

מטלת השתלמות מורים בביואינפורמטיקה

טבלת השוואה בין כלים בביואינפורמטיים

1. Entrez

- הגדרה: מנוע חיפוש. השאילתה מורכבת ממילות חיפוש/מילות מפתח, והכלי מאתר במאגרי מידע רשומות העונות לתנאי החיפוש.
- מולקולה: חלבונים, חומצות גרעין, חומצות אמינו ועוד.
- עקרונות שימוש: חיפוש מושכל: בחירת סוג המאגר (nucleotide/protein) ושימוש במילות חיפוש תוך אפשרות לציון השדה לחיפוש בסוגריים מרובעים [], אופרטורים (AND OR NOT), מסך הגבלות (Limits), תת-מאגר, סוג המולקולה, האורגניזם וכו'.
- מטרת השימוש: קבלת רצפי גן / cDNA / חלבון.
- צורת ההצגה: GCG ומידע מילולי על מהות הגן, אורגניזם, אזורים בגן ועוד.
- ידע קודם נדרש: הכרת האפשרויות לחיפוש מושכל ואפשרויות ההגבלה.
- מגבלות: נדרשת הכרה עם האפשרויות השונות לקיום חיפוש מושכל; חיפוש מרובה/חסר הוצאות.

2. ClustalW

- הגדרה: כלי המשמש להעמדה של שני רצפים לפחות אותם המשתמש מדביק בשדה המיועד לכך.
- מולקולה: חומצות גרעין (DNA גנומי או cDNA), וחומצות אמינו.
- עקרונות שימוש: זוג רצפים מועמדים זה ומוול זה, ומושויים זה מול זה. על כל זהות, דמיון או חסר מתקבל ניקוד. הניקוד המצטבר מעיד על רמת הדמיון בין שני רצפים. לכל אחד מהמצבים (זהות, דמיון או חסר) יש סימון משלו.
- מטרת השימוש: זיהוי אזורים הומולוגיים השמורים בין שני רצפים או יותר; איתור מוטציות ברצף; חקר פילוגנטי.
- צורת ההצגה: סכימתית -

המשמעות		החו	
השוואה בין רצפי נוקלאוטידים	השוואה בין רצפי חומצות אמינו	שם	סמל
נוקלאוטידים זהים בין הרצפים	חומצות אמינו זהות בין הרצפים	כוכבית	***
	חומצות אמינו שונות, אך בעלות תכונות כימיות ופיזיקליות מאוד דומות	נקודתיים	**
	חומצות אמינו שונות, אך בעלות תכונות כימיות ופיזיקליות נעט דומות	נקודה	*
חסר של נוקלאוטיד באחד הרצפים	חסר של חומצה אמינית באחד הרצפים	מקף	-
נוקלאוטידים שונים בין הרצפים	חומצות אמינו שונות בין הרצפים	רווח	..

- ידע קודם נדרש: הרצפים להשוואה, ומאפייני הרצפים המשווים (genomic DNA/cDNA).
- מגבלות: לא מתקבל מידע על מקור הרצף, זהותו, ואלמנטים המצויים בו.

ביואינפורמטיקה בשירות הביוטכנולוגיה

מוטציות מאריכות חיים

מנחות: ד"ר ג'נט בשארה-שיבאן, ד"ר רונית שינה, רחל סקאל

פעילות הארכת חיים לכלים: Entrez ו- BLASTn

הפעילות דורשת ידע מוקדם בנושא סוגי המוטציות והשפעותיהן האפשריות על החלבונים המתקבלים.

שלבי הפעילות הביואינפורמטית:

א. חיפוש רצף הגן Dper1GL12086 בעזרת הכלי Entrez.

ב. חיפוש רצף דומה במאגר ה- BLASTn והשוואה בין הרצפים שהתקבלו.

תרומת הכלים הביואינפורמטיים:

א. חיפוש גן במאגר גנים מאפשר למצוא רצף של גן כדי לחפש בהמשך מה המוטציות הגורמות לו לשנות את פעילותו.

ב. ממצא של מוטציה המקנה אריכות חיים, תוך השוואת הרצף התקין לרצף המוטנטי

ג. תרומת הידע המדעי המושג מהכלי היא שבעזרת מציאת המוטציה ישנה המחשה של נושא המוטציות הנקודתיות והשפעתן על תפקוד החלבון. כמו כן, בדיכ נושא המוטציות נלמד כמוטציות הגורמות למחלות, ופה ישנה דוגמה למוטציה שמקנה יתרון, מה שפותח צוהר לנושא האבולוציה.

הרחבת הנושא לעתיד:

א. ניתן בהמשך, לחפש גנים המקודדים לחלבונים דומים ביצורים אחרים, ולבדוק האם אפשר לעכב בעזרתם את תהליכי הזקנה.

ב. יתכן וניתן יהיה להשתמש בגן זה לצורך הרזיה.

רקע:

מוטציות

מוטציה היא שינוי אקראי ברצף הבסיסים של ה- DNA. הכפלת ה- DNA נעשית תוך דיוק בזיווג הבסיסים על מנת לשמור על המידע התורשתי. שינוי ברצף הבסיסים עלול לגרום שינוי במידע התורשתי. מוטציות יכולות להיגרם בגלל החלפה של בסיס אחד בבסיס אחר, הוספה של בסיס והחסרת בסיס. ישנן גם מוטציות לא נקודתיות בהן משתנה מיקומם של מספר זוגות בסיסים ושינוי זה אף יכול להקיף מספר גנים. המוטציה יכולה להתבטא באופנים שונים, למשל, לגרום לשינוי בפעילות החלבון או לשינוי בכמות החלבון. בכל מקרה המוטציה מובילה לערעור האיזון

