

Släktskapsstudier

Idag skall du jämföra genetiskt material mellan olika organismer och på så sätt uppskatta deras eventuella släktskap. Laborationen bygger på följande antagande: Likheten i en gen (t ex genen för cytokrom c) mellan olika organismer speglar deras släktskap. Detta baseras på att antalet mutationer är fler ju längre tid det har förflutit mellan det att organismerna skildes åt evolutionärt. Se nedanstående figur som visar en gen med följande nukleotidsekvens:

Art 1 AAAAATTTTCCCTTTCCCTTTCCCAAGGGTTTT

Art 2 AAAAATT**A**TCCCTTTCCCTTTCCCA**A**CGGGTTTT (2mutationer, fet stil)

Art 3 AA**A**GGTTTTCCCTT**G**CCCTT**T**CA**A**AGGGTTTT (4 mutationer, fet stil)

Utifrån ovanstående resonemang tolkas sekvenserna som om: art 1 och 2 är närmare släkt med varandra än vad de är med art 3.

Hämta nukleotidsekvenser

Du skall hämta genen för proteinet cytokrom c (Proteinet består av flera olika delar, du skall titta närmare på en av de här delarna, subenhet 4). Cytokrom c finns hos alla(?) organismer och används i elektrontransportkedjan vid cellandningen. Eftersom proteinet finns hos alla(?) organismer används det ofta för släktskapsstudier.

Gå in på: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>

- 1) Skriv in **NM_001861** i sökrutan (Search GenBank for) och tryck sedan på "go".
- 2) När resultatet kommer upp trycker du på trycker du på "Nucleotide: sequence database". Tryck sedan på texten **NM_001861**. Nu bör du fått upp en sida med en hel del information på. T ex kan du läsa att detta är ett prov från en människa, Homo sapiens, och att det handlar om Cytochrome c subunit IV.
- 3) Gå upp till gardinen som det står "GenBank" på och ändra till "FASTA", tryck sedan på "Display". När du gjort detta borde nedanstående text bli synlig.

NM_001861. Homo sapiens cyto...[gi:17017985]

OMIM, Protein, PubMed, Taxonomy,

LinkOut

```
>gi|17017985|ref|NM_001861.2| Homo sapiens cytochrome c oxidase subunit IV (COX4), nuclear gene encoding mitochondrial protein, mRNA
CGACGTTTCGACGCGCTACCCTTTTCCGCTCCACGGTGACCTCCGTGCGGCCGGGTGCGGGCGG
AGTCTTCCTCGATCCCGTGGTGCTCCGCGGCGCGGCCTTGCTCTCTTCCGGTCGCGGGACACC
GGGTGTAGAGGGCGGTCGCGGCGGGCAGTGGCGGCAGAATGTTGGCTACCAGGGTATTTAGCC
TAGTTGGCAAGCGAGCAATTTCCACCTCTGTGTGTGTACGAGCTCATGAAAGTGTGTAAGAGC
GAAGACTTTTCGCTCCAGCTTATATGGATCGGCGTGACCACCCCTTGCCGGAGGTGGCCCATG
TCAAGCACCTGTCTGCCAGCCAGAAGGCACTGAAGGAGAA.....osv
```

Detta är alltså genen för cytochrome c subenhet 4 hos människa. Varje bokstav representerar en nukleotid (Adenin, Guanin, Cytosin, Tymin), nukleotiderna utgör själva koden för proteinet.

- 4) Markera nukleotiderna (tryck in vänster musknapp och dra). När allt är blått trycker du på ctrl + c för att kopiera.

5) Öppna sedan programmet "Anteckningar" (finns under startmenyn, sedan tillhör) tryck ctrl + v (klistra in) och spara sedan på disketten. Döp den till Homo, människa eller liknande (undvik å,ä,ö).

