

Bazy danych RNA

Protokół należy przesłać na adres: marianna.plucinska@amu.edu.pl najpóźniej dzień przed kolejnymi zajęciami. w tytule maila proszę podać Imię, Nazwisko, oraz datę zajęć których dotyczy protokół.

Ćw.1 Rfam

1. Wejdź do bazy danych Rfam: <http://rfam.xfam.org/>
2. Wyszukaj rodzinę RNA: U1 (identyfikator RFAM: RF00003)
3. Znajdź i zapisz do protokołu następujące informacje:
 - a. z jakimi białkami oddziałuje helisa II a z jakimi III i IV?
 - b. ile sekwencji zawiera rodzina?
 - c. w ilu gatunkach zidentyfikowano U1?
 - d. Jakie motywy sekwencyjne/strukturalne znaleziono w U1?
 - e. czy są znane struktury trzeciorzędowe dla przedstawicieli tej rodziny? Jeśli tak, to ile?
4. Wejdź na stronę FTP bazy RFAM i zapisz do protokołu jakiego typu dane można pobrać w ten sposób z bazy RFAM

Ćw. 2 Genomic tRNA database: GtRNAdb

1. Przejdź do strony GtRNAdb: <http://gtrnadb.ucsc.edu/>
2. Przejdź do genomu człowieka
3. Wypisz do protokołu następujące informacje:
 - a. ile genów tRNA jest kodowanych w genomie człowieka?
 - b. ile z nich zawiera introny?
 - c. jaki tRNA (dla jakiego aminokwasu i z jakim antykodonem) występuje w największej liczbie kopii w genomie człowieka?
 - d. czy poszczególne geny dla tych samych tRNA mają identyczną sekwencję (zakładka Alignments)?
4. Znajdź sposób na uzyskanie sekwencji dojrzałych tRNA (bez intronów). Wklej do protokołu dojrzałe sekwencje tRNA które zawierały introny i opisz sposób w jaki je uzyskałaś/eś.
5. Przejdź na stronę programu tRNAscan-SE <http://lowelab.ucsc.edu/tRNAscan-SE/>
6. W bazie Nucleotide NCBI znajdź genom Mycobacterium tuberculosis i pobierz w formacie FASTA
7. Za pomocą tRNAscan-SE zidentyfikuj tRNA w genomie Mycobacterium tuberculosis.
8. Ile genów kodujących tRNA odnaleziono?
9. Zapisz do protokołu strukturę leucynowego tRNA z antykodonem CAG.
10. Czy w bazie gtRNAdb znajduje się identyczne tRNA?

Ćw. 3 Comparative RNA Web Site (CRW)

1. Wejdź na stronę Comparative RNA Web Site (CRW): <http://www.rna.cccb.utexas.edu/>
2. Przejdź do zakładki DAT -> Indices of Metadata -> Index of current RNA sequences and structures
3. Zapisz do protokołu, jakie cząsteczki pochodzące z ssaków są dostępne w bazie. Zapisz po ile sekwencji i struktur drugorzędowych dla każdej z cząsteczek jest dostępnych.
4. Kliknij na link do liczby struktur 16S rRNA z ssaków. Zapisz do protokołu dla jakich organizmów są dostępne struktury. W jakich formatach można zapisać strukturę drugorzędową? Opisz dostępne formaty.
5. Przejdź do zakładki SAE -> Evolution of RNA -> RNA conservation diagrams

- Wyświetl diagram zachowawczości ewolucyjnej 16S rRNA u wszystkich organizmów żywych. Opowiedz do protokołu na pytanie: czy rejony o wysokiej zachowawczości obejmują ograniczony rejon 16S rRNA, czy też występują na wzdłuż całej cząsteczki?

Ćw. 4 miRBase

- Wejdź na stronę główną bazy miRBase: <http://www.mirbase.org/>
- Przejdź do zakładki Browse i wyszukaj organizm człowieka. Zapisz do protokołu ile miRNA człowieka jest zdeponowanych w bazie? Ile z nich posiada status wysokiej wiarygodności?
- Wyszukaj miRNA hsa-mir-125a. Wejdź na kartę opisu. Zapisz do protokołu, czy podstawową jednostką w bazie jest prekursor miRNA, czy dojrzały miRNA?
- Zapisz do protokołu, jakiego typu dowody eksperymentalne potwierdzają istnienie dojrzałych miRNA-125a
- Cofnij się do listy ludzkich miRNA. Zaznacz wszystkie geny miRNA-125 (a oraz b) i pobierz dla nich alignment dojrzałych cząsteczek w formacie fasta. Wykonaj porównanie sekwencji programem MAFT (<http://mafft.cbrc.jp/alignment/server/>) osobno dla cząsteczek pochodzących z 5' oraz 3' ramienia prekursora. Zapisz do protokołu czy sekwencje dojrzałych miRNA pochodzących z 5' ramienia prekursora są identyczne? Czy identyczny jest rejon seed (pozycje 2-6)? Czy taka sama sytuacja jest obserwowana dla miRNA pochodzących z ramienia 3' prekursora?
- Przejdź do działu pobierania (Download). Pobierz plik miRNA.dat. Przeanalizuj plik i odpowiedz do protokołu na pytania:
 - ile prekursorów miRNA zawiera baza miRBase
 - dla ilu dojrzałych miRNA została potwierdzona ich asocjacja z białkami Argonaut za pomocą techniki CLIP-seq?
 - dla ilu dojrzałych miRNA została potwierdzona ich ekspresja za pomocą techniki głębokiego sekwencjonowania (Illumina lub 454 lub SOLID)?

Ćw. 5 NONCODE

- Przejdź na stronę główną bazy NONCODE: <http://www.noncode.org/>
- Wyszukaj gen ncRNA NONHSAG000195.3
- Zapisz do protokołu:
 - ile transkryptów posiada ten gen?
 - w której tkance ulega najwyższej ekspresji?
 - Czy jest zachowawczy filogenetycznie?

Ćw. 6 RNAcentral

- Wejdź na stronę główną RNAcentral: <http://rnacentral.org/>
- Przejdź do sekcji wyszukiwania tekstowego i wyświetl wskazówki dotyczące konstrukcji składni w wyszukiwaniu zaawansowanym. Korzystając ze zdobytych informacji wyszukaj i zapisz do protokołu:
 - identyfikator RefSeq dla ncRNA: braveheart lncRNA
 - identyfikatory RNAcentral dla lncRNA zidentyfikowanych w publikacji: IMayo S, Monfort S, Roselló M, Oltra S, Orellana C, Martínez F. In Pursuit of New Imprinting Syndromes by Epimutation Screening in Idiopathic Neurodevelopmental Disorder Patients. Biomed Res Int. 2015;2015:341986. doi: 10.1155/2015/341986. Epub 2015 May 27. PubMed PMID: 26106604
 - identyfikatory RNAcentral dla sekwencji rRNA człowieka dla których znana jest eksperymentalnie potwierdzona struktura 3D.