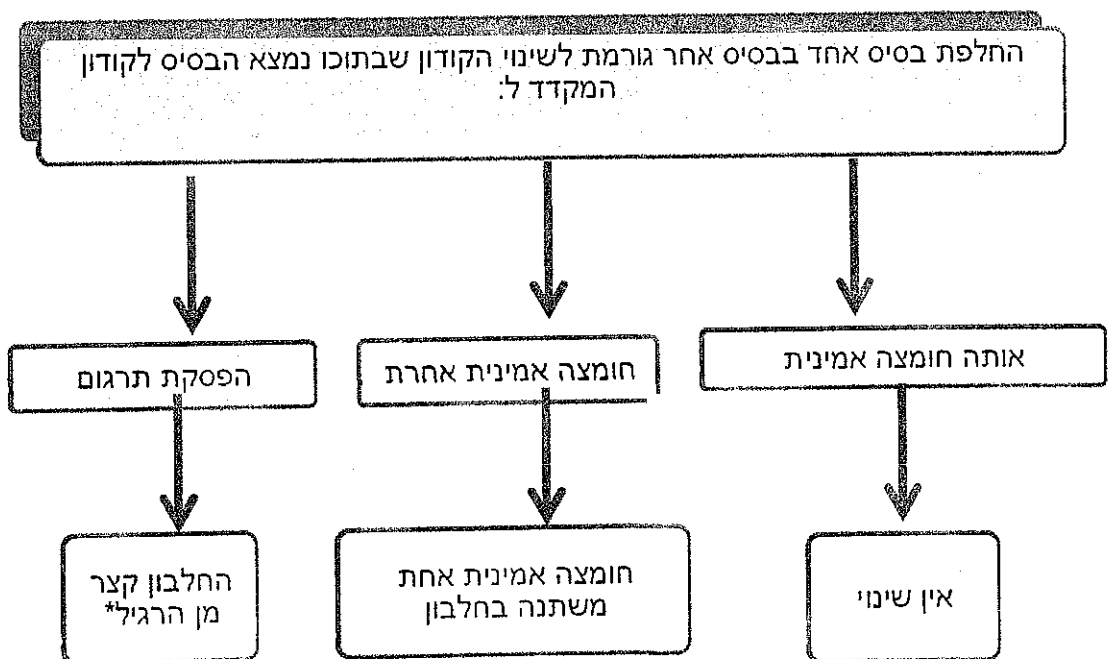
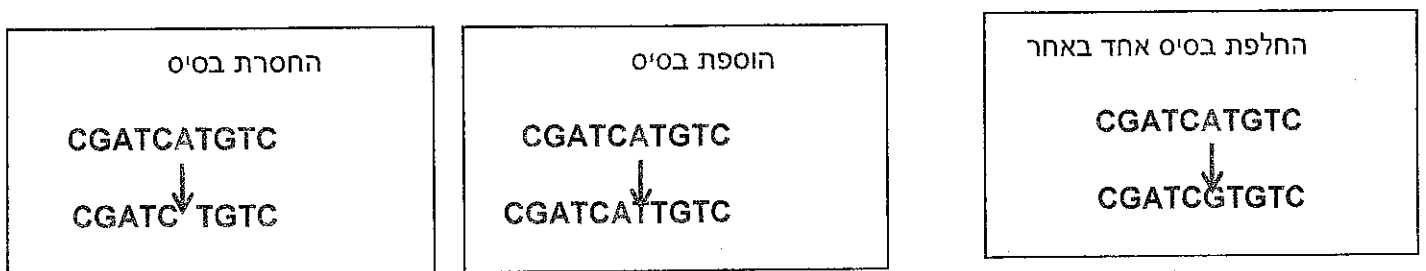
בינו לבין מרכיבים אחרים בתא וכתוצאה מכך לשיבוש פעילות התא. מוטציות יכולות להתרחש בתאי המין ואז (במקרה של הפריה ויצירת עובר) לעבור לכל תאי הגוף. לחילופין מוטציות יכולות להתרחש בתאי הגוף ואז להתקיים רק בקבוצת תאים מסוימת.

במוטציה נקודתיות חל שינוי בבסיס אחד ב-DNA. ישנם 3 סוגים של מוטציות נקודתיות:

א. החסרה ב. הוספה ג. החלפה

אי אפשר להבחין במוטציות נקודתיות בתצפית מיקרוסקופית

סוגי המוטציות הנקודתיות



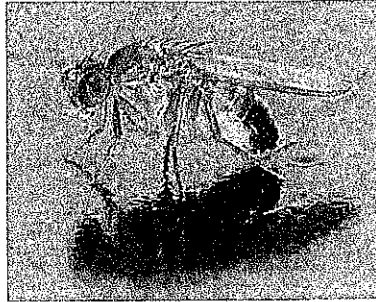
1. באיזה סוג מוטציה הסיכוי לקבלת חלבון פעיל יהיה הגדול ביותר?

א. מוטצית חסר של נוקלאוטיד אחד.

ב. מוטצית תוספת של נוקלאוטיד אחד.

ג. מוטציה של החלפת נוקלאוטיד.

ד. מוטצית תוספת ל מקטע ארוך.



דרוזופילה זהו זבוב פירות, בעל ארבעה זוגות כרומוזומים, קל לגידול במעבדה ולכן נחקר רבות בחום הגנטיקה. הגנום של זבוב הפירות הנ"ל זהה ב- 50% לגנום של בן האדם.

משימה 1- חיפוש רצף הגן Dper|GL12086 בעזרת הכלי Entrez.

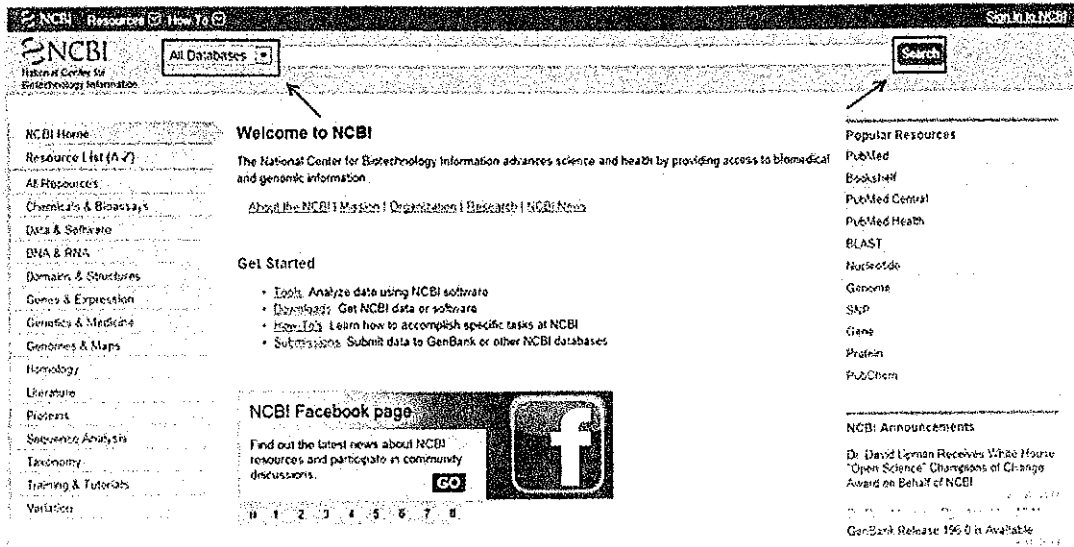
מטרת המשימה:

מטרת המשימה הינה לאתר במאגרי המידע את רצף הגן המקודד **Dper|GL12086**. רצף זה מקודד למשאבת נתרן פעילה בקרום התא. הדרך הטובה ביותר לאיתור הרצף הנח להיעזר במרכזי הביואינפורמטיקה, המרכזים ומנהלים מאגרי מידע וכלים ביואינפורמטיים רבים. בדוגמה זו ניעזר במאגרי המידע המצויים באתר הבית של (NCBI National Center for) National Center for Biotechnology Information.

