



[www.esaunggul.ac.id](http://www.esaunggul.ac.id)

# PENGANTAR BIOINFORMATIKA

## IBT 431

*By Seprianto S.Pi, M.Si*

Pertemuan 3

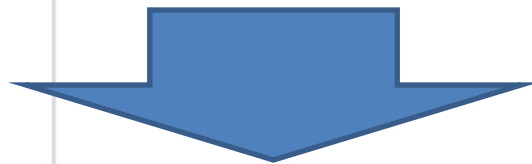
# Bioinformatika DNA

# Sasaran Perkuliahan

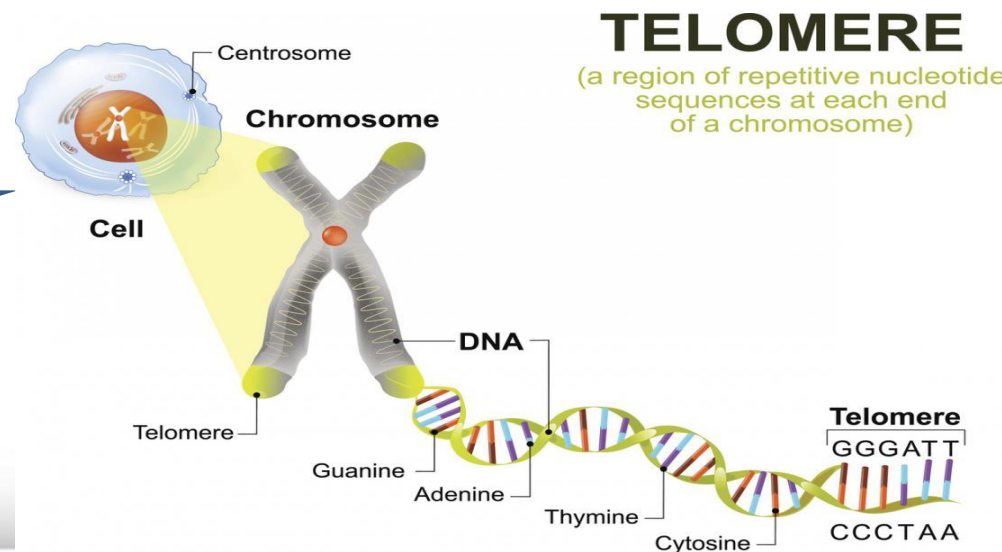
- Mahasiswa Mengetahui struktur DNA beserta pasangannya
- Mahasiswa Mampu menganalisis Bioinformatika DNA serta teknik dalam identifikasi
- Mahasiswa dapat melakukan identifikasi organisme dengan teknik 16S dan 18S rRNA

# Bioinformatika DNA

- Kajian bioinformatika yang menjadi sangat penting dalam analisis suatu data sekuensing
- Aplikasi ini merupakan alat komputasi dan analisa untuk menangkap dan menginterpretasikan data-data biologi molekuler

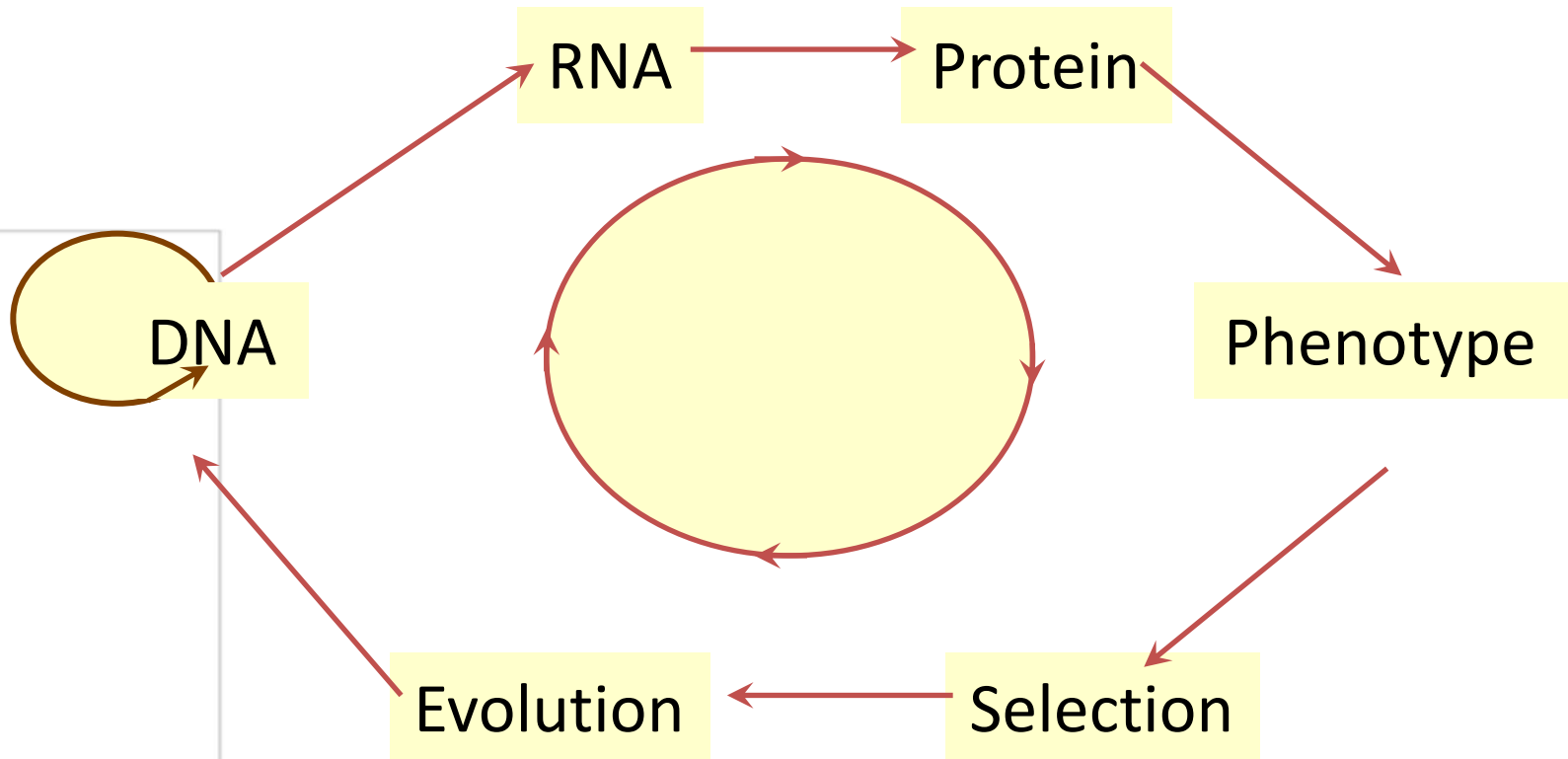


- (DNA. RNA dan Protein)



