**Σχέδιο Εργασίας Φοιτητών/ιών στο Εργαστήριο**

**«ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΣΤΗΝ ΒΙΟΠΛΗΡΟΦΟΡΙΚΗ»**

**Δομή εργασίας**

1. *Διαλέξατε ένα γονίδιο του ανθρώπου με το οποίο θα ασχοληθείτε στην εργασία σας. Απαραίτητη προϋπόθεση για την επιλογή του γονιδίου είναι, να έχετε βεβαιωθεί από την Τράπεζα* ***OMIM*** *(NCBI), ότι έχει βρεθεί μία τουλάχιστον* ***σημειακή μετάλλαξη*** *στο γονίδιο αυτό, η οποία οδηγεί σε* ***αλλαγή ενός αμινοξέως****, και σε έναν παθολογικό φαινότυπο.*
2. Γράψατε το όνομα του γονιδίου, τη φυσιολογική λειτουργία της πρωτεΐνης που εκφράζει και με ποιες ασθένειες συνδέεται η δυσλειτουργία της **NCBI->OMIM, NCBI-> PUBMED**
3. Αναφέρατε από τη βιβλιογραφία **μια** **σημειακή μετάλλαξη** που έχει βρεθεί στο γονίδιο και οδηγεί σε αλλαγή ενός αμινοξέως. Με ποιά/ές ασθένεια/ιες σχετίζεται αυτή η αλλαγή; **OMIM🡪 (genotype-phenotype).**
4. Σε ποιο χρωμόσωμα και γενετικό τόπο ανήκει το γονίδιο και πόσα εξόνια (exons) περιλαμβάνει. **NCBI -> OMIM, NCBI-> GENE**
5. Ποιος είναι ο χάρτης περιοριστικών ενδονουκλεασών του cDNA(mRNA) του γονιδίου σας; **CUTTER2 (**[**http://nc2.neb.com/NEBcutter2**](http://nc2.neb.com/NEBcutter2)**)**
6. Γράψατε την αμινοξική αλληλουχία της πρωτεΐνης του γονιδίου που επιλέξατε. από το πρόγραμμα **EXPASY-> PROTPARAM**.. Πόσα αμινοξέα έχει; Ποιο είναι το μοριακό της βάρος; Ποιο είναι το ισοηλεκτρικό της σημείο;
7. Ποιος είναι ο τόπος παρουσίας-λειτουργίας της πρωτεΐνης (π.χ πυρηνική, εξωκυττάρια, κλπ)**, SOFTBERRY🡪PROTEIN LOCATION🡪PROTCOMP (ANIMAL)**
8. Ποιες λειτουργικές περιοχές περιλαμβάνει η πρωτεΐνη; **EXPASY->** **SMART**
9. Ποιες είναι οι μετα-μεταφραστικές της τροποποιήσεις (Ν-γλυκοζυλίωση και φωσφορυλίωση); **EXPASY-> NETNGLYC, EXPASY-> NETPHOS**
10. Ποιά είναι η προτεινόμενη δευτεροταγής δομή της φυσιολογικής πρωτεΐνης και ποια της μεταλλαγμένης; Συγκρίνατε και σχολιάσατε. **SOFTBERRY🡪PROTEIN STRUCTURE🡪 PSSFINDER**
11. Συγκρίνατε την αμινοξική αλληλουχία της πρωτεΐνης, του ανθρώπινου γονιδίου που επιλέξατε, με τις ορθόλογες πρωτεΐνες του ***Xenopus tropicalis*** (βάτραχος) και ***Danio rerio*** (ιχθύς). Αν δεν υπάρχουν στις τράπεζες δεδομένων οι παραπάνω ορθόλογες πρωτεΐνες, εναλλακτικά χρησιμοποιείστε τις ορθόλογες πρωτεΐνες των οργανισμών, ***Mus musculus*** (ποντικός) ή ***Rattus norvegicus*** (αρουραίος).

Πολλαπλή στοίχιση με το πρόγραμμα **CLUSTAL OMEGA (**οι **αμινοξικές** αλληλουχίες **σε μορφή FASTA , προσθήκη του συμβόλου > πριν από το όνομα κάθε αλληλουχίας).** Στη θέση του αμινοξέως που άλλαξε (ερώτηση 11), ποια είναι τα αντίστοιχα αμινοξέα στις ορθόλογες πρωτεΐνες των δύο αυτών οργανισμών που χρησιμοποιήσατε; **Σχολιάσατε** εκτενώς.

1. **Σχόλια και Συμπεράσματα**, για την σημαντικότητα της μετάλλαξης στην εμφάνιση της νόσου, και την συσχέτισή της με την αλλαγή της δομής και της λειτουργίας της συγκεκριμένης πρωτεΐνης που επιλέξατε στην εργασία σας.

Στο link [aminoacid\_and\_substitutions.pdf (wordpress.com)](https://biokamikazi.files.wordpress.com/2013/06/aminoacid_and_substitutions.pdf) θα βρείτε πληροφορίες για τις ιδιότητες των αμινοξέων και τις υποκαταστάσεις τους στις οποίες θα αναφερθείτε για να συνδέσετε τη συγκεκριμένη μετάλλαξη με τυχόν αλλαγή στη δομή και λειτουργία της πρωτεΐνης. Επιπλέον, θα εφαρμόσετε τα προγράμματα των ερωτήσεων **8** και **9** και στη μεταλλαγμένη αλληλουχία και θα συγκρίνετε με τα αποτελέσματα της φυσιολογικής. **Σχολιάσατε** ανάλογα (π.χ. αν επηρεάζει η μετάλλαξη τις μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις της πρωτεΐνης στην επίμαχη περιοχή, ή αν η μετάλλαξη εντοπίζεται μέσα σε λειτουργική περιοχή).