

### **TRABAJO PRÁCTICO N°3**

#### **Actividad 1:**

1.1. Estimar en papel el total de substituciones entre las siguientes secuencias, usando “p-distance”, bajo “complete deletion” y luego, “pairwise deletion”

1 GTCTG-TCAAGGGCCTTTGCGTCAGGCTCG

2 GTCTGTTCAAGGGCC-TCGCGCAGGCTA-G

3 GTATGGTCAAGCGCC-TCGCGCAGGCTAGG

1.2 Realizar el mismo cálculo utilizando el programa MEGA.

a- Para ello, copie las secuencias en un archivo del Block de Notas, transfórmela a formato FASTA y guárdelo como test1.fas

b- Abrir el archivo test1.fas en MEGA: File – Open a file. Aparecerá una pregunta, conteste: “Align”.

c- Luego guarde el alineamiento en formato MEGA. Data – Export Alignment – MEGA format. Elija: protein-coding=no. Nombre al archivo: test1.meg.

d- Calcular la “p-distance” entre las secuencias de nucleótidos de la siguiente forma: Seleccionar del Menu Pricipal: Distances—Compute Pair-wise para ver las opciones. Dentro de Substitution Model, elija: Substitution Type = Nucleotide y Model/Method = p-distance, en la misma ventana seleccione, Data Subset to Use = Gaps Missing Data treatment = COMPLETE DELETION/PAIRWISE DELETION. Los resultados aparecerán en una tabla en una nueva ventana. No la cierre/Guardela.

**Actividad 2:** Distancia p y distancias estimadas entre nucleótidos y entre proteínas.

2.1. Iniciar el programa MEGA. Abrir el alineamiento genA.fas/genB.fas que contiene a las secuencias de algas verdes junto con las angiospermas (alineamiento 1): File – Open a file. Aparecerán varias preguntas sucesivas, conteste: “Align”. Guarde el alineamiento de nucleótidos en formato MEGA. Data – Export Alignment – MEGA format. Elija: protein-coding= No. Nombre al archivo: alignment nucleotide.meg

Vaya a la pestaña Translated Protein Sequences, le aparece una ventana que le pregunta si el código genético es estándar, apriete el botón – No, elija el correspondiente a la secuencia que se encuentra analizando (Plant Plastid o Chlorophycean mitocondria). Guarde el alineamiento de proteínas en formato MEGA. Data – Export Alignment – MEGA format. Nombre al archivo: alignment protein.meg

2.2. Calcular la p-distance entre secuencias de nucleótidos del gen de la siguiente forma: Seleccionar del Menu Pricipal: Distances—Compute Pair-wise para ver las opciones. Dentro de Substitution Model, elija: Substitution Type = Nucleotide y

Model/Method = p-distance. Compute. Los resultados aparecerán en una tabla en una nueva ventana. No la cierre y guárdela. Para guardar la tabla: File = Export/Print Distance.

2.3. Volver a calcular la distancia, pero esta vez, usar la opción de Model/Method: Kimura-2-parameter y computar. Guardar la tabla.

2.4. Comparar los resultados de ambos cálculos. ¿Cuáles distancias son mayores? ¿Por qué? Anotar los valores de las distancias (p y K-2p) entre *Nuphar* y *Pinus* y entre *Nuphar* y el alga carofícea que seleccionaron anteriormente.

2.5. Ahora compararemos las distancias entre las secuencias de amino ácidos del gen. Seleccionar del Menu Principal: Distances—Compute Pair-wise para ver las opciones. Dentro de Substitution Model, elija: Substitution Type = Amino Acid y Model/Method = p-distance. Compute. Observar los resultados en la nueva ventana. Guardarla.

2.6. Luego repetir el cómputo pero con Model/Method = JTT. Guardar

2.7. Comparar los resultados de ambos cálculos. ¿Cuáles distancias son mayores? ¿Por qué? Anotar los valores de las distancias entre aa (p y JTT) entre *Nuphar* y *Pinus* y entre *Nuphar* y el alga carofícea que seleccionaron anteriormente. ¿Cómo se comparan estos valores con las diferencias de nucleótidos (p y K2P)? ¿Por qué son distintos?

### **Actividad 3:** Visualización y manipulación de árboles en FigTree.

La forma de archivo más común es Newick. Leer el archivo llamado “Newick tree format.pdf”.

A partir del siguiente árbol, realice las actividades sugeridas:  
`((B,((A,C),E)),D);`

3.1. Dibujar el árbol en papel. ¿Lo dibujó enraizado o sin enraizar? ¿Por qué? Dibújelo de ambas formas.

3.2. Copiar el árbol en formato Newick en el Block de Notas. Guardar el archivo como: testtree.tre

3.3. Abrir el archivo utilizando el programa Figtree. ¿El árbol resultó igual al que había dibujado? Guarde el árbol, para ello: File: Export PDF y llámelo testtree1.pdf.

3.4. Utilizando el programa Figtree, cambie la ubicación de la raíz a la especie E, (seleccione la especie y presione el botón Reroot de la barra de herramientas) y rote la rama que une A y C (seleccione la rama y presione el botón Rotate). Note que el árbol sin enraizar y con o sin las rotaciones es siempre el mismo. Guarde el archivo como testtree2.pdf.