# Structural Bioinformatics

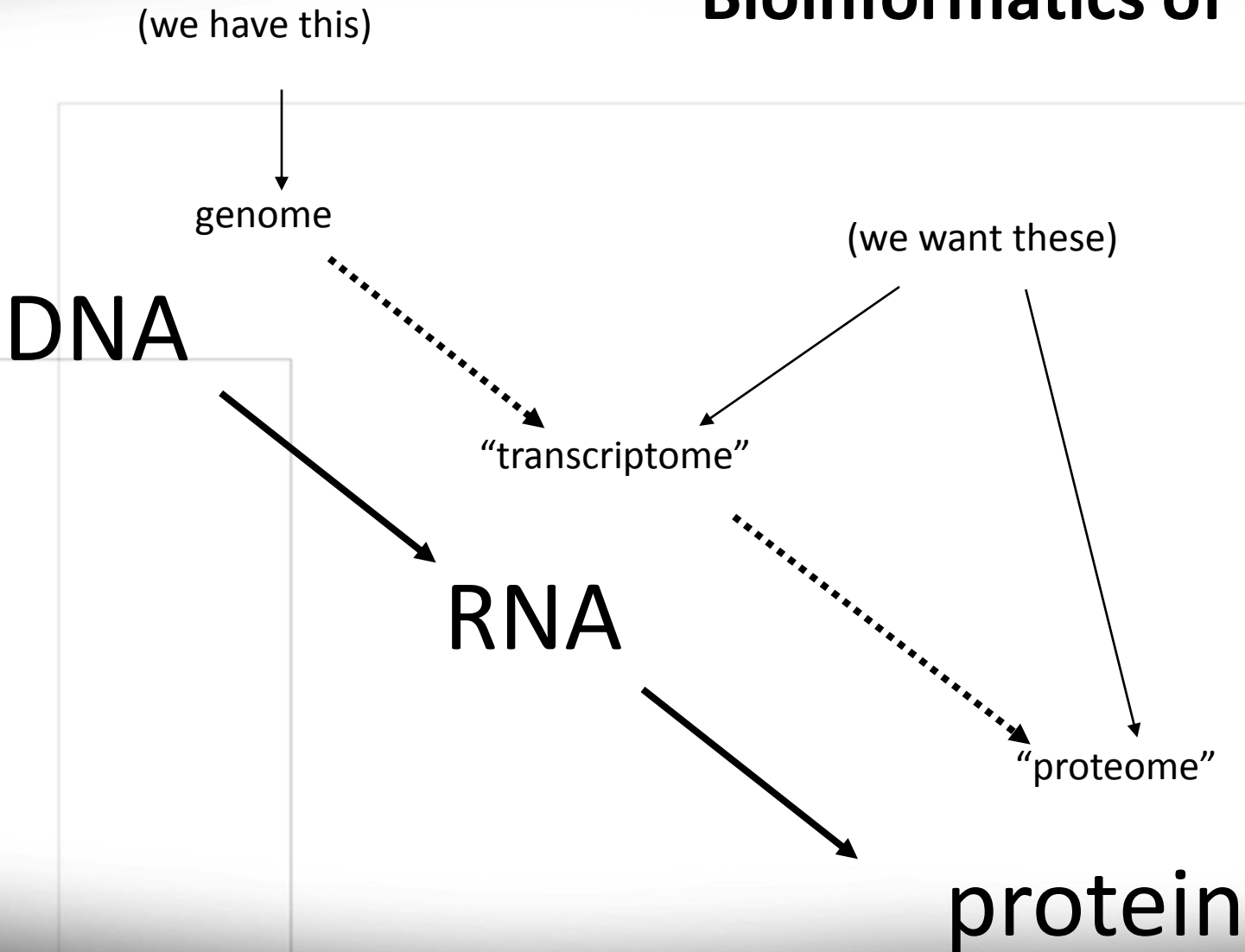
Individuals



Populations

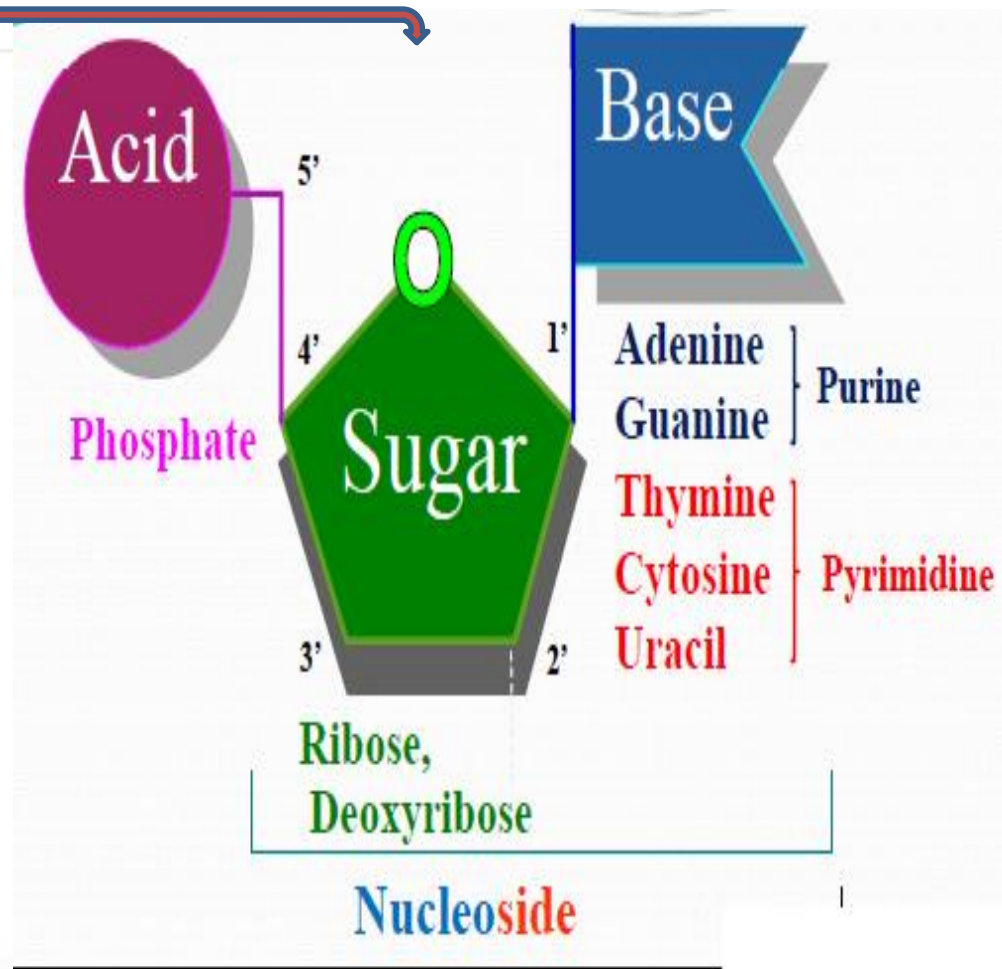
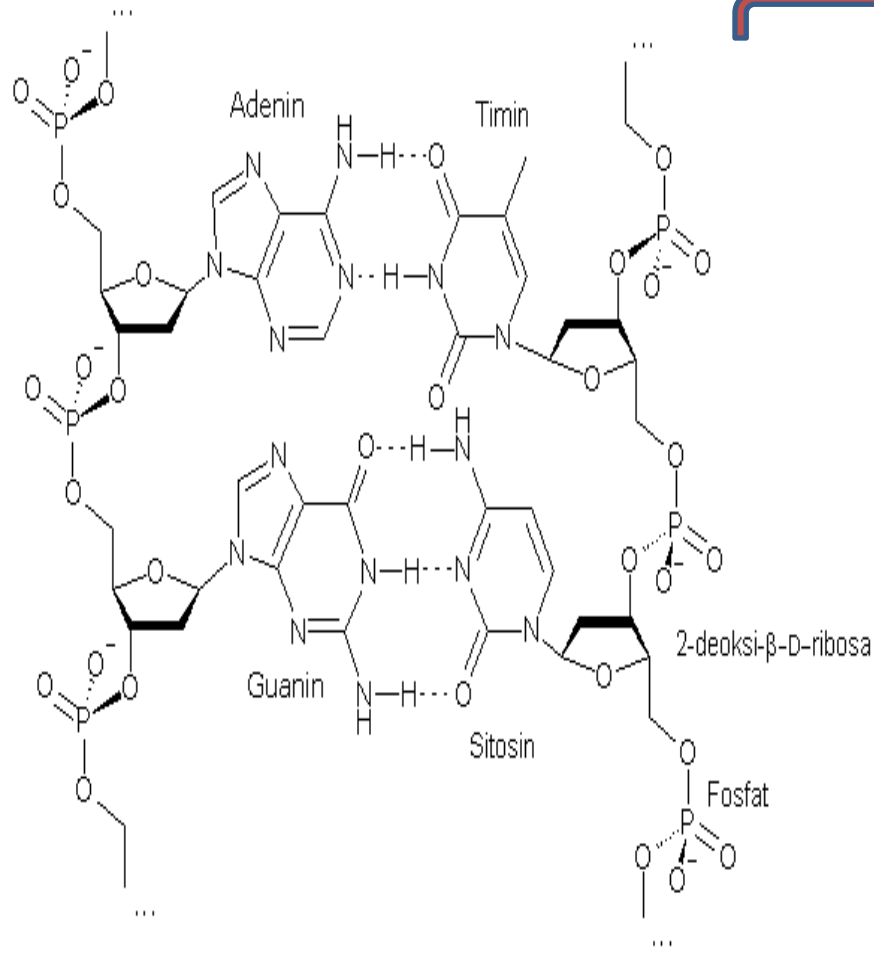
Biological Information

# Bioinformatics of DNA



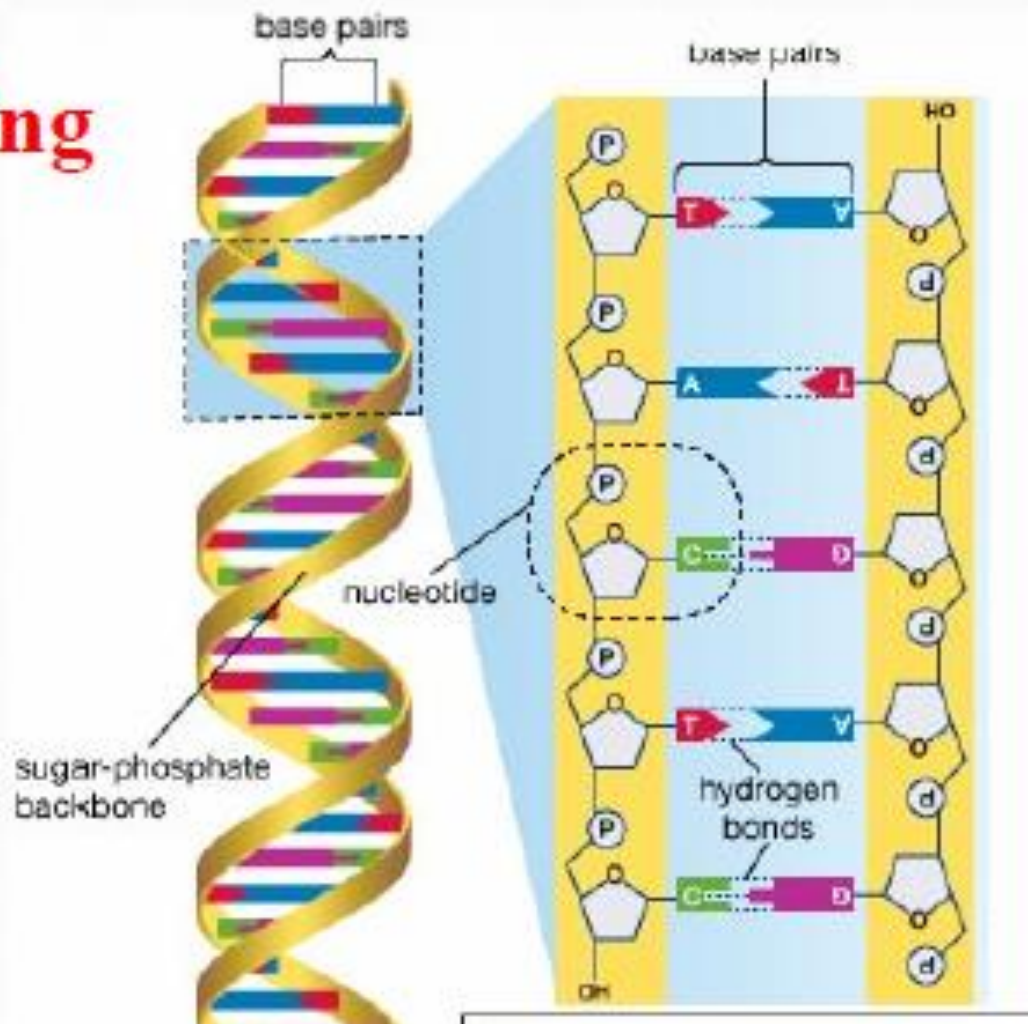
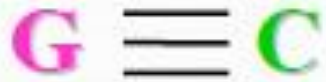


