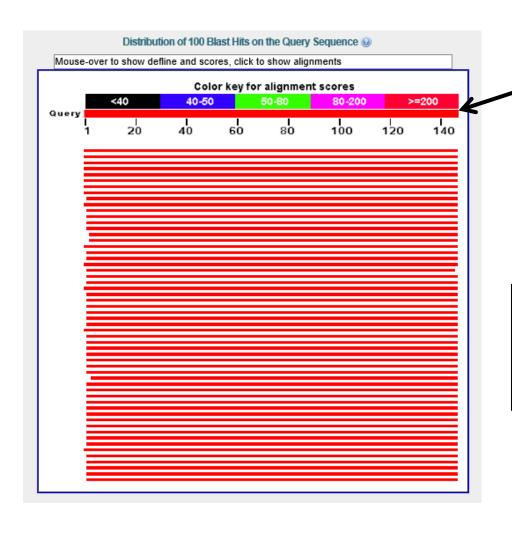


BLAST - Relatório Taxonómico

Lineage Report hemoglobin beta [synthetic construct] synthetic construct ------ 301 10 hits [other sequences] hemoglobin subunit beta [Homo sapiens] >gi|55635219|ref|XP 5 hits [primates] hemoglobin subunit beta [Homo sapiens] >gi|55635219|ref|XP [primates] hemoglobin subunit beta [Homo sapiens] >gi|55635219|ref|XP Gorilla gorilla (lowland gorilla) 300 [primates] RecName: Full=Hemoglobin subunit beta; AltName: Full=Beta-g Hylobates lar (white-handed gibbon) 294 RecName: Full=Hemoglobin subunit beta; AltName: Full=Beta-g 2 hits [primates] 3 hits [primates] hemoglobin beta Pongo pygmaeus (orang utan) 293 [primates] RecName: Full=Hemoglobin subunit beta; AltName: Full=Beta-g Semmopithecus entellus (Hanuman langur) 291 1 hit RecName: Full=Hemoglobin subunit beta; AltName: Full=Beta-g 1 hit [primates] RecName: Full=Hemoglobin subunit beta; AltName: Full=Beta-g 2 hits [primates] Ateles geoffroyi (Central American spide...) ... 289 RecName: Full=Hemoglobin subunit beta; AltName: Full=Beta-g 1 hit [primates] Ateles belzebuth (long-haired spider monkey) ... 289 RecName: Full=Hemoglobin subunit beta; AltName: Full=Beta-g [primates] Macaca fascicularis (long-tailed macaque) 289 [primates] hemoglobin subunit beta [Macaca fascicularis] >gi|62901537| hemoglobin subunit beta [Macaca fascicularis] >gi|62901537| 1 hit [primates] hemoglobin subunit beta [Macaca fascicularis] >gi|62901537| 1 hit [primates] Macaca nemestrina (pigtail monkey) 289 [primates] hemoglobin subunit beta [Macaca fascicularis] >gi|62901537| 2 hits [primates] hemoglobin subunit beta [Macaca fascicularis] >gi|62901537| Macaca mulatta (rhesus monkeys) 289 5 hits [primates] hemoglobin subunit beta [Macaca fascicularis] >gi|62901537| Pithecia pithecia (Guianan saki) 289 2 hits [primates] RecName: Full=Hemoglobin subunit beta; AltName: Full=Beta-g Lagothrix lagotricha (common woolly monkey) 289 RecName: Full=Hemoglobin subunit beta; AltName: Full=Beta-g 2 hits [primates] Chlorocebus aethiops (savanah monkey) 289 2 hits [primates] RecName: Full=Hemoglobin subunit beta; AltName: Full=Beta-g Callithrix jacchus (white ear-tufted marmoset) . 288 4 hits [primates] PREDICTED: hemoglobin subunit beta [Callithrix jacchus] >qi Sapajus apella (brown-capped capuchin) 288 3 hits RecName: Full=Hemoglobin subunit beta; AltName: Full=Beta-g 1 hit beta globin (predicted) [Callicebus moloch] [primates] Callimico goeldii (Goeldi's monkey) 287 2 hits [primates] RecName: Full=Hemoglobin subunit beta; AltName: Full=Beta-g Macaca arctoides (bear macaque) 286 hemoglobin beta chain - stump-tailed macaque 1 hit [primates] 3 hits [primates] hemoglobin subunit beta [Papio anubis] >gi|226693534|sp|Q9T [primates] RecName: Full=Hemoglobin subunit beta; AltName: Full=Beta-g Saimiri sciureus (South American squirre...) ... 286 2 hits [primates] RecName: Full=Hemoglobin subunit beta; AltName: Full=Beta-g RecName: Full=Hemoglobin subunit beta; AltName: Full=Beta-g DocNome: Full-Momestohin subunit beta: AltMome: Full-Pots-