שלבי המשימה-

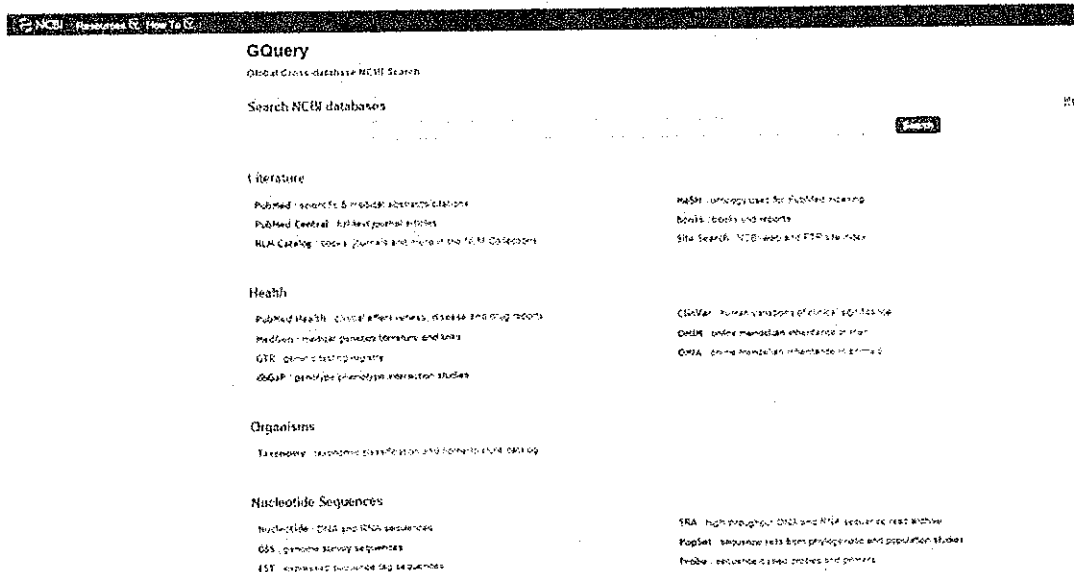
1. נשתמש במנוע החיפוש Entrez על מנת לאתר רשומה המתארת את רצף מולקולת ה-RNA-שליח (mRNA) של הגן **Dper|GL12086** בדרוזופילה.
2. נלמד על מבנה הרשומה ועל האופן שבו ניתן להפיק מידע ביולוגי רלוונטי. נתחיל עתה בחלק הראשון של המשימה:
על מנת לחפש במאגר מידע רשומה עלינו לבצע את הפעולות הבאות:
 1. בחירת מאגר מידע מתאים.
 2. חיפוש בעזרת מנוע החיפוש Entrez.
 3. מיקוד תוצאות החיפוש בעזרת שימוש באפשרויות ההגבלה (limits).

ניכנס לאתר הבית של NCBI (לחצו על הקישור) (מסך 1).



מסך 1: אתר הבית של ה-NCBI (המרכז הלאומי למידע ביוטכנולוגי)

כאשר בחלונית ה Search- מופיע השדה "All Databases" נלחץ על כפתור ה- Search (מסך 2). כעת נקבל דף שבו מצוינים כל מאגרי המידע המתוחזקים ב- NCBI שבהם ניתן לבצע חיפוש.



מסך 2: מאגרי המידע המתוחזקים על ידי ה-NCBI ושניתן לבצע בהם חיפוש

המאגרים כוללים בין השאר מאגרים של רצפי נוקלאוטידים, רצפי חלבונים, מאמרים מדעיים, גנומים שלמים, מבנים תלת-ממדיים של חלבונים, דגם ביטוי גנים ועוד (מסך 2). כל מאגר מידע כזה כולל קבצים רבים המתארים מולקולות שונות. למשל, חלבונים שונים או רצפי נוקלאוטידים שונים. כל קובץ במאגר קרוי- רשומה. החיפוש במאגרי המידע השונים מתבצע על ידי מנוע חיפוש (בדומה למנועי חיפוש ברשת כדוגמת Google). מנוע החיפוש ב-NCBI מכונה Entrez.

בחירת מאגר מידע מתאים

חיפוש יעיל ומושכל נעשה על ידי בחירה של סוג מאגר נתונים מתאים וחיפוש ממוקד במאגר מסוג זה בלבד. נתבונן בסוגי המאגרים הקיימים ב-NCBI (מסך 2). עלינו לבצע חיפוש לרצף הגן DperlGL12086.

2. באיזה סוג מאגר מידע נשתמש?

א. Protein (חלבון).

ב. Nucleotide (נוקליאוטיד).

ג. PubMed (מאמרים).

ד. Structure (מבנה).

בחר את המאגר מידע המתאים.

מיצד יבוצע החיפוש של הרשומה הרצויה במאגר המידע ?

החיפוש ב-Entrez נעשה על ידי הזנת מילות חיפוש מתאימות ושימוש בחוקי כתיבה מתאימים, אוסף מילות החיפוש קרויות שאילתה. לדוגמה, כאשר נזין את מילות החיפוש pepsin AND mouse, יתקבלו רשומות המתארות רצפים המקודדים לחלבון פפסין מעכברים.

בפעילות זו אנו מעוניינים למצוא את רצף הגן DperlGL12086 בדרוזופילה.

מסך 3: אופן החיפוש

כעת הזינו את מילות החיפוש בשורת החיפוש בכלי Entrez ולחצו על Search. שימו לב - לעיתים ממשק הכלי משתנה, אך שורת החיפוש נמצאת לרוב מול או תחת החלון בו מצוין סוג מאגר המידע בו מתקיים החיפוש.

3. כמה תוצאות התקבלו?

מסך 4: תוצאות החיפוש

4. איזו תוצאה חיפוש היא המתאימה?

- א. התוצאה הראשונה, כיוון שהיא נותנת רצף של דני"א.
- ב. התוצאה הראשונה, כיוון שהיא נותנת את הרצף הקצר ביותר.
- ג. התוצאה השנייה, כי היא נותנת רצף ארוך המכיל מידע רב.
- ד. התוצאה הראשונה, כי היא נותנת רצף של mRNA.

היכנס לתוצאה הנכונה לדעתך. במידה ותגלול את המסך מטה תגיע לרצף הנוקלאוטידים של הגן.

The screenshot shows the NCBI GenBank entry for *Drosophila persimilis* GL12086 (DperGL12086), mRNA. The accession number is XM_002019634.1. The sequence length is 1740 bp. The page includes a list of authors and a 'More about the DperGL12086 gene' section.

מסך 5: התוצאה הנבחרת.

גן הארכת חיים בזבובי הדרוזופילה

מוטציה של גן שזכה לכינוי המוזר "אני עדיין לא מת" מסוגלת להכפיל את אורך החיים של זבובי פירות. גילוי חדש זה עלול להוביל לפיתוח תרופות שבאמצעותן יוכלו אנשים להאריך את חייהם, ואולי אף להוריד ממשקלם.