# Structure of DNA



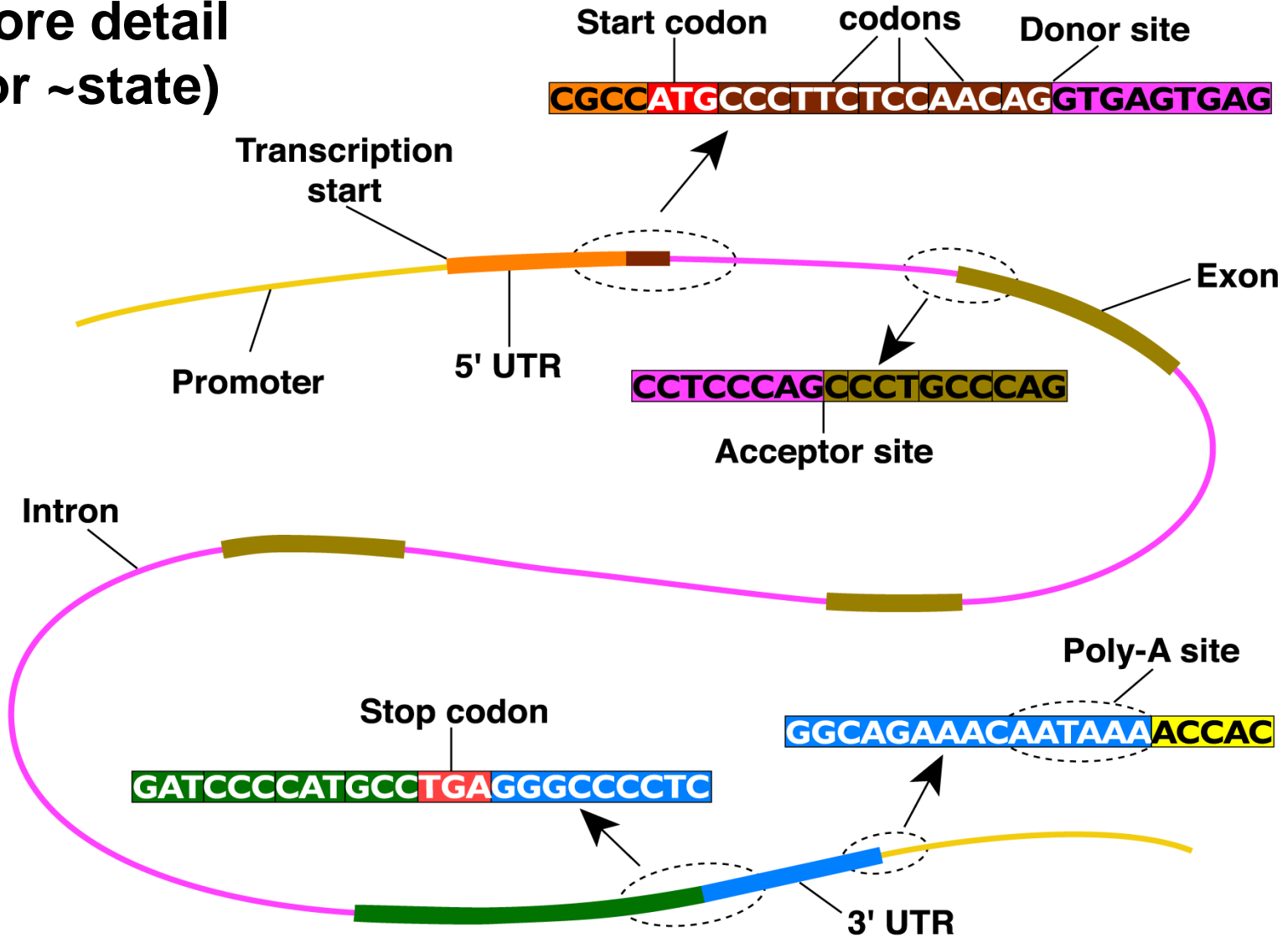
# Nucleic acid pairing

hydrogen bonds



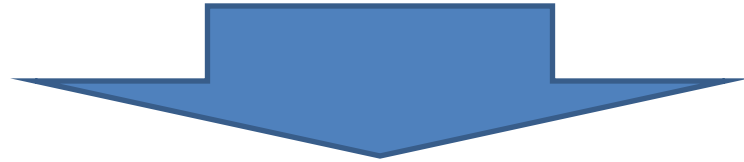


# In more detail (color ~state)



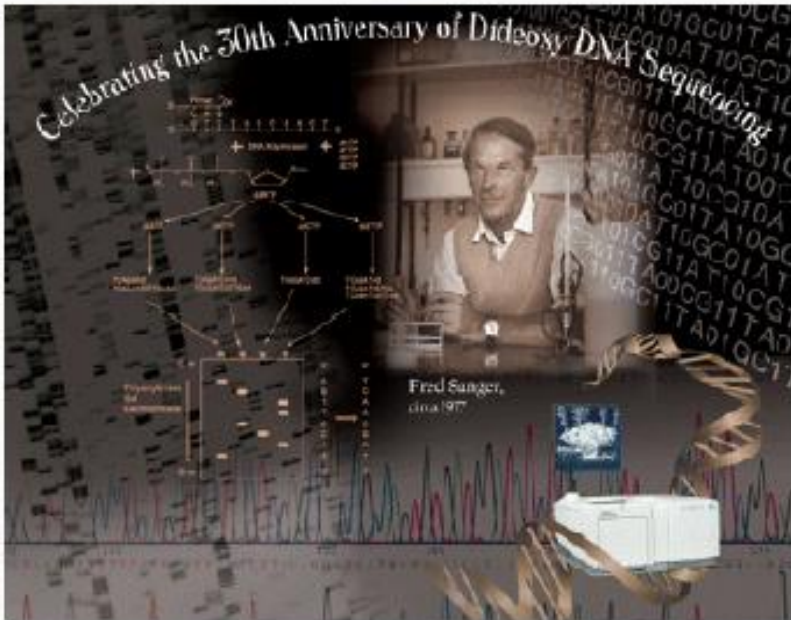
# Analisis Bioinformatika DNA

- **What is DNA sequencing**



- Determining the precise order of nucleotides in a piece of DNA
- DNA sequence is useful in studying fundamental biological processes and in applied fields such as diagnostic or forensic research
- DNA sequencing methods have been around for 40 years, and since the mid-1970s

# Founders of Sequencing Technology



**Sanger**



**Gilbert**

# Sequencing methods

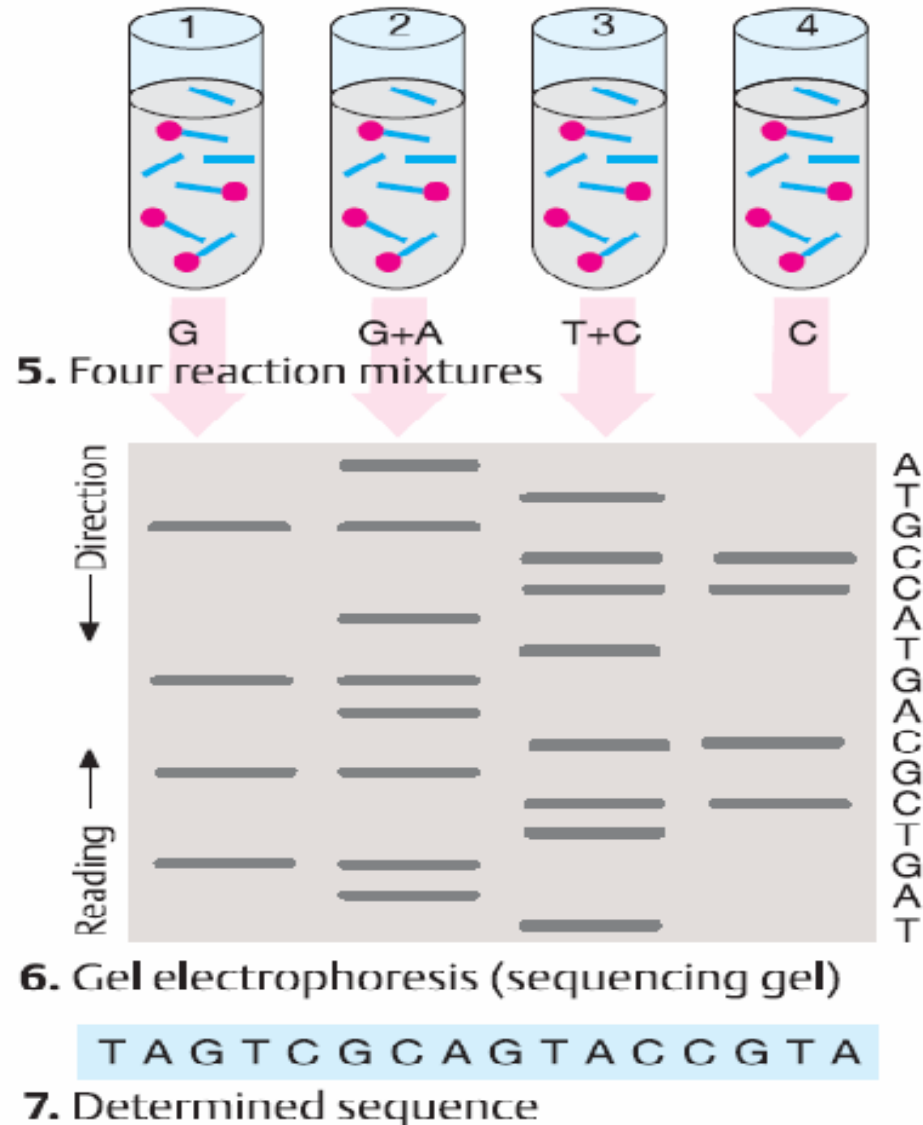
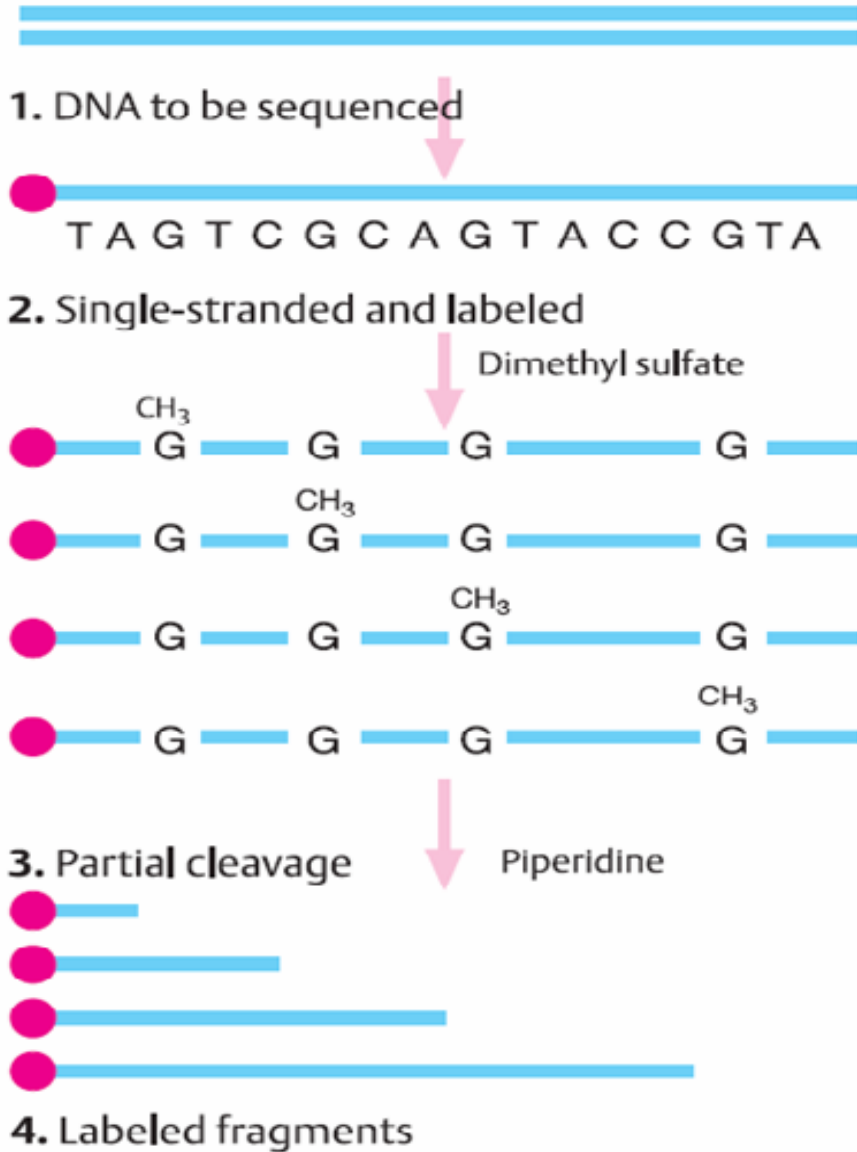
## Three basic methods for DNA sequencing

