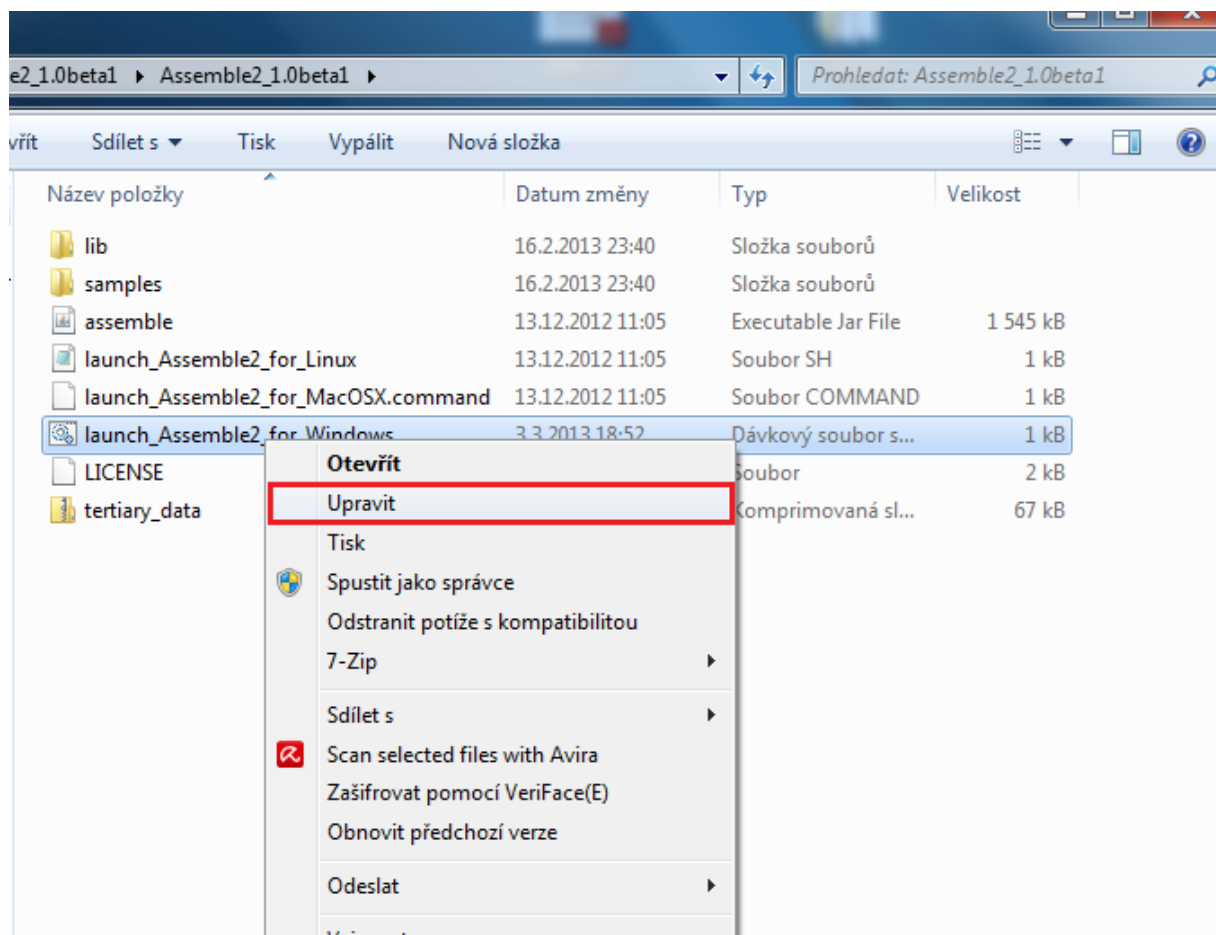


### C3 – Struktura nukleových kyselin – studijní materiál Assemble2

Ahoj všichni vibušníci, kteří právě čtete tento návod, jak pracovat s programem Assemble2, a také jak vyřešit některé problémy, které vás mohou potkat. Nebudeme chodit kolem horké kaše a půjdeme rovnou na věc.

Stáhnout si balík s programem a rozbalit ho, předpokládám, že každý zvládne. Dalším krokem pro uživatele Windows je upravit cestu k Java ve spouštěčím souboru. Pravým tlačítkem kliknete na soubor „launch\_Assemble2\_for\_Windows“ a zvolíte „upravit“ (tedy aspoň takto to funguje ve Windows 7), případně „otevřít pomocí“ -> poznámkový blok.