חוקרים במרכז לבריאות באוניברסיטת קונקטיקט גילו כי אוורך החיים של זבובי פירות עלה מ-37 ימים בממוצע ל-70 ימים, כאשר הגן שונה בכרומוזום בודד. לדברי הלפנד, המוטציה של הגן פועלת על ידי הגבלת ספיגה של קלוריות ברמה התאית הלפנד טוען כי הדבר יאפשר פיתוח עתיד של תרופה שתוכל הן להאריך חיים והן לשלוט במשקל. "הלפנד אמר כי ממצא חשוב במחקר, הוא שזבובי הפירות לא רק חיו תקופה ארוכה יותר, אלא גם שמרו על רמה חיים גבוהה. ולדעתו, יש סיכוי שניתן יהיה לדחות את תחילת תהליך ההזדקנות. כמה מחקרים שעסקו בהארכת חיים הראו כי בעלי חיים נוטים לאבד חוסן ואנרגיה במהלך חיים ארוכים יותר, אולם לדברי הלפנד, הזבובים שעברו מוטציה שומרים על רמת חיים גבוהה במהלך

חיים ארוכים יותר. גם כש 80-90% מהזבובים הרגילים כבר מתים, מצבם של הזבובים שעברו מוטציה עדיין היה מצוין. לדברי בלנקה רוגינה, שכתבה את המחקר עם הלפנד, נקבות הזבובים שהגנים שלהן עברו מוטציה היו מסוגלות להתרבות לאורך כל חייהן. היתה להן אנרגיה לבצע את תהליך החיזור המורכב של זבובי הפירות, והן הטילו עד 2000 ביצים במהלך חייהן, זאת לעומת כ-1300 ביצים שמסוגלות נקבות הזבובים להטיל בדרך כלל. אם הכוונה היא להאט את חילוף החומרים של בני אדם, מחקר זה מראה שיש דרך לעשות זאת", אמר וורנר. "זה תיאורטי לחלוטין כרגע, אולם זו בהחלט אפשרות."

בפעילות זו נחקר, האם הגן המאריך חיים בדרוזופילה נובע ממוטציה נקודתית בגן הקיים?

5. איזה תכונה נדרשת מכלי שיאפשר למצוא גן מוטנט זה?
 - א. הכלי יזהה חלבונים דומים זה לזה.
 - ב. הכלי ימצא רצפים דומים לרצף התקין.
 - ג. הכלי ישווה רצפים קיימים.
 - ד. הכלי ישווה תכונות של יצורים.

משימה 2- חיפוש ריצפי נוקלאוטידים בעלי דימיון לרצף השאילתה.

בעזרת הכלי BLASTn נחפש במאגרי המידע של רצפי נוקלאוטידים רצפים בעלי דימיון רב שהמידע אודותם נוגע גם לתפקידם הביולוגי. ננתח את התוצאות המתקבלות ונלמד באמצעותן על זחות הגן שבודדנו. אם אכן נמצא רצף הדומה לרצף הנתון, נוכל להסיק שלשני הרצפים המקודדים לחלבון יש פעילות/תפקיד דומה.

מטרת המטלה - זיהוי מוטציה ובירור האם מוטציה זו הינה מוטציה נקודתית.
שלבי הפעולה -

1. נבחר בכלי החיפוש ובמאגר המידע המתאים.
2. נשתמש ברצף חומצות הגרעין שמצאנו כשאילתה לחיפוש במאגר המידע.
3. ניתוח תוצאות.

חיפוש רצפים הומולוגים

ניכנס לאתר הבית של NCBI, על מנת לאתר את כלי החיפוש BLASTn. נלחץ על Resource List (A-Z), בעבר נקרא (Site Map (A-Z)). ראה מסך 6.

NCBI Resource | How To | Sign In to NCBI

NCBI National Center for Biotechnology Information

All Databases Search

NCBI Home
Resource List (A-Z)
All Resources

Chemicals & Biosays
Data & Software
DNA & RNA
Domains & Structures
Genes & Expression
Genetics & Medicine
Genomes & Maps
Homology
Literature
Proteins
Sequence Analysis
Taxonomy
Training & Tutorials
Variation

Welcome to NCBI
The National Center for Biotechnology Information advances science and health by providing access to biomedical and genomic information.

About the NCBI | Mission | Organization | Research | NCBI News

קישור לכלים המסודרים על פי שנותיהם בסדר ה-ABC
Get started. ABC

- Jobs: Analyze data using NCBI software
- Downloads: Get NCBI data or software
- How To: Learn how to accomplish specific tasks at NCBI
- Submissions: Submit data to GenBank or other NCBI databases

NCBI YouTube channel

Learn how to get the most out of NCBI tools and databases with video tutorials on the NCBI YouTube Channel.

GO

1 2 3 4 5 6 7 8

Popular Resources

- PubMed
- Bookshelf
- PubMed Central
- PubMed Health
- BLAST
- Nucleotide
- Genome
- SNP
- Gene
- Protein
- PubChem

NCBI Announcements

Upload and practically compare your own data with NCBI Epigenomes tracks.

Recently, a new 700,000+ Paired-End reads...

SRV-BLAST has been updated with new features and performance enhancements.

SRV-BLAST has implemented a dramatic...

Welcome to the NCBI News site

Learn how to get the most out of NCBI tools and databases with video tutorials on the NCBI YouTube Channel.

Sign In

You are here: NCBI > National Center for Biotechnology Information > Home

GETTING STARTED
NCBI Education
Introduction to the NCBI website

REOURCES
Chemicals & Biosays
Data & Software

POPULAR
PubMed
Bookshelf

FEATURED
Genetic Testing Strategy
PubMed Health

NCBI INFORMATION
About NCBI
Research at NCBI

Sign In to the NCBI

מסך 6- אתר הבית של NCBI

נבחר בקישור (Basic Local Alignment Search Tool) BLAST או בעברית: כלי חיפוש בסיסי באמצעות העמדת רצפים (מסך 7).

NCBI Resource | How To | Sign In to NCBI

NCBI National Center for Biotechnology Information

All Databases Search

NCBI Home
Resource List (A-Z)
All Resources

Chemicals & Biosays
Data & Software
DNA & RNA
Domains & Structures
Genes & Expression
Genetics & Medicine
Genomes & Maps
Homology
Literature
Proteins
Sequence Analysis
Taxonomy
Training & Tutorials
Variation

Site Map

1 A B C D E F G H I J L M N O P R S T U V

Featured items are in bold.

1 **1002 Genomes Browser**

A **Amine Acid Explorer**
ASN 1 Corral Summary
Assembly Archive

B **Basic Local Alignment Search Tool (BLAST)**
BioEdit
BioGenex Scores
BioProject (formerly Genome Project)
BioProject Submissions
BioSample
BioSystems
BLAST (Stand alone)
BLAST Link (BLINK)
BLAST Molecular Clones
BLAST RefSeqGene
BLAST Tutorial and Guides
Bookshelf

קישור אל קישורי הכלים על פי ה-ABC

קישור לכלי החיפוש

מסך 7: רשימת הכלים הביואינפורמטיים ומאגרי המידע המחוזקים על ידי ה-NCBI

לחיצה על הקישור תפתח את הממשק לכלי החיפוש (מסך 8).