- **A- Chemical cleavage method (Maxam and Gilbert, 1977)**
  - ✓ pelabelan pada ujung 5' dengan menggunakan  $\gamma$ -<sup>32</sup>P
  - ✓ modifikasi dan pelepasan basa nitrogen
  - ✓ pemutusan rantai DNA
  - ✓ deteksi dengan Polyacrylamide gel electrophoresis
- **B- Enzymatic method (Sanger, 1981)**
- **NGS (Next-Generation Sequence )**

## Prinsip kerja dari metode Gilbert

- DMS (dimethyl sulfate ) akan memetilasi basa G dan C, dengan penambahan piperidin menghasilkan fragmen yang berbeda beda
- hidrazin akan menghidrolisis C dan T, tetapi garam yang tinggi akan menghalangi reaksi T sehingga hanya bekerja pada C
- dihasilkan empat macam fragmen, masing-masing dengan ujung G, ujung A atau G, ujung C atau T, dan ujung C

# Chemical degradation method (Maxam–Gilbert method)





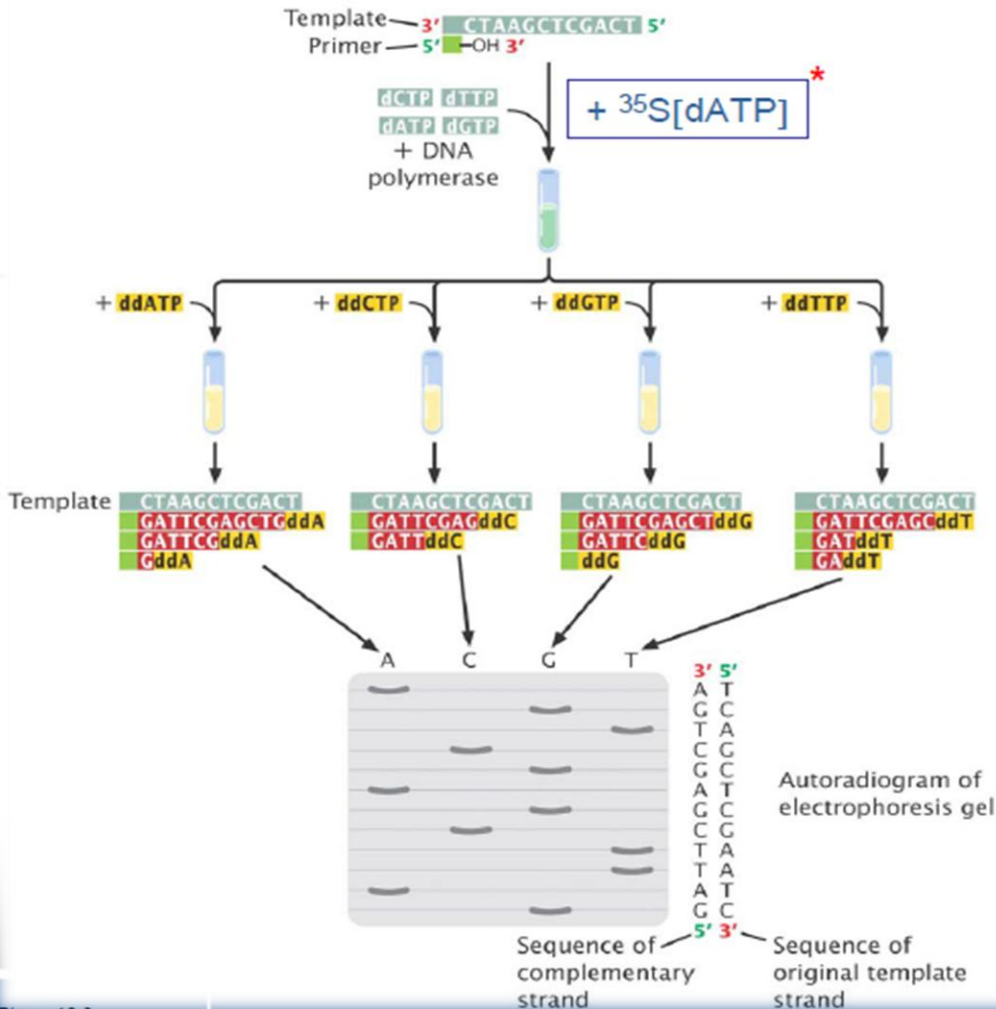
# The Sanger DNA sequencing method

Uses dideoxy nucleotides to terminate DNA synthesis.

- DNA synthesis reactions in four separate tubes
- Radioactive dATP is also included in all the tubes so the DNA products will be radioactive.
- Yielding a series of DNA fragments whose sizes can be measured by electrophoresis.
- The last base in each of these fragments is known.

# The dideoxy sequencing method (Sanger method)

## Dideoxy method of DNA sequencing



Annealing

Polymerization and labeling

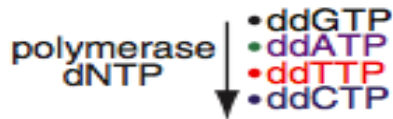
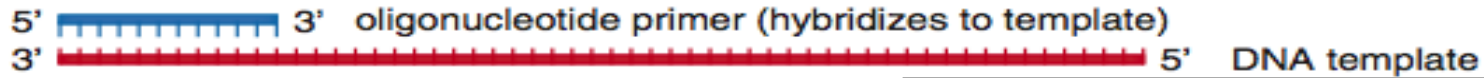
Termination

Polyacrylamide/urea gel electrophoresis

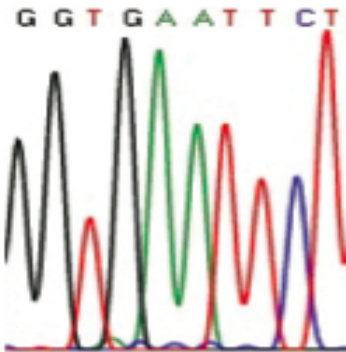
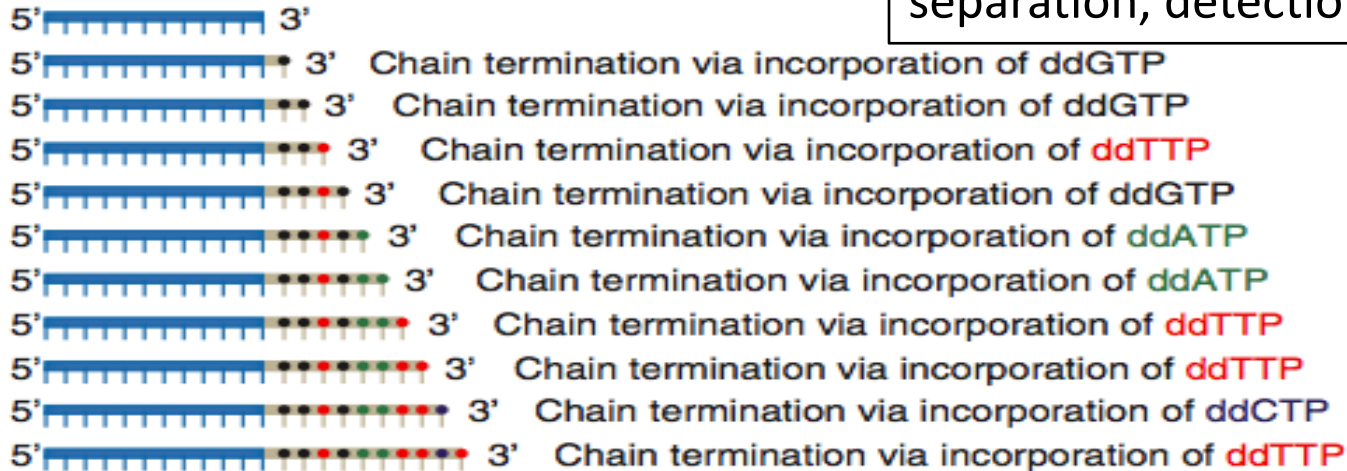
A labeled primer is used to initiate DNA synthesis. The addition of four different dideoxy nucleotides randomly arrests synthesis.