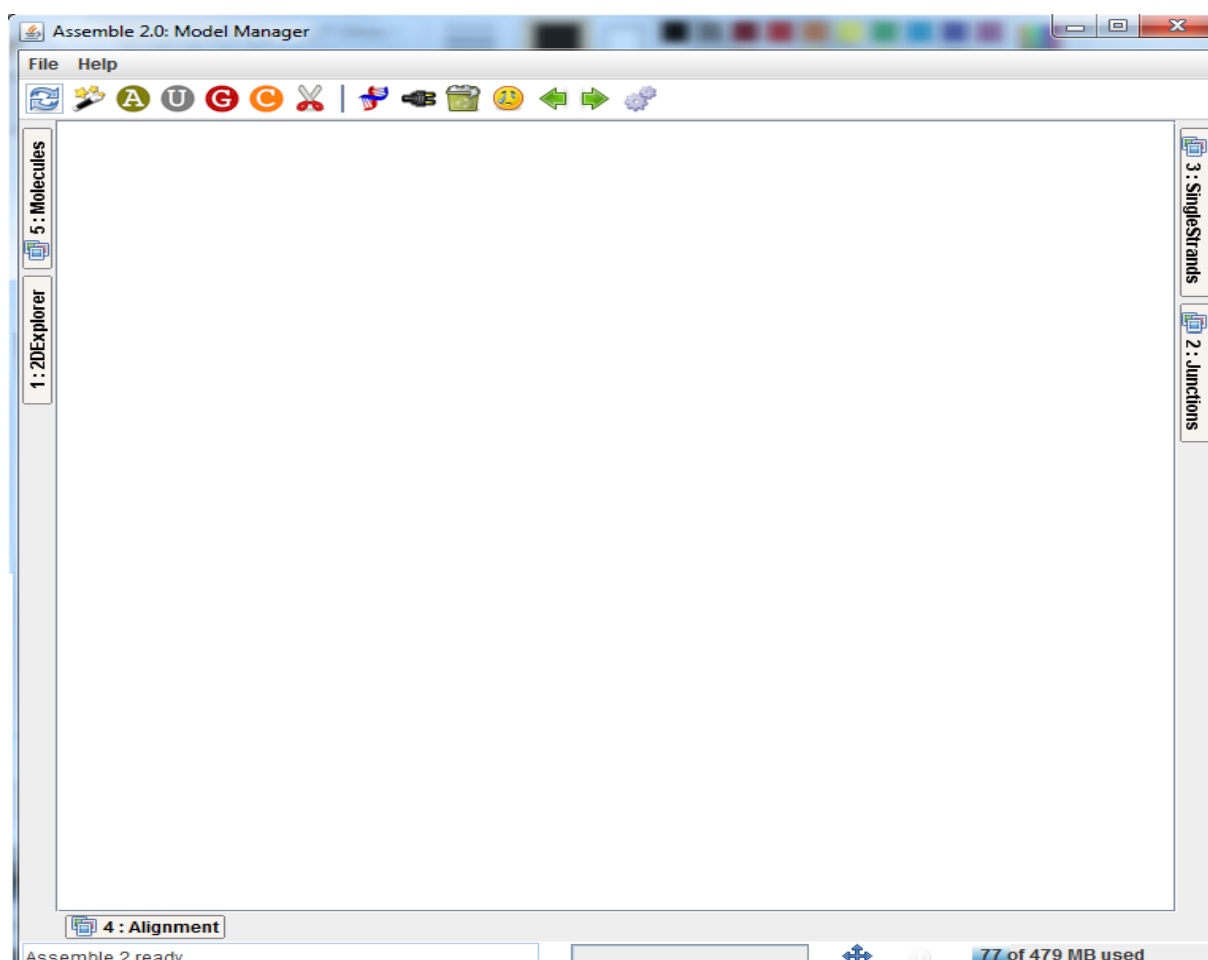


V tomto souboru upravíte cestu k Java. Pozor! Musíte mít k dispozici Javu 6 (nebo 5), v Jave 7 vám nebude Assemble2 vůbec fungovat. Javu 6 si můžete stáhnout na stránce [http://www.java.com/en/download/manual\\_v6.jsp](http://www.java.com/en/download/manual_v6.jsp). Nejčastější dvě cesty jsou C:\Program Files\Java\jre6\ nebo C:\Program Files (x86)\Java\jre6\ podle toho, jestli používáte 64 nebo 32-bitovou verzi. Důležité je, aby cesta byla v uvozovkách.

