

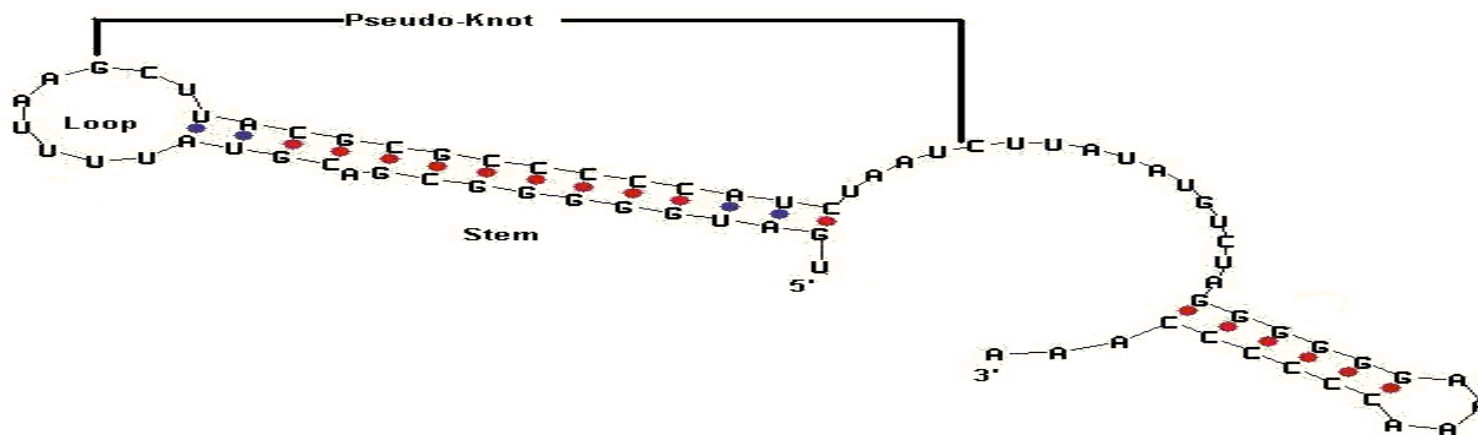
Анализа РНК секвенци

Циљеви часа

- Преглед структуре РНК молекула
- Како да биоинформатички предвидите структуру РНК молекула
- Претрага база ДНК база за РНК молекулом са датом структуром

Секундарна структура РНК

- РНК се састоји од А, Г, С, У
 - Ови молекули су једноланчани
 - Али могу имати секундарну структуру
- Типична секундарна структура је укосница (hairpin).
- Укоснице се састоје од stem-а и loop-а.



Предвиђање секундарне структуре РНК

- Биоинформатичко предвиђање секундарне структуре РНК је праволинијско.
- Тачност (и брзина предвиђања) у великој мери зависи од дужине РНК молекула за који се предвиђа секундарна структура.
- Предвиђања су тим тачнија (и бржа) што је мања дужина РНК молекула (генерално, секундарна структура се тешко предвиђа за молекуле дуже од 500bp), оптимално је да дужина РНК буде краћа од 300bp.

Предвиђање секундарне структура РНК

- Најчешће коришћени алат је MFOLD
- Сервер предвиђа најстабилнију секундарну структуру
 - односно структуру са минималном Гибсовом слободном енергијом
- MFOLD даје и субоптималне структуре
 - корисно да се процени робусност предвиђања

Наметање ограничења

- Ако имате познату структуру, можете да је наметнете као ограничење у Mfold-у
- нпр. ограничење може да произађе из експеримента

Enter **constraint information** in the box at the right. (optional) You may:


1. force bases $i, i+1, \dots, i+k-1$ to be double stranded by entering:
 $F \ i \ 0 \ k$ on 1 line in the constraint box.
2. force consecutive base pairs $i, j, i+1, j-1, \dots, i+k-1, j-k+1$ by entering:
 $F \ i \ j \ k$ on 1 line in the constraint box.
3. force bases $i, i+1, \dots, i+k-1$ to be single stranded by entering:
 $P \ i \ 0 \ k$ on 1 line in the constraint box.
4. prohibit the consecutive base pairs $i, j, i+1, j-1, \dots, i+k-1, j-k+1$ by entering:
 $P \ i \ j \ k$ on 1 line in the constraint box.
5. prohibit bases i to j from pairing with bases k to l by entering:
 $P \ i-j \ k-l$ on 1 line in the constraint box.

The RNA sequence is .

Folding temperature is fixed at 37°.

Ionic conditions: 1M NaCl, no divalent ions.

Enter the *percent suboptimality* number.



- конкретно, ограничење које је укуцано у прозору изнад (F, 10, 22, 3), даје да базе 10,11,12 морају да буду упарене са базама 22, 21, 20 респективно.