Gör ovanstående för följande organismer (spara alla i en egen fil):

NM_017202	Rattus Norvegicus (råtta)
NM_053091	Mus musculus (mus)
AH005870	Saimiri sciureus (halvapa)
AH005840	Pongo pygmaeus (orangutang)
AF042748	Pan troglodytes (schimpans)
AF042752	Gorilla gorilla (gorilla)

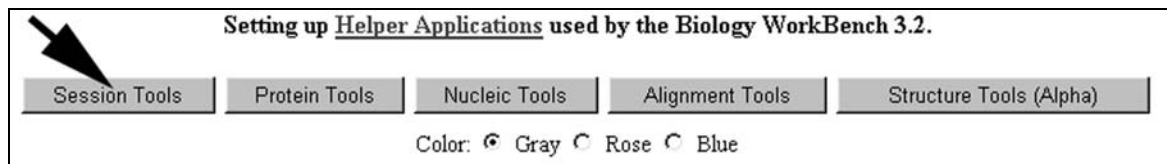
Ladda upp nukleotidsekvenser

När du sparat alla organismer är det dags för själva studierna.

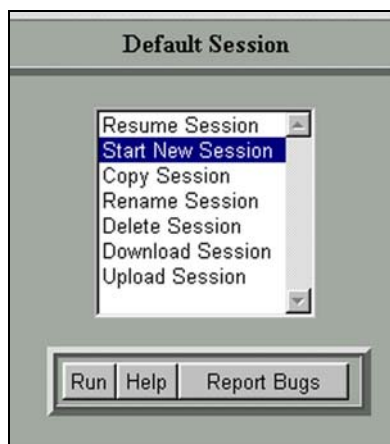
1) Gå in på: <http://workbench.sdsc.edu/>

Tryck på "Set up a free account" för att skapa ett konto. När detta är gjort trycker du på "Biology WorkBench"

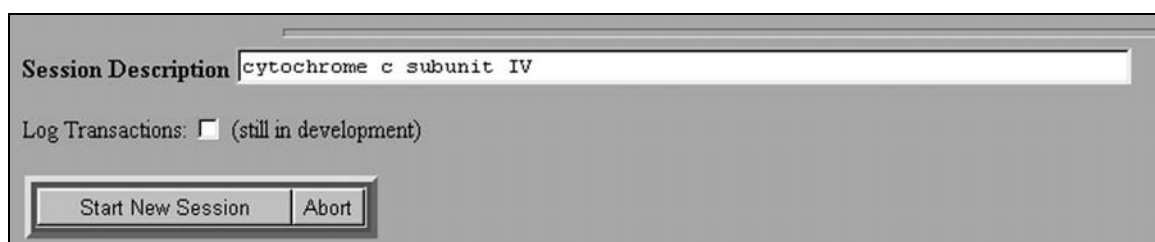
2) Scrolla ned och tryck på "session tools".



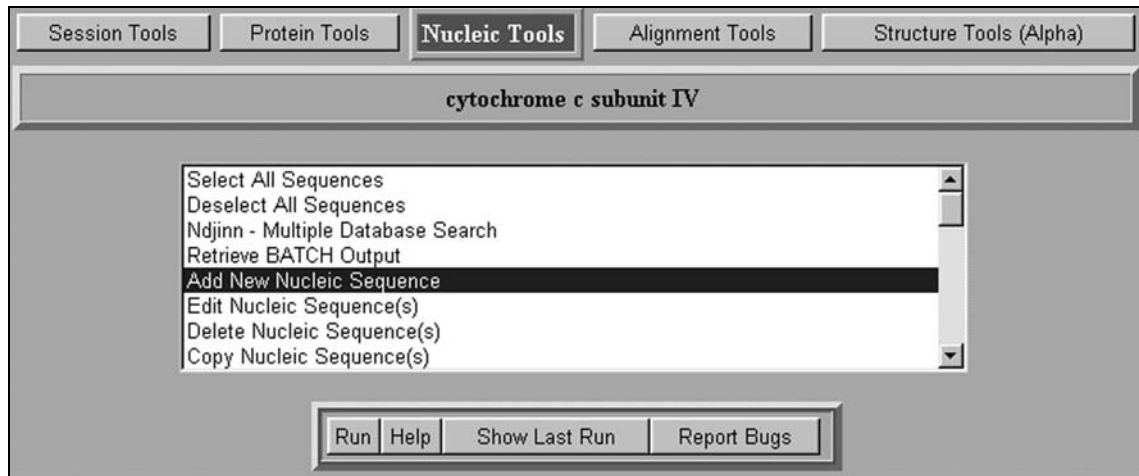
3) Markera "Start New Session" och tryck på Run