NCBI BLAST Home

BLAST finds regions of similarity between biological sequences. [more...](#)

NEW DELTA-BLAST, a more sensitive protein-protein search [Go](#)

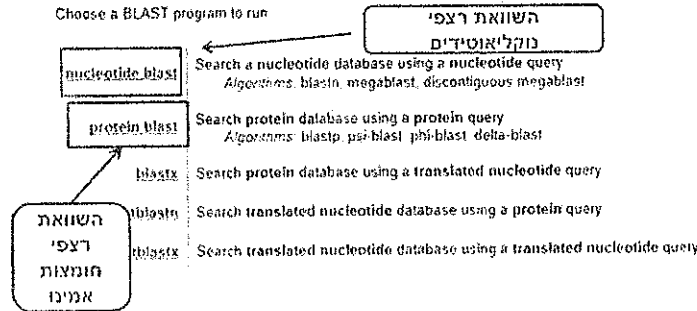
BLAST Assembled RefSeq Genomes

Choose a species genome to search, or list all genomic BLAST databases.

- Human
- Oryza sativa*
- Gallus gallus*
- Mouse
- Bos taurus*
- Pen. troglodytes*
- Rat
- Danio rerio*
- Micococcus*
- Arabidopsis thaliana*
- Drosophila melanogaster*
- Anis. mellifera*

Basic BLAST

Choose a BLAST program to run



מסך 8: ממשק כליי החיפוש BLAST

במסך המתקבל ניתן למצוא מספר כלים להשוואת רצפים nucleotide BLAST (BLASTn) . מאפשר השוואת רצף שאילתה של נוקלאוטידים למאגרים של רצפי נוקלאוטידים protein BLAST (BLASTp) מאפשר השוואת רצף שאילתה של חומצות אמינו למאגרים של רצפי חלבונים.

6. באיזה כלי חיפוש נבחר בפעילותנו ?

- א. BLASTn המשווה רצף שאילתה של נוקלאוטידים למאגרים של רצפי נוקלאוטידים.
- ב. BLASTp המשווה רצף שאילתה של חומצות אמינו למאגרים של רצפי חלבונים.

עתה ביחרו בכלי המתאים על פי תשובתכם. הזינו במקום המתאים את רצף של הגן התקין. קישור לרצף: [Dper|GL12086](#), או מזכירים לכם שלפני הזנת הרצף עליכם להשתמש בסימון fasta (>).

נסמן את המאגר (nr/nt) Nucleotide collection ונבצע את החיפוש על ידי לחיצה על לחצן BLAST בתחתית המסך.

BLAST® Basic Local Alignment Search Tool

NCBI BLAST/ blastn suite

Standard Nucleotide BLAST

Enter Query Sequence

Enter accession number(s), gi(s), or FASTA sequence(s)

Query subrange

From:

To:

Or, upload file

Job Title

Enter a descriptive title for your BLAST search

Align two or more sequences

Choose Search Set

Database: Human genomic + transcript Mouse genomic + transcript Others (nr etc)

Organism:

Optional: Exclude

Exclude: Models (XM/XP) Uncultured/environmental sample sequences

Entrez Query:

Optional: Enter an Entrez query to limit search

Program Selection

Optimize for:

Highly similar sequences (megablast)

More dissimilar sequences (discontiguous megablast)

Somewhat similar sequences (blastn)

Choose a BLAST algorithm

Search database Nucleotide collection (nr/nt) using Megablast (Optimize for highly similar sequences)

Show results in a new window

Algorithm parameters

מסך 9: מסך הכלי BLASTn

ניתוח התוצאות והסקת מסקנות על זהות רצף השאלתה

דף התוצאות מוצג לפנינו. כעת ננתח את התוצאות שהתקבלו.

דף התוצאות המתקבל כולל מספר חלקים. החלק העליון כולל פרטי מידע על החיפוש שבוצע.

התבוננו בחלק העליון של דף תוצאות החיפוש (מסך 10).

BLAST® Basic Local Alignment Search Tool

NCBI BLAST/ blastn suite: Formatting Results - JFGAAB27014

Edit and Repeat: Save Search Strategies | Format as table | Download

Nucleotide Sequence (1743 letters)

Query ID: id155137

Description: None

Molecule type: nucleic acid

Query Length: 1743

Database Name: nr

Description: Nucleotide collection (nr)

Program: BLASTN 2.2.26+ (F.01.06.00)

Other reports: Search Summary [Taxonomy results] [Distance tree of results]

Graphic Summary

מסך 10: דף תוצאות החיפוש - חלק 1: פרטי מידע על החיפוש

7. מה אורכו של רצף השאילתה? (Query)

א. 24991 נוקלאוטידים.

ב. 1032 נוקלאוטידים.

ג. 1743 נוקלאוטידים.

ד. לא ניתן לדעת.

8. מה שם מאגר המידע שבו בוצע החיפוש, ומה סוג המידע המצוי בו?

א. מאגר, nr - מידע - חומצות גרעין.

ב. מאגר, nr - מידע - חומצות אמינו.

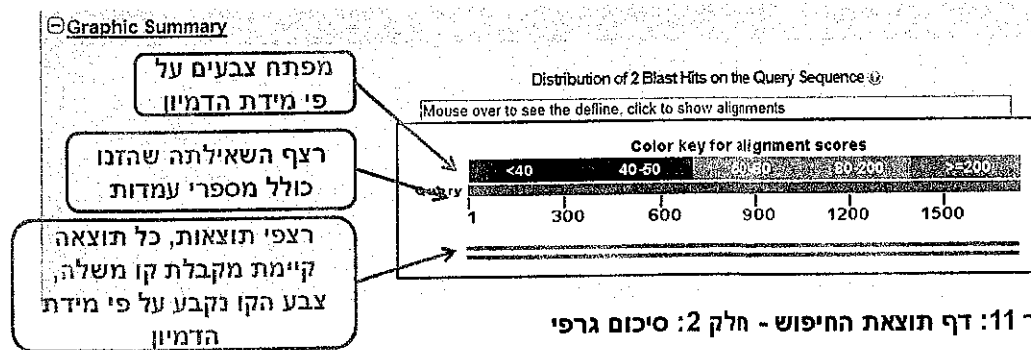
ג. מאגר, pr - מידע - חומצות גרעין.

ד. מאגר, pr - מידע - חומצות אמינו.

לאחר שהתבוננו בנתוני המידע הכללים, ננתח את תוצאות החיפוש ונתבונן ברצפים בעלי דמיון לרצף השאילתה.

סיכום גרפי

החלק השני של דף התוצאות נקרא - Graphic Summary סיכום גרפי (מסך 11). ניתן לראות מפתח צבעים המעיד על מידת הדימיון בין שני הרצפים, צבע אדום מעיד על מידת גבוהה ואילו צבע שחור מעיד על מידת דמיון נמוכה מאוד. מתחת למפתח הדמיון ישנו קו אדום המציג את רצף השאילתה כולל מספרי עמדות ברצף. בחלק התחתון מוצגים הרצפים שעימם נמצא דמיון, כל קו מציג רצף שונה, צבע הקו מעיד על מידת הדמיון על פי מפתח הדמיון.