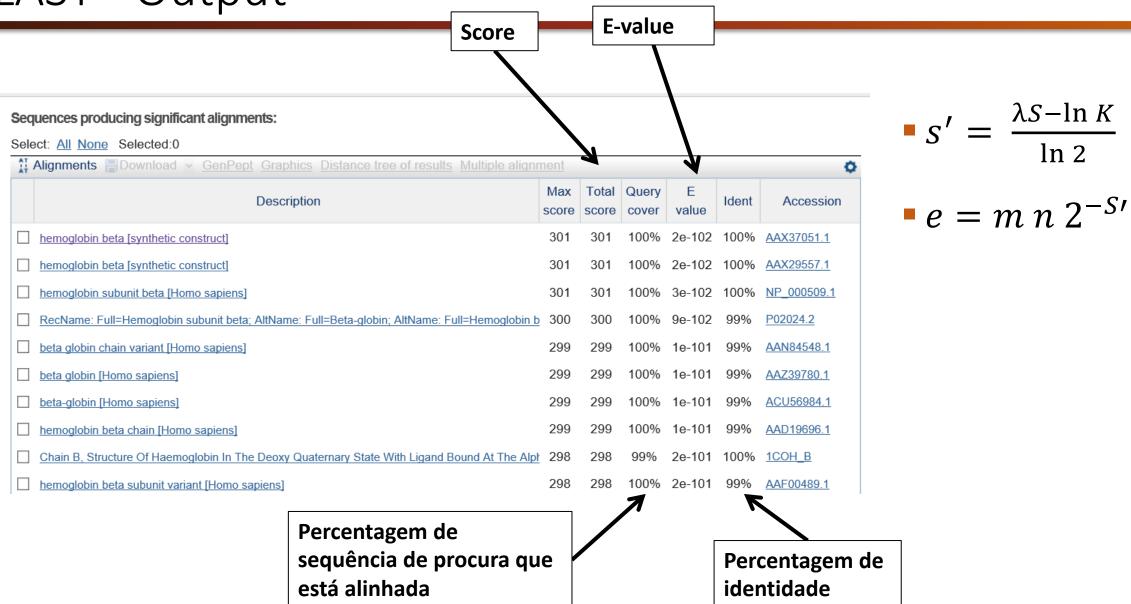
BLAST – Output gráfico



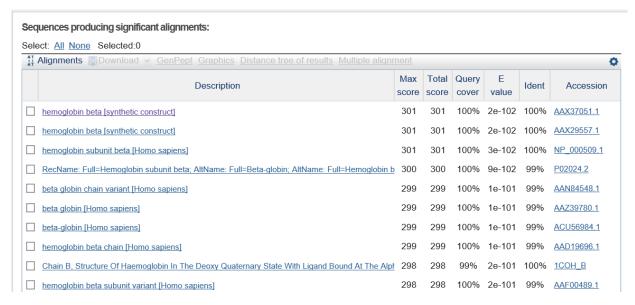
Extensão da sequência introduzida na procura

As 100 sequências com scores mais altos apresentam homologia ao longo de toda a região e com um "Score" alto (mais de 200)

BLAST - Output



*BLAST - Scores

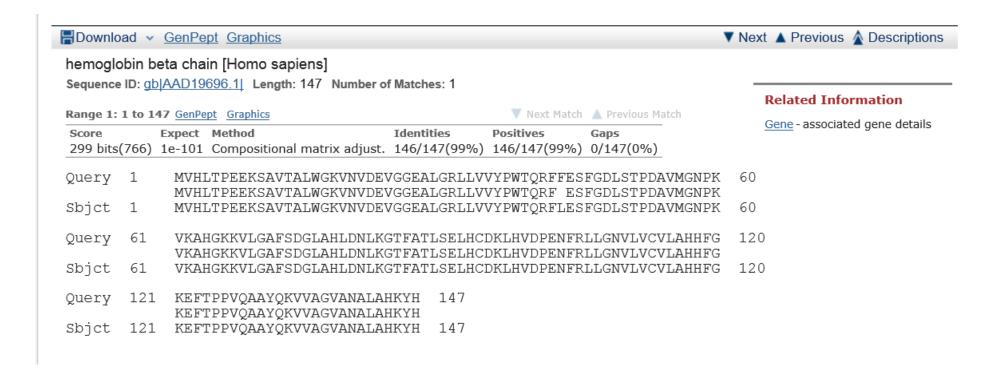


- "Scores" altos correspondem a "e-values" baixos
- Dependem da porção alinhada com a sequência utilizada na procura (cover)

- Dependem da homologia
- Pequenas porções podem apresentar homologia alta mesmo que a restante proteína não apresente homologia significativa (motivos conservados?)
- Difícil estabelecer a partir de que "score" ou "e-value" o resultado é significativo