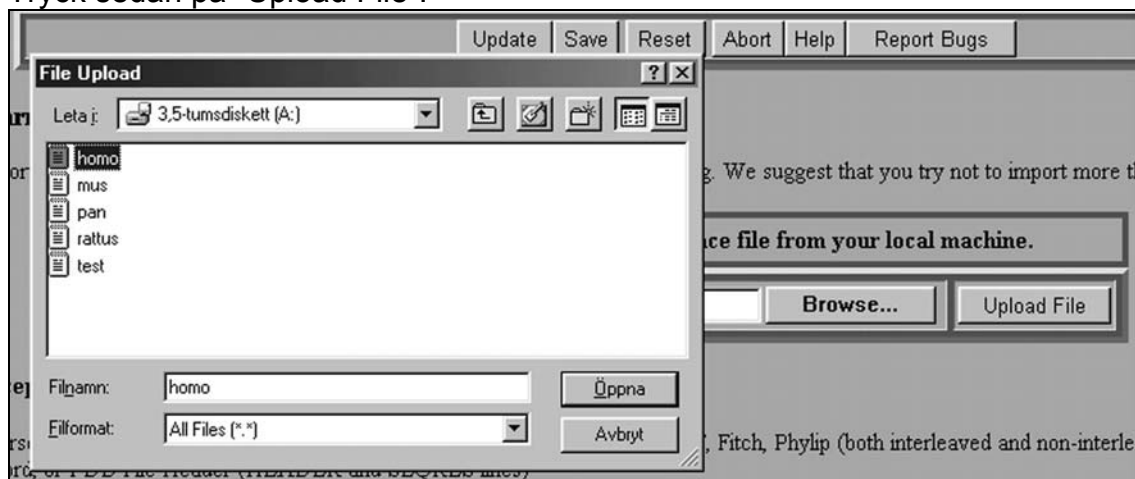
4) Döp sessionen och tryck sedan på "Start New Session"



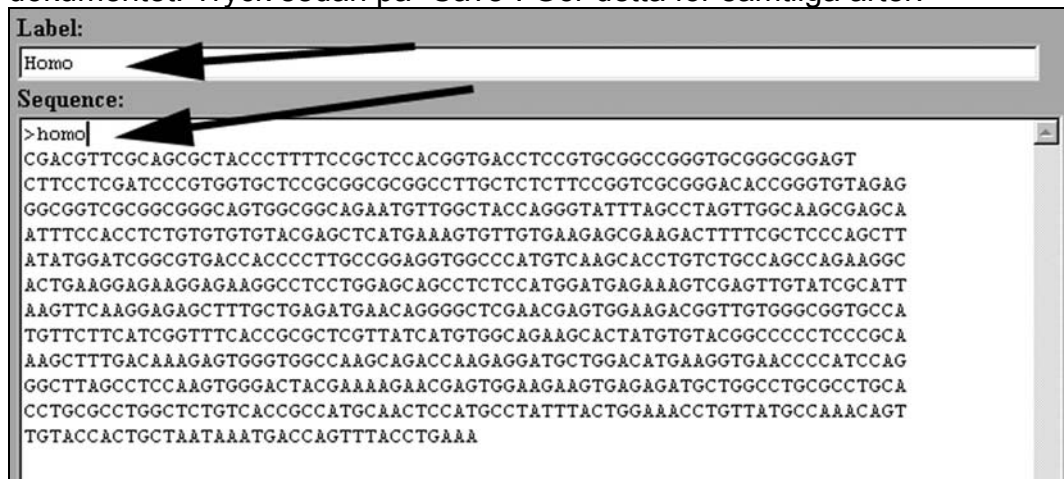
5) Markera din session och tryck sedan på "Nucleic Tools". När detta är gjort markerar du "Add New Nucleic Sequence", tryck sedan på "run"



6) Tryck sedan på "Browse...". Nu kommer ett nytt fönster upp på skärmen dra ned rullgardinen och välj "3,5-tumdiskett (A)". Dubbelklicka på den art du vill ladda upp. Tryck sedan på "Upload File".