מסך 11: דף תוצאת החיפוש - חלק 2: סיכום גרפי

9. על סמך ההצגה הגרפית, מהי מידת הדמיון בין רצפי התוצאה שנמצאו לרצף השאלתה והאם רצפי התוצאה דומים לרצף השאלתה לכל אורכו?

א. מידת דמיון רבה מאוד. יש דמיון רב לכל אורכו של רצף השאלתה.

ב. מידת דמיון נמוכה. אין דמיון לכל אורך רצף השאלתה.

ג. מידת דמיון נמוכה. הדמיון ניכר ברוב רצף השאלתה, למעט בסופו.

ד. מידת דמיון רבה. הדמיון ניכר ברוב רצף השאלתה, למעט בתחילתו.

לאחר שלמדנו מן הסיכום הגרפי על מידת הדמיון ואזורי הדמיון בין רצפים במאגר לרצפי השאלתה, ננתח את תוצאות החיפוש ונתבונן ברצפים בעלי דמיון לרצף השאלתה.

תיאור הרשומות

מטרתנו היא למצוא רצף הדומה ביותר לרצף השאלתה. לשם כך נתבונן במידע הנלווה לרצפי התוצאה. החלק השלישי של דף התוצאה נקרא - **Descriptions החלק התיאורי (מסך 12)**. חלק זה כולל טבלה המציגה את קוד הזיהוי של רשומות הרצפים שנמצאו דומות לרצף השאלתה, תיאור קצר של תוכן הרשומה ומדדים שונים הנותנים ציון למידת הדמיון בין רצף השאלתה לרצף התוצאה.

מסך 12: דף תוצאת החיפוש - חלק 3: תיאור רצפי התוצאה

Max score	Total score	Query cover	E value	Max ident	Accession
3219	3219	100%	0.0	100%	XM_002128741.1
3125	3125	100%	0.0	99%	XM_002128741.1

מדד ה **Max score** הוא מדד המראה עד כמה הרשומה שנמצאה במאגר הנתונים דומה לרצף השאלתה. ככל שערך ה **score** גבוה יותר, הרשומה שנמצאה במאגר דומה יותר לרצף השאלתה.

10. הרצף הראשון שמוצג, mRNA, *Drosophila persimilis* GL12086 (Dper\GL12086), הינו בעל מידת הדמיון הגבוהה ביותר. מדוע?

11. איזה רצף מבין שני הרצפים שנבחרו הוא הרצף המוטנט?

השוואת הרצפים

החלק הרביעי של דף התוצאות מציג את השוואות הרצפים (Alignments) בין רצף השאלתה ובין כל אחד מרצפי הרשומות שנמצאו במאגר (מסך 13). ניתן לגלול אל החלק הרביעי בדף התוצאות, או ללחוץ על הקווים האדומים בהצגה הגרפית (חלק שני), או על ציון הדמיון (חלק שלישי) ולהגיע ישירות להעמדת רצף השאלתה מול רצפי התוצאה.

Download GenBank Graphics

Drosophila pseudoobscura pseudoobscura I'm not dead yet 2 (DpsetIndy-2), mRNA
Sequence ID: [ref|XM_002137974.1] Length: 1743 Number of Matches: 1

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
3125 bits(1692)	0.0	1726/1743(99%)	0/1743(0%)	Plus/Plus

מדדים לטיב הדמיון

רצף השאלתה

רצף התוצאה

דוגמאות לעמודות דומות

דוגמאות לעמודות שונות

```

Query 1 ATGGCCGAAACCAATATAACCCAGAGCCAGACGAGAAAATCCCCGTTAAAAGGTGCATGAAA 60
Sbjct 1 ATGGCCGAAACCAATATAACCCAGAGCCAGACGAGAAAATCCCCGTTAAAAGGTGCATGAAA 60
Query 61 AATTGCTGCCCTTACCATTTGAGGGGAAAAGTAACAGTTCTTGTTCCTACTAATACCTTTA 120
Sbjct 61 AATTGCTGCCCTTACCATTTGAGGGGAAAAGTAACAGTTCTTGTTCCTACTAATACCTTTA 120
Query 121 CCATTGCTGCTCCACCGGCTGTCTTACACAAATCCCGGAAATTAATTTGCTTATTTGTTG 120
Sbjct 121 CCAACTACTGCTCCACCGGCTGTCTTACACAAATCCCGGAAATTAATTTGCTTATTTGTTG 160
Query 181 GTCAATATGGCCATCTTTTGGATTAACCGAGGCCATTCCTCTATACTTGACATCGCTAATG 240
Sbjct 181 GTCAATATGGCCATCTTTTGGATTAACCGAGGCCATTCCTCTATACTTGACATCGCTAATG 240
Query 241 CCATTCATGTTTTCCTCAT ATGTCACCCAGCACTAC 300
Sbjct 241 CCATTCATGTTTTCCTCAT ATGTCACCCAGCACTAC 300
Query 301 TTCTCCGGACTGTGTGTATGTTCTATGCGCGCCCTAGTCTGTTCCTATGCGCCATCGATAC 360
Sbjct 301 TTCTCCGGACTGTGTGTATGTTCTATGCGCGCCCTAGTCTGTTCCTATGCGCCATCGATAC 360
Query 361 TGCRAATCTTCATCAACGGATTGCCCCG 420
Sbjct 361 TGCRAATCTTCATCAACGGATTGCCCCG 420
Query 421 CGTTTGCCTCCCGGCATGATGATGTTTGTAGTTCTTTTATGAGCTTATGATATCGAATTCG 480
Sbjct 421 CGTTTGCCTCCCGGCATGATGATGTTTGTAGTTCTTTTATGAGCTTATGATATCGAATTCG 480
Query 481 GCGGGAACGGCCATGATGTTGCCCATTTGTAAGGCGAGTGCCTTAATGAAATGSAATTCGAG 540
Sbjct 481 GCGGGAACGGCCATGATGTTGCCCATTTGTAAGGCGAGTGCCTTAATGAAATGSAATTCGAG 540
Query 541 AAAATCTTTGATGENTACATGACCCAAAGAGGAGGAAACACATGGAGGAGGGCCAGCCCCCG 600
Sbjct 541 AAAATCTTTGATGENTACATGACCCAAAGAGGAGGAAACACATGGAGGAGGGCCAGCCCCCG 600
Query 601 CACCTGTCAAAGGTGGCCATGTCCTTCTACTTTGGCGTTGCCATATCGGCCACTGTGGGC 660
Sbjct 601 CACCTGTCAAAGGTGGCCATGTCCTTCTACTTTGGCGTTGCCATATCGGCCACTGTGGGC 660
Query 661 GGGTGTGGCACCCCTGATTTGGCACCGGCAAAATCTGCTCTTAAAGGATATATGAAACA 720
Sbjct 661 GGGTGTGGCACCCCTGATTTGGCACCGGCAAAATCTGCTCTTAAAGGATATATGAAACA 720
Query 721 ACCCTTCCCTCATCCAAGGAGGAGGTCAATTTCCCGCTTTTTCATGCGCCATATCGAATTCG 780
Sbjct 721 ACCCTTCCCTCATCCAAGGAGGAGGTCAATTTCCCGCTTTTTCATGCGCCATATCGAATTCG 780
    
```

מסך 13: דף תוצאת החיפוש - חלק 4: השוואות הרצפים

מקרא להשוואת נוקליאוטידים:

(ו) נוקליאוטידים זהים.