\* - substituted automated DNA sequencing methods

# DNA sequencing by the Sanger method



Primer elongation, chain termination upon incorporation of ddNTP, separation, detection

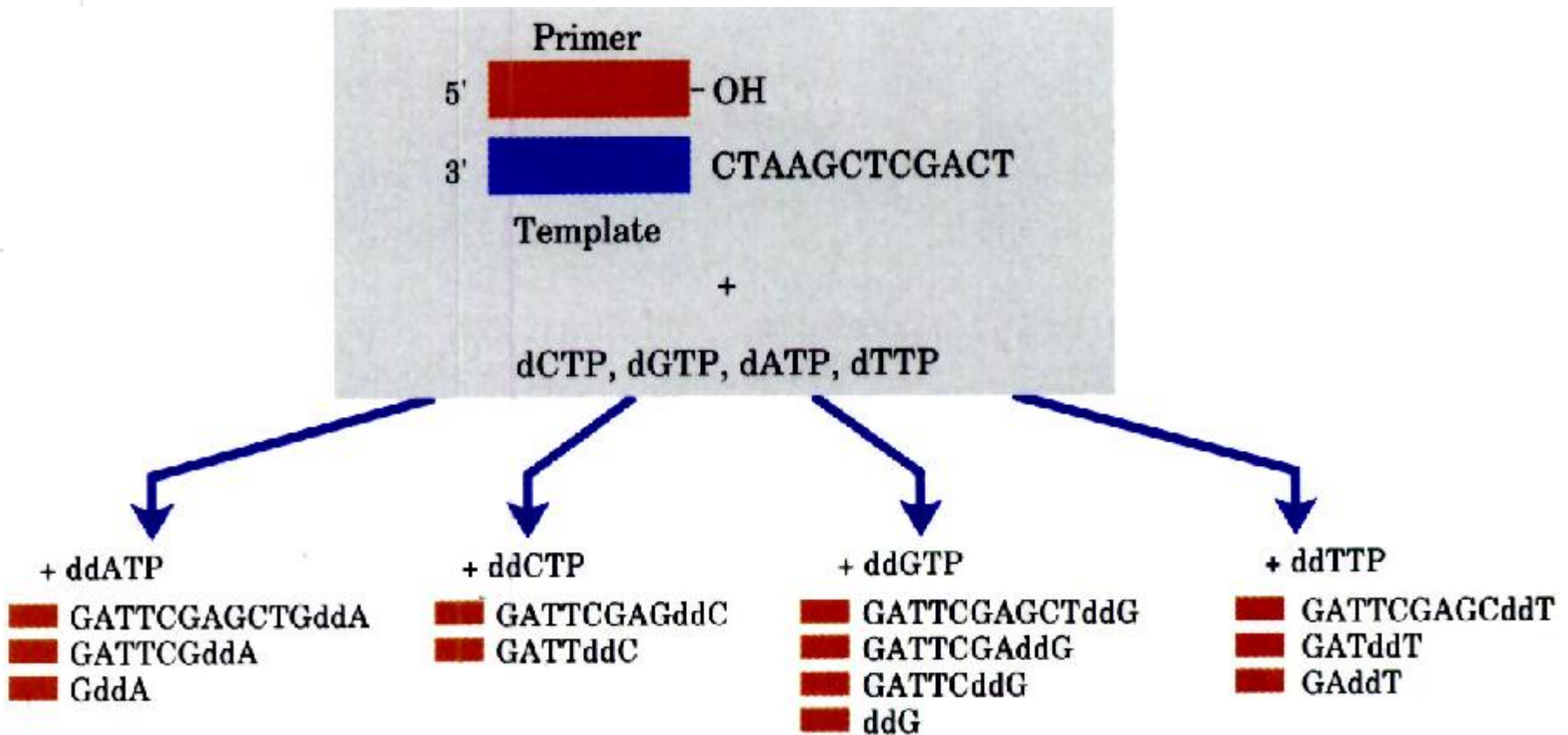


Capillary gel electrophoresis to separate DNA fragments by size

Laser detection of labeled ddNTPs

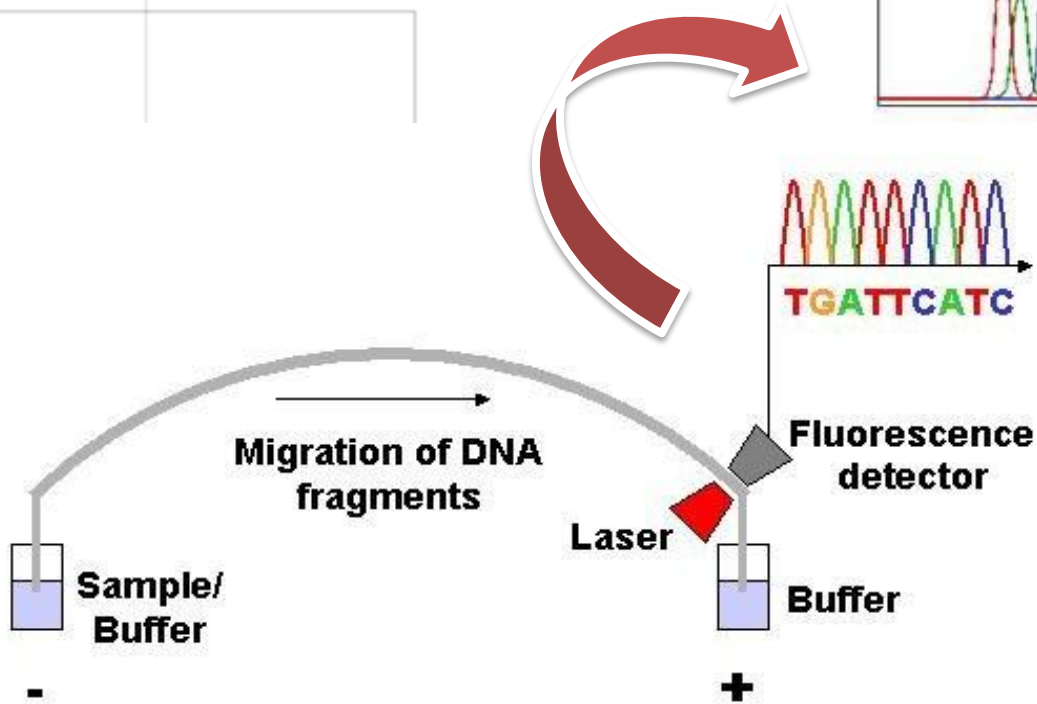
Determination of DNA sequence inferred by pattern of chain termination

# DNA Sequencing Reactions



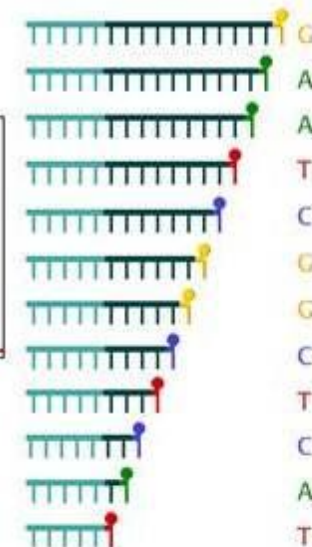
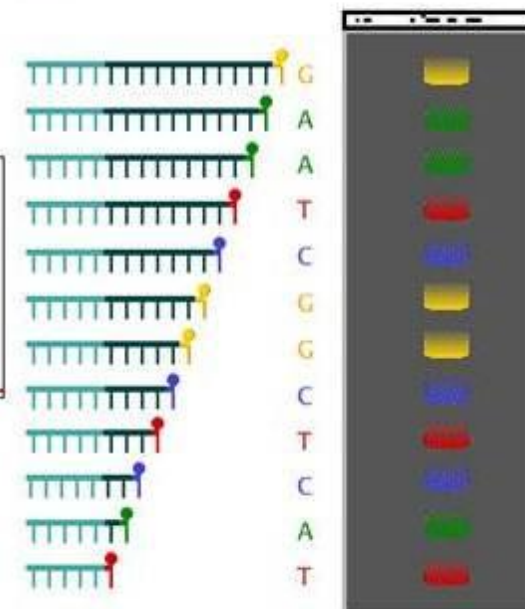
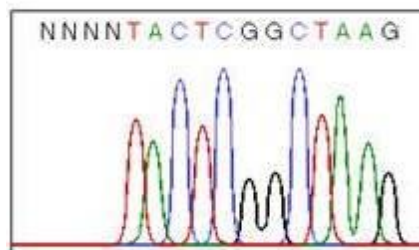


# Gel electrophoretic Fractionation



## Cycle Sequencing

The simulated gel image is read from bottom to top, starting with the smallest fragment.



# View genomic DNA (here from the beta globin locus) from the Trace Archive at NCBI: FASTA format

Show as **FASTA**  in color

>gnl|tl|981051509 name: *17000177953277* [Send to BLAST](#)

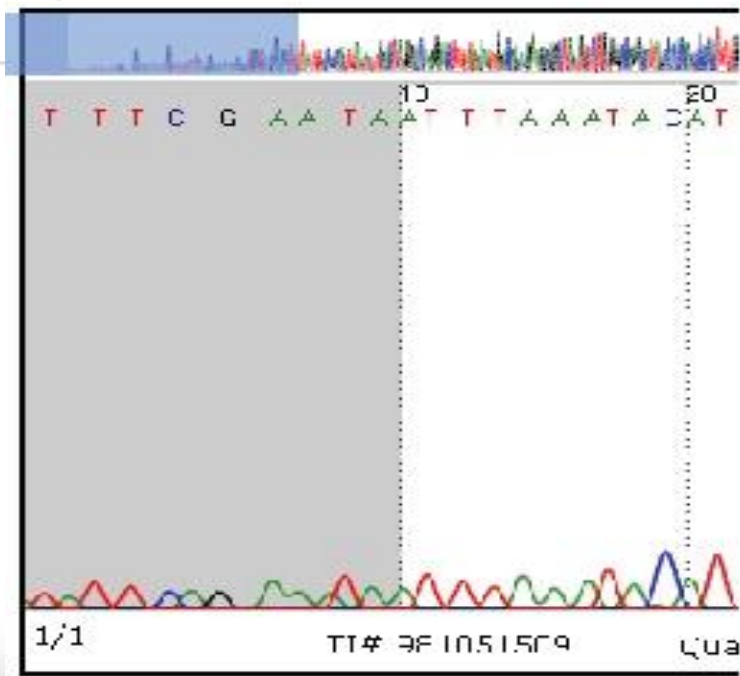
Quality score: not available >-0 - <20 >-20 - <40 >-40 - <60 >-60 - <80 >-80 - <100

```
TTTCGAATAATTTAAATACATCATTGCAATGAAAATAAATGTTTTTTATTAGGCAGAATCCAGATGCTCA
AGGCCCTTCATAATATCCCCAGTTTAGTAGTTGGACTTAGGGAACAAAGGAACCTTTAATAGAAATTGG
ACAGCAAGAAAAGCGAGCIIAGIGAIACIIIGIGGGCCAGGGCAIIAGCCACACCAGCCACCACIIICIGAI
AGGCAGCCTGCACTGGTGGGGTGAATTCTTTGCCAAAGTGATGGGCCAGCACACAGACCAGCACGTTGCC
CAGGAGCTGTGGGAGGAAGATAAGAGGTATGAACATGATTAGCAAAGGGCCTAGCTTTGGACTCAGAATA
ATCCAGCCTTATCCCACCATAAAAATAAAAGCAGAATGGTAGCTGGATTGTAGCTGCTATTAGCAATATG
AAACCTCTTACATCAGTTACAATTTATATGCAGAAATATTTATATGCAGAGATATTGCTATTGCCTTAAC
CCAGAAATTATCACTGTTATTCTTTAGAATGGTGCAAAGAGGCATGATACATTGTATCATTATTGCCCTG
AAAGAAAAGAGATTAGGGAAAGTATTAGAAATAAGATAAACAAAAAAGTATATTA AAAAGGAAGAAAGCATT
TTTTAAAATTACAAATGCAAAATTACCCTGATTTGGTCAATTATGTGTACACATATTA AAACATTACACT
TTTAACCCATAAATATGTATAATGGATTATGTATCAATTA AAAAATAAAAAGAAAATAAAGTAGGGAGATTA
TGAATATGCAAAAT
```