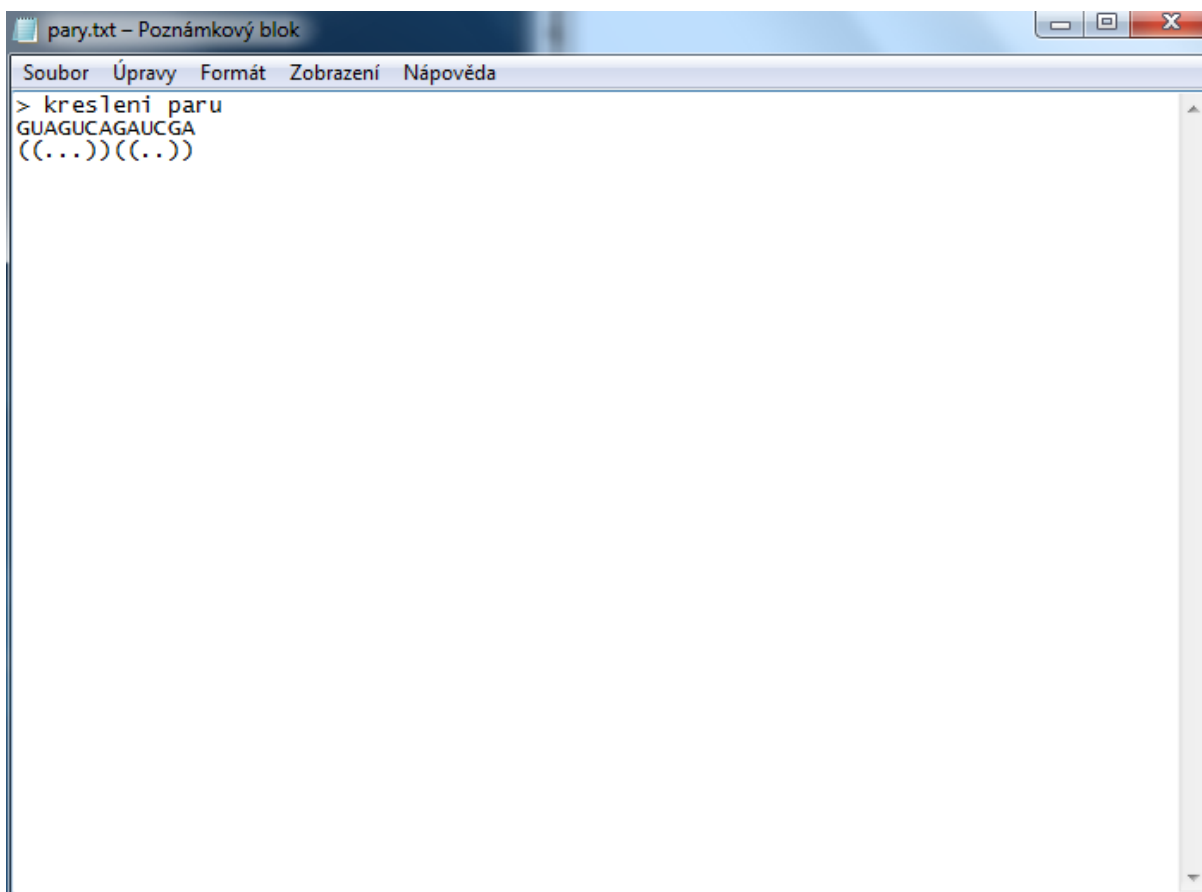
```
launch_Assemble2_for_Windows - Poznámkový blok
Soubor Úpravy Formát Zobrazení Nápověda
@echo off
:define here the location of your java environment
set JAVA_HOME='C:\Program Files\Java\jre6\'
if exist assemble.jar_tmp GOTO update
%JAVA_HOME%bin\java -Xms500M -Xmx500M -jar assemble.jar start
exit
:Update
%JAVA_HOME%bin\java -jar updater.jar
```

Upravený soubor uložte a doufejte, že vše bude fungovat správně ☺.