(-) חוסר של נוקליאוטיד ברצף.

(רווח) - נוקליאוטידים שונים.

12. על סמך המדדים, כמה נוקליאוטידים התחלפו ברצף המוטנט?

א. 17

ב. 19

ג. 23

ד. 1

13. בפעילות זו רצינו לחקור, האם הגן המאריך חיים בדרוזופילה נובע ממוטציה נקודתית בגן הקיים? מה דעתך האם המוטציה היא נקודתית או לא? הסבר.

14. לא כל מוטציה נקודתית מסוג של החלפת בסיס גורמת לשינוי בתפקוד החלבון. ציינו שתי סיבות אפשריות לכך.

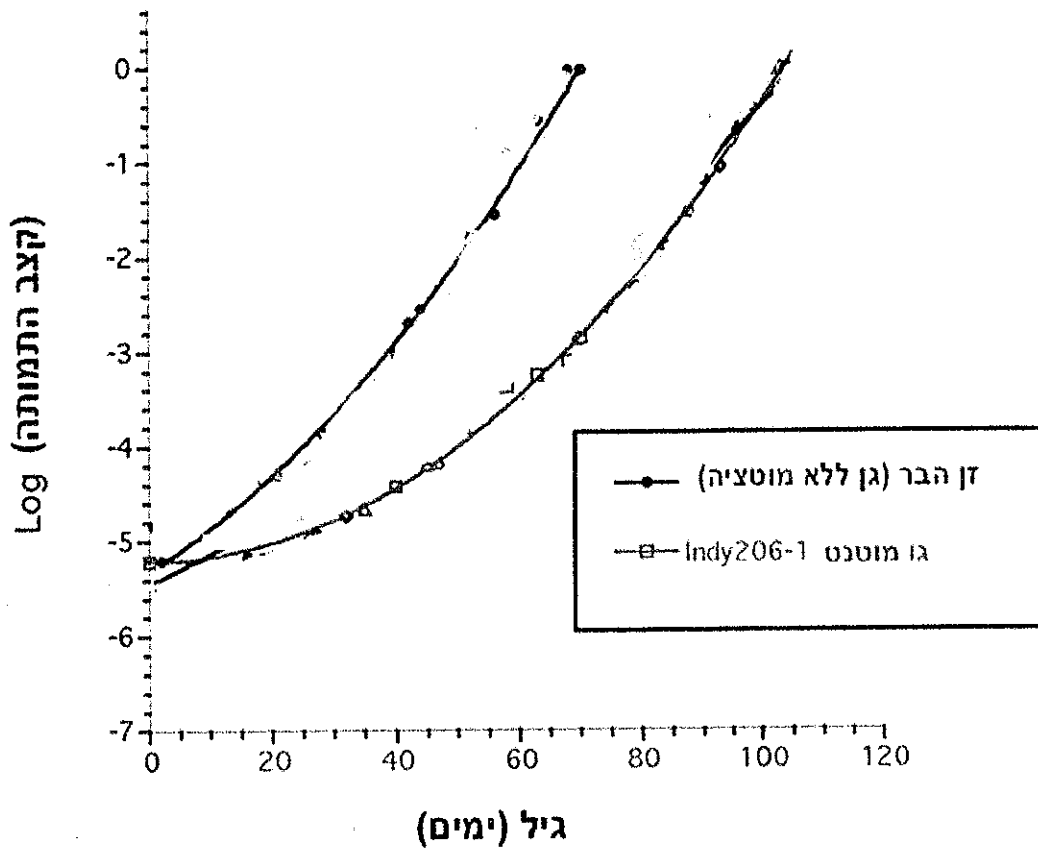
15. מחלת סיסטיק פיברוזיס היא מחלה גנטית שהגורם לה הוא חלבון פגום המתפקד כתעלה בתאי האפיתל בדרכי הנשימה ובעוד תאים. אצל שני חולים במחלת CF אותרה מוטציה נקודתית בגן המקודד לחלבון, שגרמה להחלפת חומצה אמינית אחת בחלבון, אך מיקום המוטציה בגן שונה אצל שני החולים. יש הבדל בחומרת המחלה: אצל חולה אחד המחלה תמורה ואצל האחר קלה יותר.

שערו מה הגורם לשוני בחומרת המחלה.

16. אצל חולי אנמיה חרמשית נוצר המוגלובין בלתי תקין, שבאחד ממרכיביו (שרשרת בטא), התחלפה החומצה האמינית גלוטמית בחומצה האמינית ולין.

שערו איזה סוג מוטציה גרם לליקוי זה?

גרף 1 - קצב תמותת זני דרוזופילה שונים



©2003 by National Academy of Sciences Marden J H et al. PNAS 2003;100:3369-3373

17. ענה על שני הסעיפים הבאים:

א. על פי הגרף המצורף: איזה מהזנים חי זמן ארוך יותר? הסבר.

ב. מהו הבסיס הביולוגי שגורם לזן שבתרת בסיעיף הקודם להיות בעל תוחלת חיים ארוכה יותר?

סיכום-

בפעילות זו השתמשנו במנוע החיפוש Entrez על מנת לחפש במאגר מידע לנוקלאוטידים את רצף הגן **Dpse\GL12086** המקודד למשאבת נטרן פעילה בקרום התא ולאחר מכן השתמשנו בכלי הביואינפורמטי **BLASTn** על מנת להשוות בין הגן התקין לגן המוטנט **Dpse\Indy-2**, המקנה לדרוזופילה חיים ארוכים יותר. מצאנו כי הגנים הללו דומים מאד זה לזה, אך עם זאת, יש בגן **Dpse\Indy-2**, 17 מוטציות נקודתיות. מעניין יהיה למצוא האם כל המוטציות הנ"ל באות לידי ביטוי בחלבון? מה מיקום המוטציות ולאילו שינויים בחלבון הן גורמות. את כל זה נצטרך לעשות

בעתיד עם כלים ביואינפורמטיים אחרים, המיועדים לחקר חלבונים. כמו כן בעתיד ניתן יהיה לחפש גנים דומים ביצורים אחרים, ולבדוק האם גם בהם יש אללים המקנים אריכות ימים. בבליוגרפיה-

ריסר, פ'. (2000). האם בני אדם יזכו לחיות 150 שנה? הידען. אוחזר מתוך <http://www.hayadan.org.il/will-human-live-150-years-311200/>

Marden. J', Rogina. B', Montooth. K', Helfand. S'. (2003). "Conditional tradeoffs between aging and organismal performance of Indy long-lived mutant flies." *PNAS* 100(6):3369-3373.