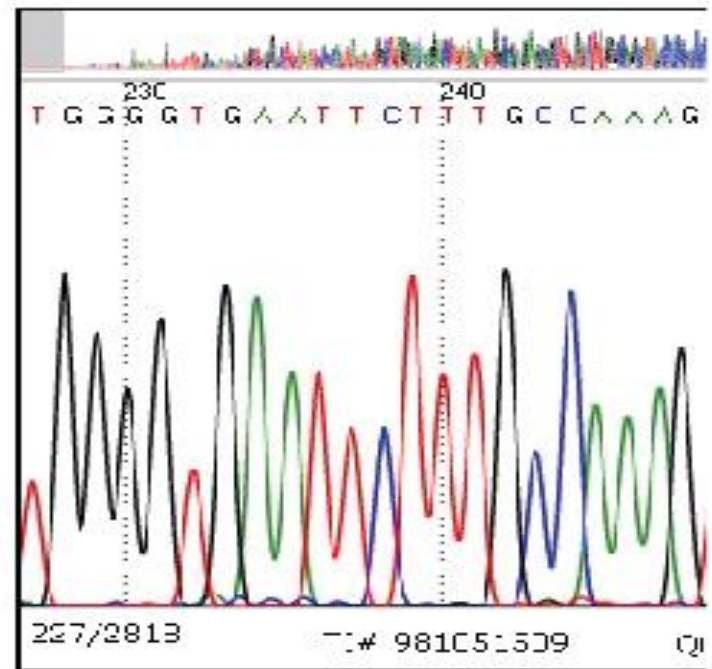


# Examples of Sanger sequencing traces

Low quality reads



High quality reads

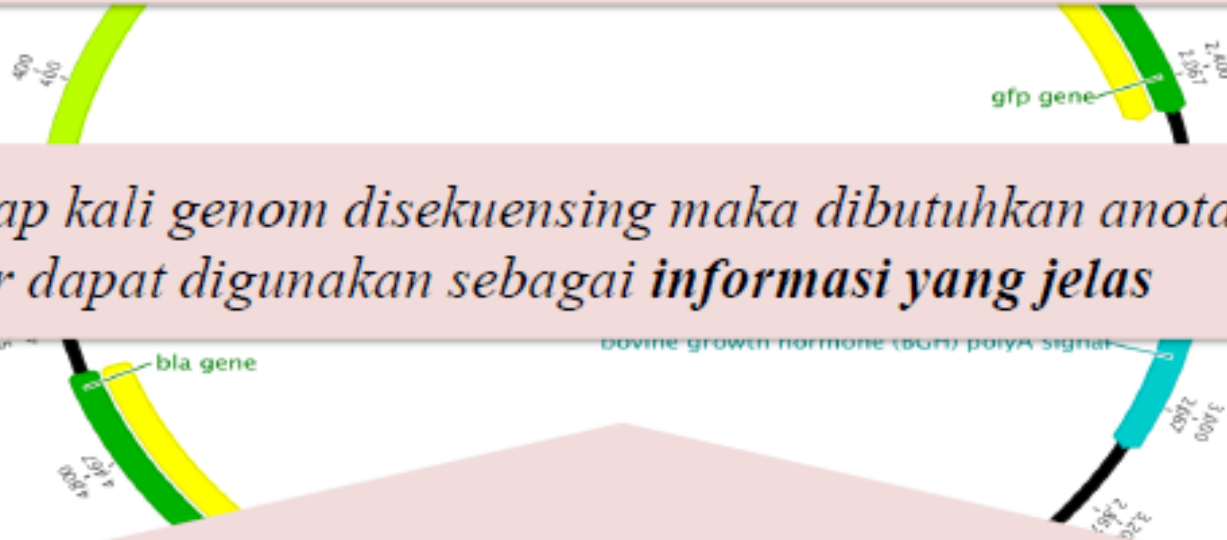


# ANOTASI SEKUEN

**Anotasi sekuen** merupakan proses **identifikasi** lokus gen, daerah penyandi atau lokasi spesifik lain yang penting dalam sekuen genom, DNA/RNA

*Setiap kali genom disekuensing maka dibutuhkan anotasi agar dapat digunakan sebagai **informasi yang jelas***

**Anotasi sekuen** merupakan proses **penambahan informasi** pada sekuen DNA/RNA sehingga mudah dipahami



# Tujuan ANOTASI

**Penguraian informasi biologis** yang terdapat dalam suatu genom (DNA/RNA) memberikan dampak besar dalam **memahami proses-proses biologis organisme hidup**

## **Manfaat**

- Identifikasi variasi dalam genom
- Memberikan makna biologis pada urutan basa nukleotida
- Memprediksi fungsi dari gen dalam genom



# Tujuan ANOTASI

## Anotasi Genom

**Anotasi struktural** (prediksi struktur gen) : identifikasi elemen/bagian dari genom

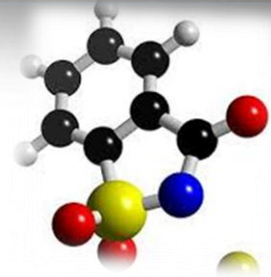
- Start/Stop
- CDS,
- 5 utr, 3 utr
- intron

**Anotasi fungsional** (prediksi fungsi gen) : menambahkan informasi fungsi biologis pada bagian genom

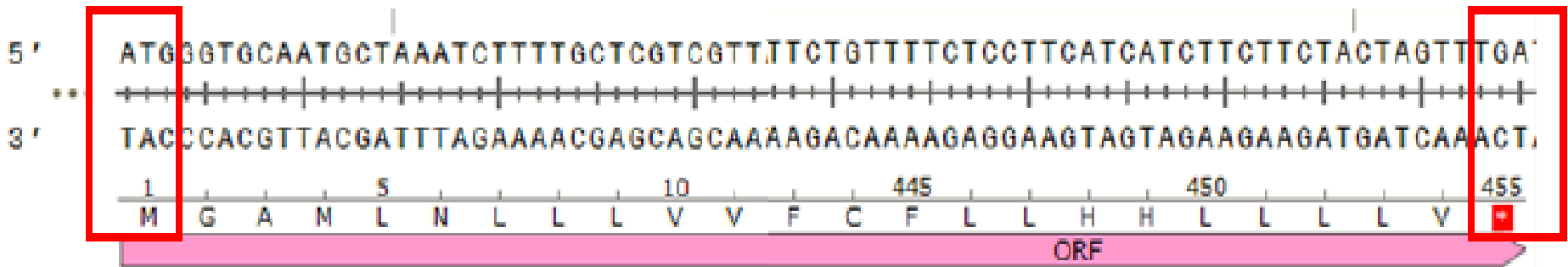
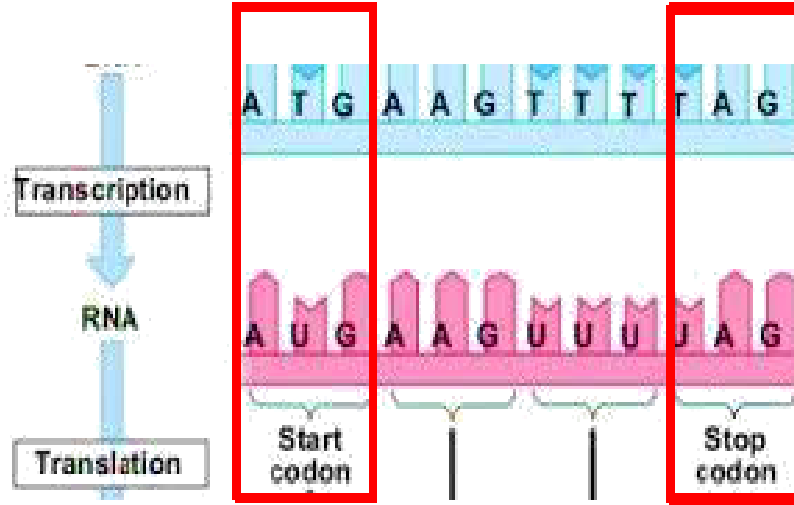
- Fungsi protein pada suatu *exon*



# Mengapa Anotasi dapat dilakukan



Anotasi sangat mungkin dilakukan karena Gen memiliki situs pengenalan yaitu daerah Start kodon dan stop kodon pada sekens nukleotidanya



# Dua tipe anotasi

## Anotasi otomatis

- Menggunakan bantuan *software* dalam bentuk *pipeline*
- Dilakukan pada data yang jumlahnya sangat besar
- Keunggulan : cepat, efektif
- Kelemahan : tergantung *interface software*, algoritma, kurang memberikan arti biologis dari sebuah sekuen

## Anotasi manual

- Menggunakan bantuan *software* individual
- Dilakukan pada data yang jumlahnya relatif kecil
- Keunggulan : akurat, memberikan makna biologis yang sesuai,
- Kelemahan : lama, subjektif