BLAST - Alinhamento

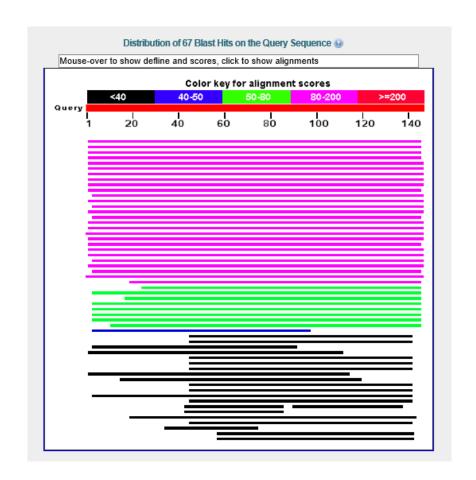


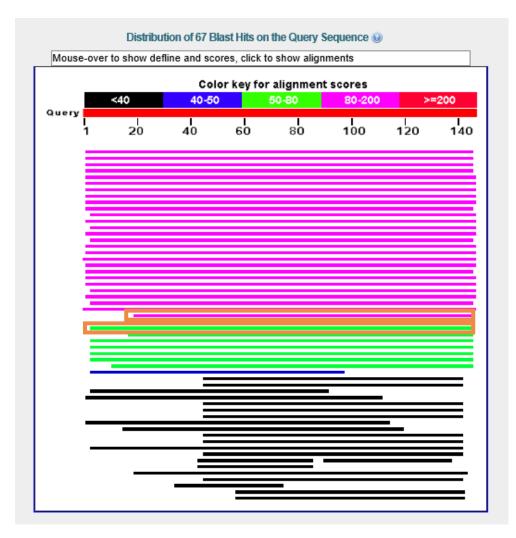


BLAST

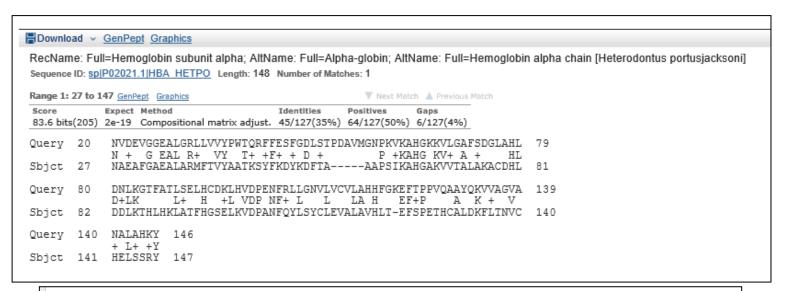
Exemplo:

- Fazer a mesma busca mas verificar a existência de homólogos fora do grupo taxonómico tetrapoda
- Os scores vão ser mais baixos (menor homologia)
- Em muitos casos o alinhamento não se estenderá por toda a proteína da busca





- Uma sequência que não alinhou em toda a extensão da sequência de procura tem um score maior do que uma sequência que alinhou em praticamente toda a extensão
 - score e e-value dependem da extensão do alinhamento e da homologia encontrada



Sequence		l=Globin D, coelomic [Caudina arenicola]	
	ID: sp	P80017.3 GLBD CAUAR Length: 159 Number of Matches: 1	
Range 1:	13 to 1	.57 GenPept Graphics W Next Match A Previous Match	
Score		Expect Method Identities Positives Gaps	
53.9 bits	(128)	1e-08 Compositional matrix adjust. 43/147(29%) 64/147(43%) 6/147(4%)	
Query	4	LTPEEKSAVTALWGKVNVDEVGGEALGRLLVVYPWTQRFFESFGDLSTPDAVMGNPKV LTP EK + + W ++ G + R+ P QR F LS P + + ++	61
Sbjct	13	LTPAEKDLIRSTWDQLMTHRTGFVADVFIRIFHNDPTAQRKFPQMAGLS-PAELRTSRQM	71
Query	62	KAHGKKVLGAFSDGLAHLDNLKGTFATLSELHCDKLHVDPENFRLLGNVLVCVLAHHF AH +V + + +D L ATL+ H DK HV +N+ L G VL+ +	119
Sbjct	72		130
Query	120	GKEFTPPVQAAYQKVVAGVANALAHKY 146 G FT V A+ K A V I. K+	
Sbjct	131	GVGFTKQVHDAWAKTFAIVQGVLITKH 157	

Linha de comando



BLAST no Bioinformatics Linux

- O Bioinformatics Linux contem o docker do blast+.
- Sintaxe para executar a shell do docker:

```
    docker run --rm -it \
        -v ~/dockermounts/blastdb:/blast/blastdb:rw\
        -v ~/dockermounts/queries:/blast/queries:rw \
        -v ~/dockermounts/results:/blast/results:rw \
        ncbi/blast \
        /bin/bash
```

BLAST no Bioinformatics Linux

- Parâmetros passados usandos dentro do container:
 - o identificação do programa: blastp, blastn, blastx and tblastx
 - o-db identificação da Base de Dados
 - o -query localização do ficheiro de *input*
 - o -out especificaçãod o ficheiro de output
- Exemplo :

\$ blastp -db swissprot -query mypeptides.tfa -out mypeptides.out