<http://www.pnas.org/content/100/6/3369.long>

נספח 1- רצף נוקליאוטידים של הגן התקין.

Dper\GL12086

```
atggccgaaccaaataaaccagagccagacgagaaaatccccggtaaaagggtgcatgaaaaattgctgc
ctttaccattggaggggaaaagtaacagttcttgttccaactaatactttaccattgctgggtccacggc
tgtcttacacaatcgccggaaattattgcttgtatttgggtcaatattggccatcttttgataacc
gaggccattcctctatacttgacatcgctaatgccaatcatgtatttggcatttgctaactatttgagc
tccgatgatgtgaccaagcactacttctccgggactgtgggtgatgttctatggcggcctagtcggtgca
ttggccatcgaatactgcaatcttcatcaacggattgcccctgcgaacgatcatcattgtgggctgcagt
cccaggcgtttgctcgccggcatgatgatgggttagttctttatgagcttatggatcgaattcggcg
ggaacggccatgatgtgccccattgtaaaggcagtgcttaatgaaatggattctgagaaaatctttgat
gtatacatgaccaagaggaggaacacatggaggagggcgagccccgcacctgtcaaagggtggccatg
tccttctactttggcgttgcctattcggccactgtggcggggtgtggcaccctgattggcaccggcaca
aatctgggtctttaagggtatataatgaaacaaccttccctcatccaaggaggagggtcagtttcccgctt
ttcatggcctattcgattcogcttgttgtgatecgtctcatgattaccatgtaactaagcctcctgctc
accacatggctctctttcgatcagggagcaagtcggggcaggctctgaaacaggccaccaggaataag
gaccaagtgagaccgtcctgcgcggccgcctcgaggctctgggtcccatgagctgtcatgaaattcag
gtgggtatcatattcacattgatgattgtattgctcttaccogcaagccggcgcttttacgggctgg
agttcccttcttagtgccatgctgttggaaacatcctcaacggtttgtatttgtgattttactgttc
gcattgcccactcagtacacattcttcaaatattgctgtggcaaggctcctttcccgggtcaaaccatc
gattctctattgtcgtgggaattcttgcacgtgactgcccgtgggactctgctttctcttgggtgggt
ggctttgctttggccgaggcctgtaaagtgagcggagtgaccaaataattgccaaggccatgtcgggt
atccagggtattgcccagtcgactgggtgctgctgttgatactgatgttccactgttctgctccgccttc
acttcgaacgtgggtgggtggccaacattgtcttaccatttactgtgaattggcgtttcaccctggaagaa
catcctctgctgggtcactctgcccccaaccctgatcacaagtttgggtatttctggtgccagtgagcact
ccaacaaatgccatcatttgtggctacggtaacatcaagaccaaatatttgataaaagctggcttattg
cccacattctggggactcttttgggtctatctgaatagcgtcacttggggaatgggtgtctttcccga
atgtcttccctccagactgggccaaggaatacaaaaacaagaccaagctggtattctggttagataac
attccggctctttaattaa
```

לחזרה להמשך הפעילות

נספח 2- דף תשובות

1. סוג המוטציה בה הסיכוי לקבלת חלבון פעיל יהיה הגדול ביותר היא:

ג. מוטציה של החלפת נוקלאוטיד.

2. סוג מאגר המידע בו נשתמש הוא :
- ב. Nucleotide (נוקליאוטיד).
3. התקבלו 3 תוצאות.
4. תוצאת החיפוש המתאימה היא :
- א. התוצאה הראשונה, כי היא נותנת רצף של mRNA.
5. התכונה הנדרשת מכלי שיאפשר למצוא גן מוטנט זה היא :
- ב. הכלי ימצא רצפים דומים לרצף התקין.
6. א. נבחר בכלי BLASTn המשווה רצף שאילתה של נוקלאוטידים למאגרים של רצפי נוקלאוטידים.
7. אורכו של רצף השאילתה הוא :
- ג. 1743 נוקלאוטידים.
8. שם מאגר המידע שבו בוצע החיפוש, וסוג המידע המצוי בו הוא :
- א. מאגר, nr - מידע - חומצות גרעין.
9. מידת הדמיון בין רצפי התוצאה שנמצאו לרצף השאילתה הוא :
- א. מידת דמיון רבה מאוד. יש דמיון רב לכל אורכו של רצף השאילתה.
10. הרצף הראשון שהוצג הוא בעל מידת הדמיון הגבוהה ביותר כי הוא הרצף של הגן המקורי (התקין)
11. הרצף השני הוא הרצף של המוטנט.
12. ברצף המוטנט התחלפו :
- א. 17 נוקלאוטידים
13. ברצף זה התרחשו כמה מוטציות נקודתיות (כולן של החלפת בסיס), לדבר זה יכולים להיות כמה הסברים :
- א. חלק מהמוטציות ברצף לא גרמו לשינוי בחומצה אמינית בחלבון, בגלל ניוון הקוד הגנטי.
- ב. בחלק מהמקרים התחלפו חומצות אמינו מאד דומות בתכונותיהן ולא נגרם שינוי לפעילות החלבון.
- ג. חלק מהמוטציות, למרות היותן מרוחקות זו מזו על גבי ה DNA, מהוות חלק מאותו אתר פעיל בגלל המבנה המרחבי של החלבון, ולכן ביחד הן מקנות את השינוי בפעילות החלבון.

על מנת לדעת, מה גרמו המוטציות יש לחקור בהמשך את החלבונים, מבנהם ואיזורים משותפים ושונים, בעזרת כלים להשוואה בין חלבונים כמו ה - blast p או prosite.

14. לא כל מוטציה נקודתית תגרום לשינוי בתפקוד החלבון מהסיבות:
 - א. חלק מהמוטציות ברצף לא גורמות לשינוי בחומצה אמינית בחלבון, בגלל ניוון הקוד הגנטי.
 - ב. בחלק מהמקרים מתחלפות חומצות אמינו מאד דומות בתכונותיהן ולא נגרם שינוי לפעילות החלבון.
15. אם החומצה האמינית שהתחלפה עקב המוטציה היא באתר הפעיל של החלבון, יש סיכוי רב יותר שפעילות החלבון תיפגע ודרגת החומרה של המחלה תהיה גדולה יותר. אם החומצה האמינית אינה באתר הפעיל ואינה משפיעה על מבנהו המרתיבי, ייתכן שפעילות החלבון תיפגע במידה מועטה בלבד.
16. מוטציה נקודתית של החלפת בסיס. הקודון שבו נכלל הבסיס שהוחלף מקודד לחומצה האמינית ולכן במקום לחומצה גלוטמית.
17. תשובות:
 - א. הגן המוטנט, ניתן לראות שקצב עליית הגרף הירוק נמוך יותר. על כן גיל התמותה מאוחר יותר.
 - ב. תוחלת החיים של הזן המוטנט ארוכה יותר זאת מכיוון שהמוטציה מקנה לו תכונה זו.