**Vector NTI Advance® 11.5**  
Complete control. At your fingertips.



**DNASTAR®**  
*Software for life scientists*



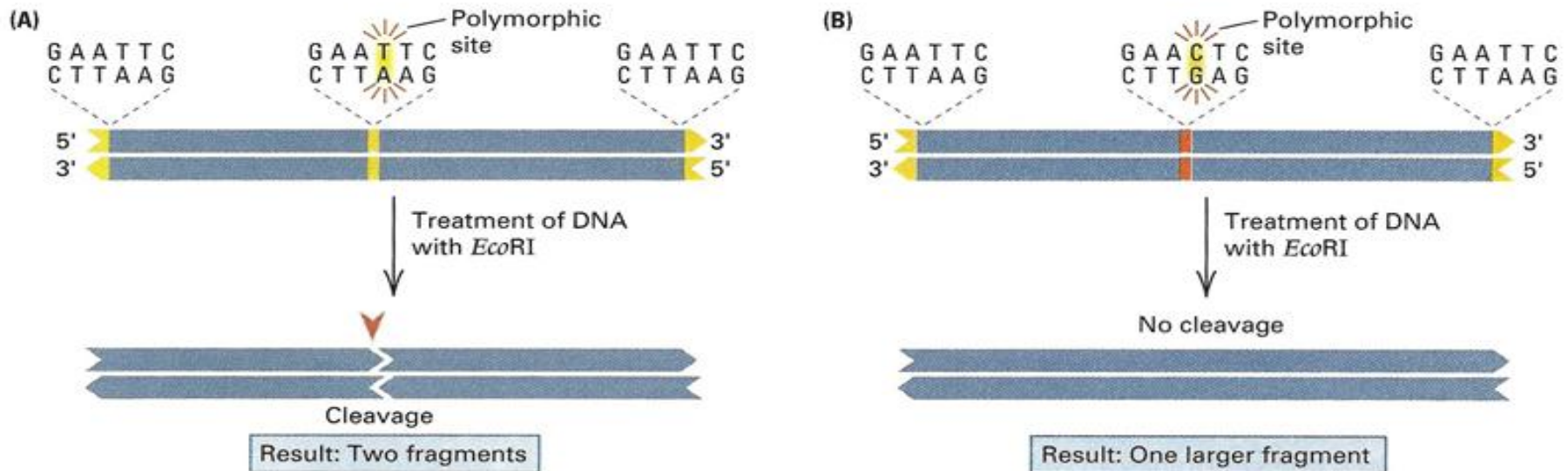
Perangkat lunak untuk anotasi sekuen

# Bioinformatics of DNA Used as Identified

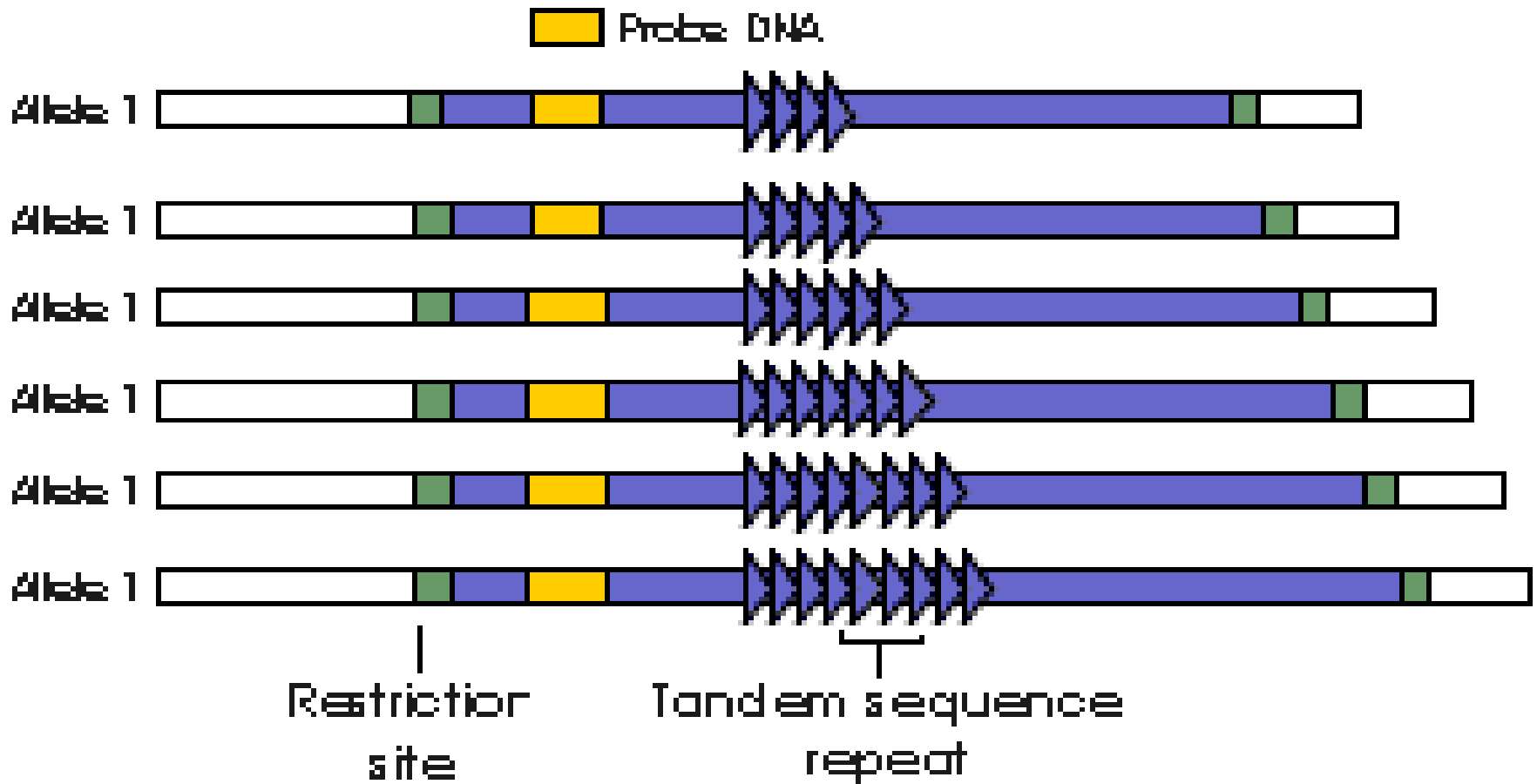
- Human identified

1. Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP)
2. Tandem Repeats:
  - a. VNTR (*Variable Number Tandem Repeat*)
  - b. STR (*Short Tandem Repeats*)
3. New Generation Sequencing (Whole Genome Sequencing *atau* Mass Parallel Sequencing)
4. Single Nucleotide Polymorphism (SNP):
  - a. Single-base substitutions
  - b. Single-base insertion/deletions

# Restriction fragment length polymorphism (RFLP)



# VNTR (*Variable Number Tandem Repeat*)



# Short Tandem Repeats (STR)

Short Tandem  
Repeats

8 repeats

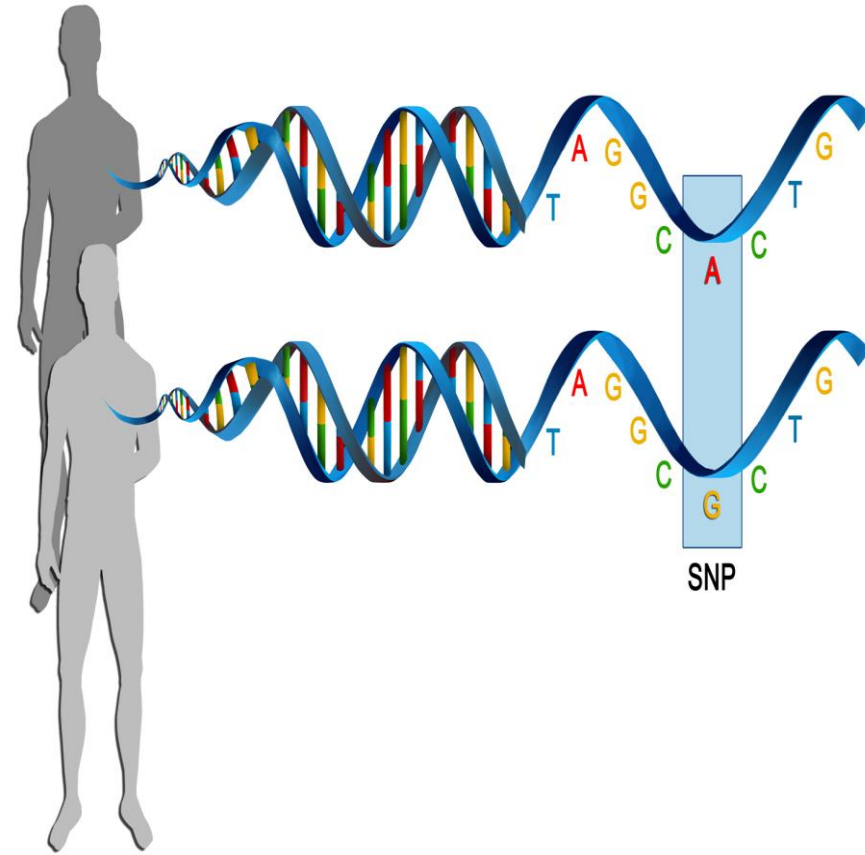
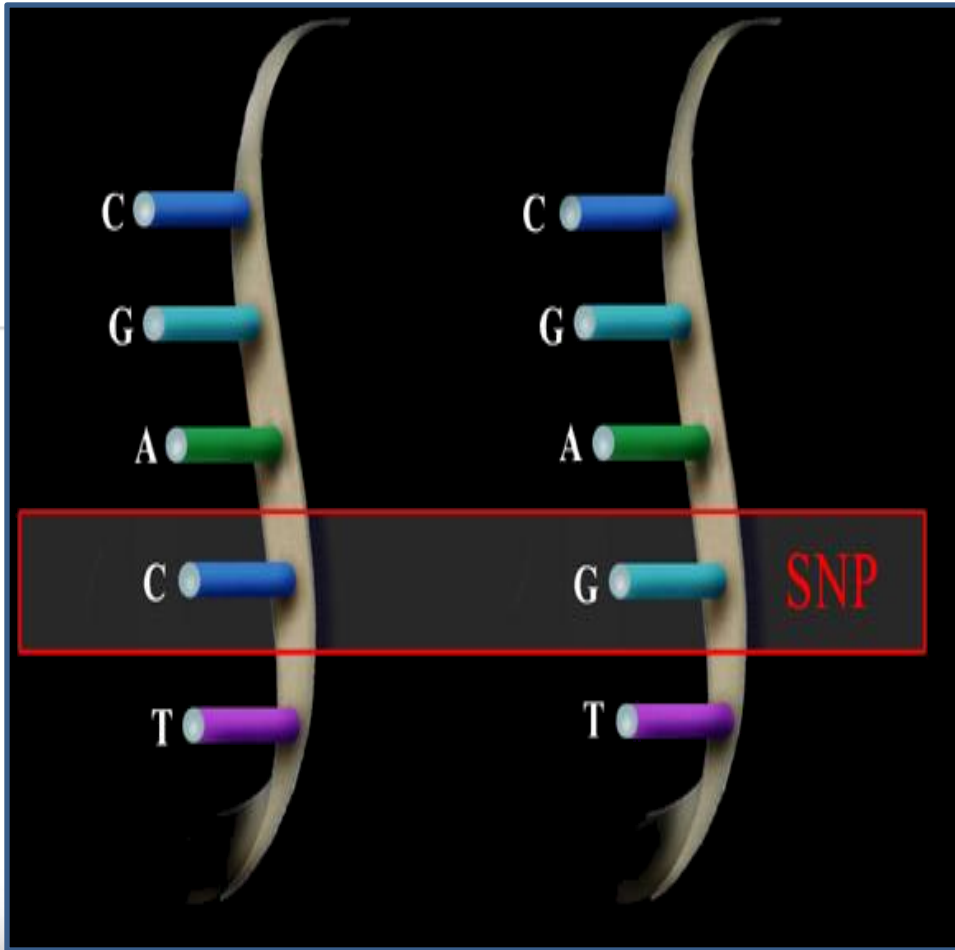
Sample 1 CTAGAGATAGATAGATAGATAGATAGATAGATACTAGACTAGACTAG  
 Sample 2 CTAGAGATAGATAGATAGATAGATAGATAGATAGATACTAGACTAGA  
 Sample 3 CTAGAGATAGATAGATAGATAGATAGATAGATAGATAGATACTAGAC