Пример 1

- Искористите MFOLD да предвидите секундарну структуру за:

>Homo_sapiens_nmt-tRNA-Gln-CTG-1-1

TGGTGTAATAGGTTAGCACAGAGAATTCTGGATTTC

TCAGGGGTAGGTTCAATTCCTAT

Напомене:

- користите default параметре
- секундарну структуру можете видети под **View individual structures**, ако кликнете на неки од сликовних формата (нпр. jpg)
- Заједно са секундарном структуром имате наведену и енергију folding-а. Што нижа (негативнија) енергија то стабилнија (боља) структура.

Пример 2

- Искористите MFOLD да предвидите секундарну структуру за секвенцу дату испод, под ограничењем да нуклеотиди 3,4,и 5, интерагују са нуклеотидима 17,16,15:
- 2) >Escherichia_coli_str_K-12_substr_MG1655_tRNA-Ile-GAT-1-1
AGGCTTGTAGCTCAGGTGGTtAGAGCGCACCCCTGA
TAAGGGTGAGGtCGGTGGTTCAAG

Упутство: у прозору за ограничења треба да се унесе F 3 17 3 (види претходни слајд), остали параметри остају по defolt-у.

Задатак вежбе 1

- Искористите MFOLD да предвидите секундарну структуру за:

>Mus_musculus_tRNA-Ala-AGC-1-1

```
GGGGGTGTAGCTCAGTGGTAGAGCGCGTGCTTA  
GCATGCACGAGGcCCTGGGTTCGATCC  
CCAGCACCTCCA
```

Задатак вежбе 2

- Искористите MFOLD да предвидите секундарну структуру за секвенцу дату испод, под ограничењем да нуклеотиди 10,11,12,13 интерагују са нуклеотидима 25,24,23,22:
- 2) >Drosophila_melanogaster_tRNA-Arg-TCT-2-1
GACCSTTTAGCGCATTGGAtAGCGCGTGGACTTCTA
ATCCAAAGGTGGCGGGTTCGATT
CCCGCAAGGGTTG

Задатак вежбе 3

- **nN7** MRTGNAN (ORF 24 nt, mRNA 108 nt, DNA 127 bp)

GUGAAUUAUCACAGUAAUAGGAGGGUCGACAUGCGUACUGGUAAUGC
AAACUAAUGGCAAAAUUAAAUGUCCAUAAAUGCCACCCUGUACAGG
GUGGCAUACAAA

Предвидите секундарну структуру за ову иРНК.

Дискусија: Ова иРНК кодира кратки полипептид који одговара микроцину С (грубо речено, нека врста антибиотика). Start codon AUG се налази око позиције 30 у овој секвенци. Ако се старт кодон (или његов део) налази у оквиру укоснице, транслација је тада типично спора (неефикасна), због тежег везивања рибозома.

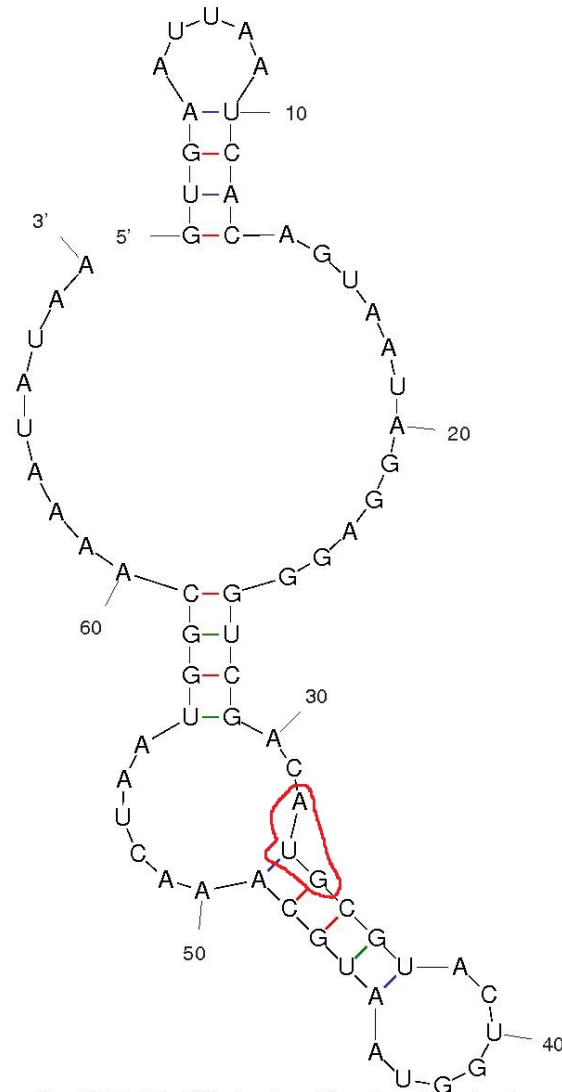
Питање: Шта очекујете по питању ефикасности транслације микроцина С?

Напомена: Урадите задатак прво сами, а затим упоредите са решењем на наредном слајду, где је у секундарној структури означена позиција AUG.

Део решења, задатак 3 вежбе

Output of `sr_graph` (8)
mfold_vml 4.7

Created Tue Oct 18 05:15:43 2016



dG = -7.80 [Initially -7.80] microcine_nN7_upstream_35_reduced