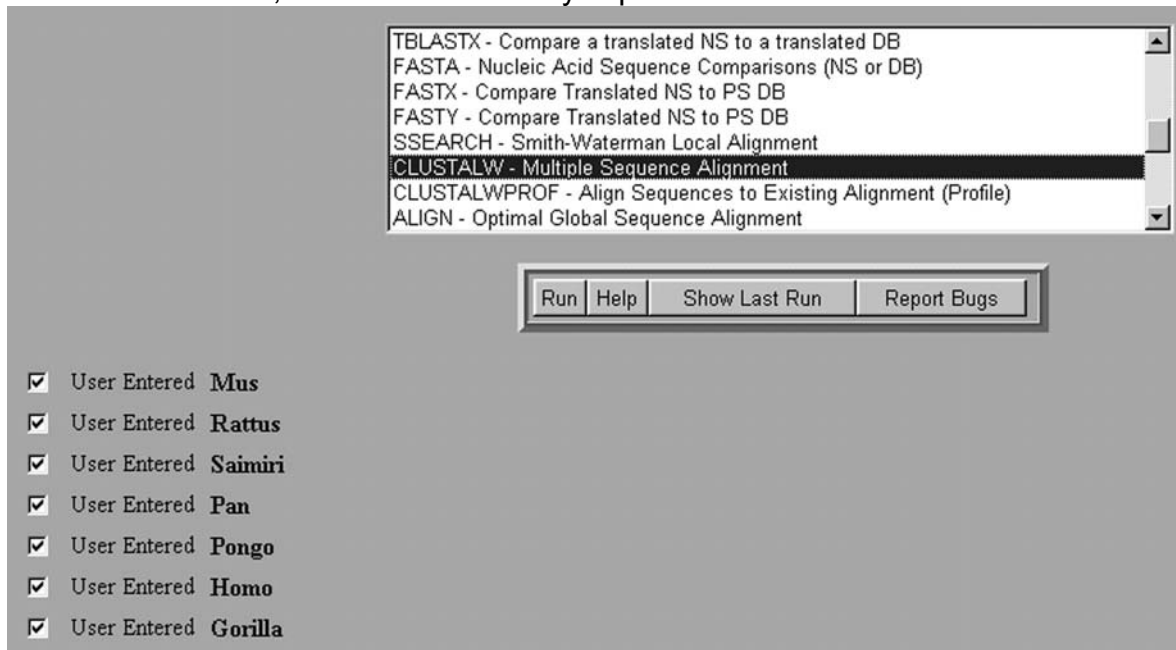


7) Scrolla ned och skriv in artnamnet, dels vid "Label" och dels vid "Sequence", se pilarna. Det är viktigt att inga andra bokstäver än nukleotiderna finns med i dokumentet. Tryck sedan på "Save". Gör detta för samtliga arter.



Jämföra nukleotidsekvenser samt rita ett släkträd

1) Markera de arter du vill jämföra, välj sedan "CLUSTALW". Tryck på "Run". En sida kommer visas, scrolla nedåt och tryck på "Submit". Klart!



Programmet kommer nu att jämföra de olika sekvenserna. Blå text visar att nukleotiden återfinns hos samtliga arter, mycket blå text betyder alltså att det är god samstämmighet mellan arterna. Är texten svart betyder det att det finns samstämmighet mellan åtminstone två av arterna. Ett streck (-) betyder att det ej finns någon samstämmighet.

```
Pan      TGGACATGAAGGTGAACCCCATCCAGGGCTTAGCCTCCAAGTGGGACTACGAAAAGAACG
Homo     TGGACATGAAGGTGAACCCCATCCAGGGCTTAGCCTCCAAGTGGGACTACGAAAAGAACG
Gorilla  TGGACATGAAGGTGAACCCCATCCAGGGCTTAGCCTCCAAGTGGGACTACGAAAAGAACG
Pongo    TGGACATGAAGGTGAACCCCATCCAGGGCTTAGCCTCCAAGTGGGACTACGAAAAGAATG
Saimiri  TGGACAGGAAGGTGAACCCCGGGCAGGGCTTACCACCAAGTGGGACGATGACAAAGAACG
Mus      TGGACATGAAGGCCTACCCCATTCAGGGCTTCTCCGCCAAGTGGGACTATGACAAAGAATG
Rattus   TGGACATGAAGGTC AACCCCATTCAGGGCTTCTCCGCCAAGTGGGACTACAACAAAGAATG
*****  *****  *****  *****  **  *****  *  *  *****  *
```

Längst ned på sidan bör det finnas ett släkträd. Jämför ditt träd med ett vedertaget, gå in på <http://tolweb.org/tree/> och klicka dig fram till primaterna. Följande länk tar dig direkt till däggdjuren: <http://tolweb.org/tree?group=Mammalia&contgroup=Therapsida>