9 repeats

10 repeats



# Single Nucleotide Polymorfisme (SNP)





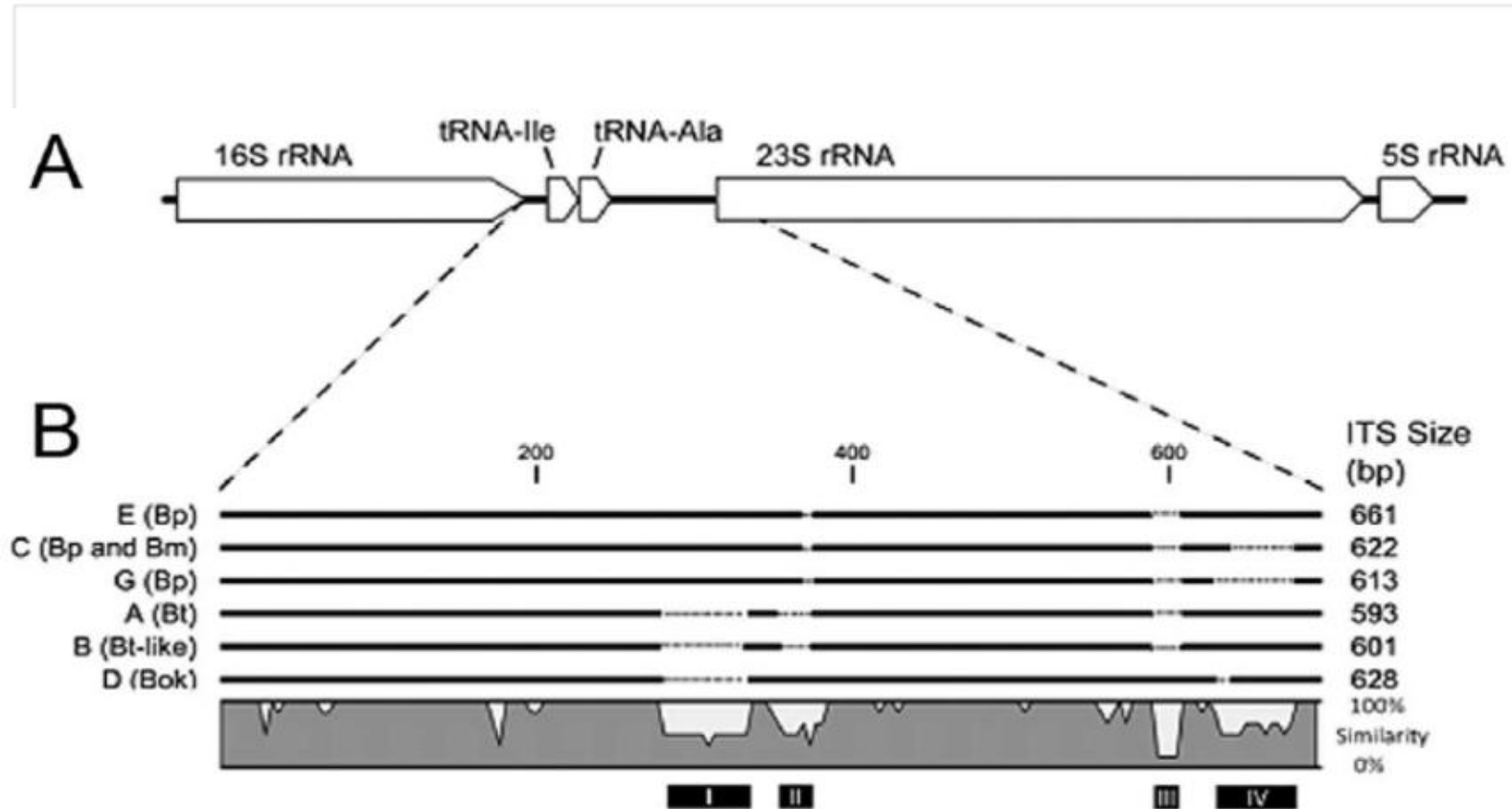
# TeS paternitas dan Maternitas

- **Tes paternitas** adalah tes DNA untuk menentukan apakah seorang pria adalah ayah biologis dari seorang anak dengan mencocokkan pola DNA anak dengan terduga ayah menggunakan DNA inti
- **Tes maternitas** adalah tes DNA untuk menentukan apakah seorang wanita adalah ibu biologis dari seorang anak dengan menggunakan DNA mitokondia

## Identifikasi organisme berdasarkan *specific gene Identified*

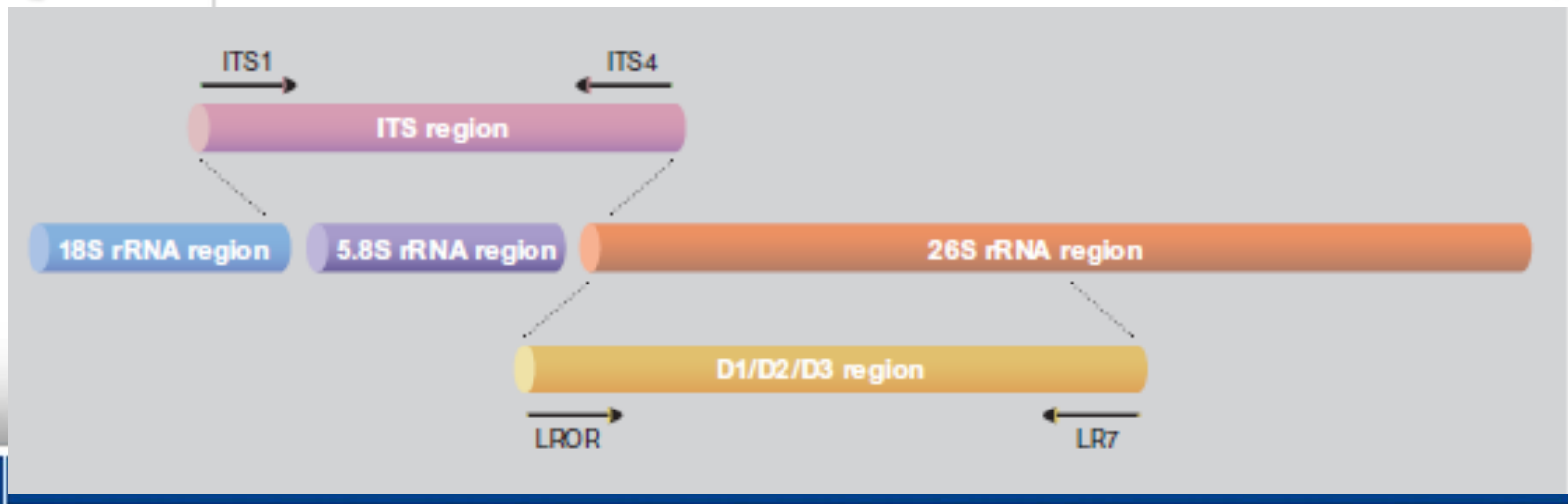
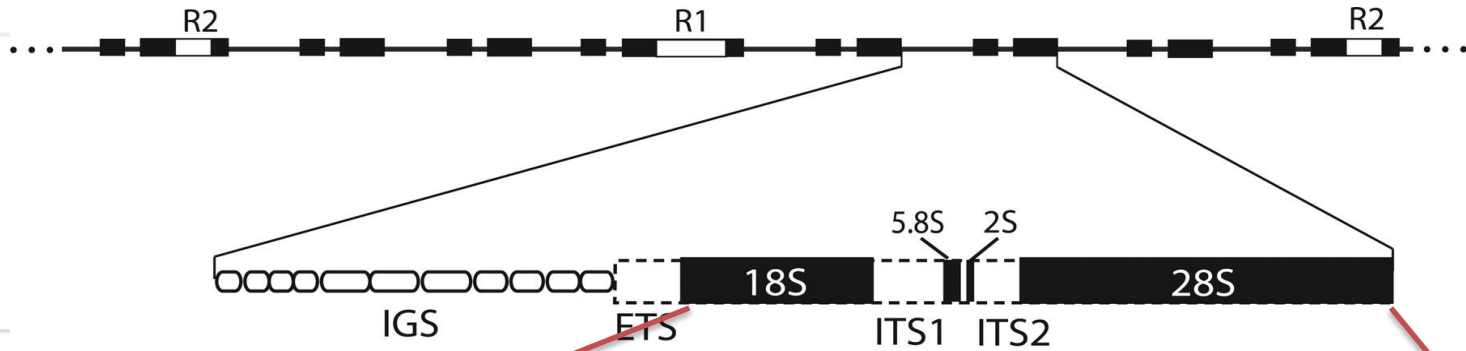
- **Gene 16S rRNA** untuk organisme Prokariot
- **Gene 18S rRNA** untuk organisme Eukariot
- **ITS (*Internal Transcribed Spacer*)** untuk organisme Eukariot

# Identifikasi organisme berdasarkan *specific gene Identified*



Daerah lestari pada gen 16S rRNA

# daerah ITS (*Internal Transcribed Spacer*)



THANK  
YOU



607132.wordpress.com

Noviani's Blog