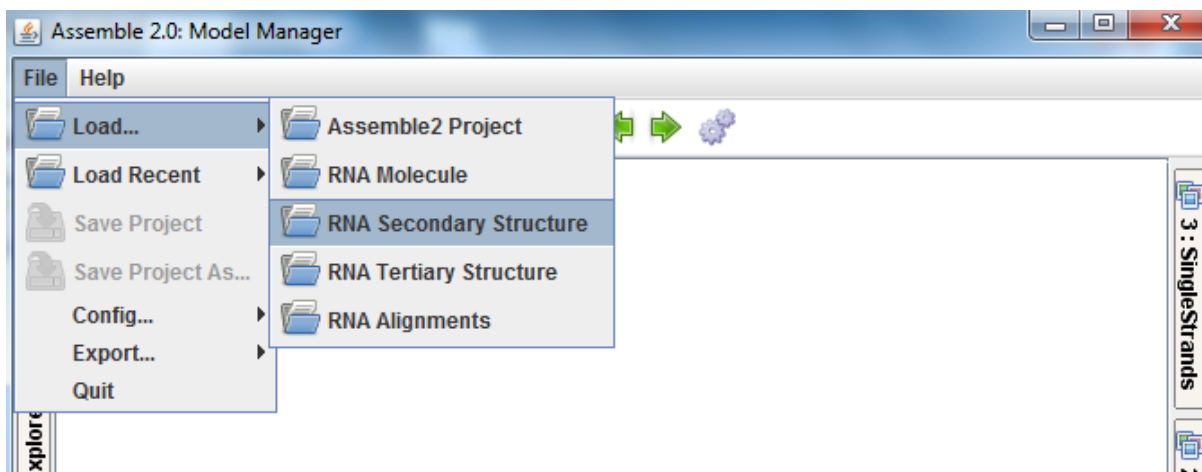
Po překonání nudného stahování a upravování se vám snad podaří tento soubor úspěšně spustit. Objeví se černé okno, které bude chvíli chroustat, načež se konečně objeví pracovní okno. Program bude vyžadovat cestu k programu Chimera, ale pokud ji nemáte nainstalovanou, tak to nemusíte řešit a něco tam můžete nařukat. Poté se objeví pracovní okno.

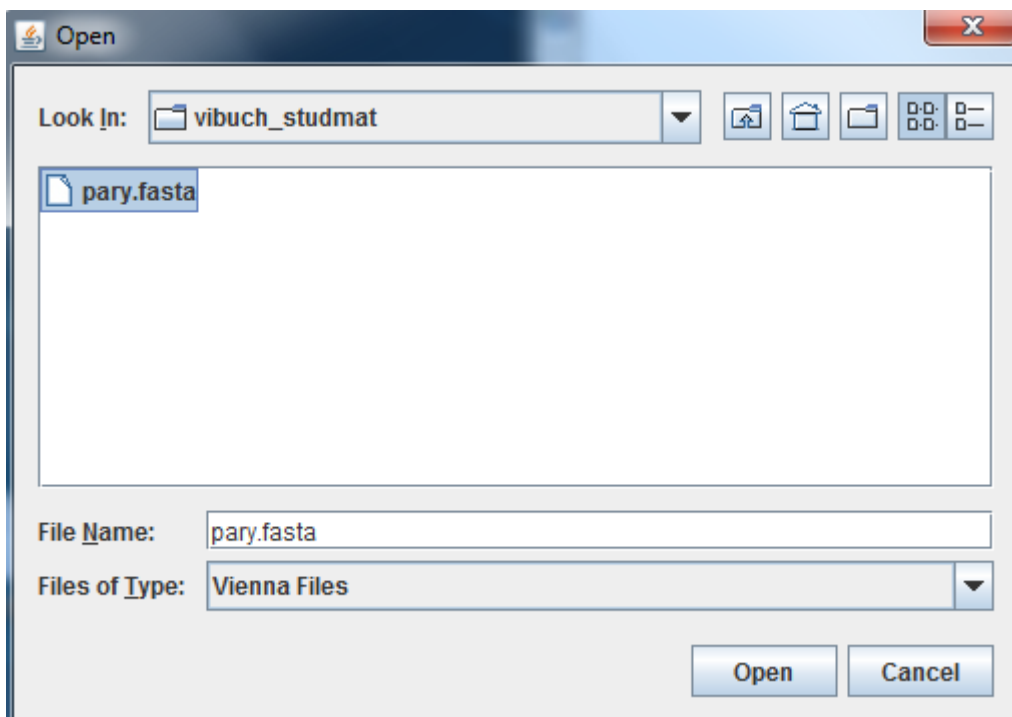


Nyní si vytvoříme pracovní molekulu ve VIENNA formátu, kterou pak budeme schopni načíst do Assemble2. Vytvoříme nový soubor v poznámkovém bloku. Na prvním řádku je komentář. Druhý řádek obsahuje informaci o sekvenci nukleotidů ve standardním směru od 5 ke 3 konci. Třetí řádek nese informace o párování nukleotidů. Závorky znamenají kanonické WC párování. Párují se spolu nukleotidy, které mají odpovídající si otevření a uzavření závorky, počítáno od vnitřních závorek. Tečky nám slouží pro počáteční označení všech ostatních nukleotidů, tedy nejen těch, co se nepárují vůbec, ale i těch, které se párují jinak než pomocí WC/WC interakcí. Soubor uložte s koncovkou „.fasta“, například jako „pary.fasta“.

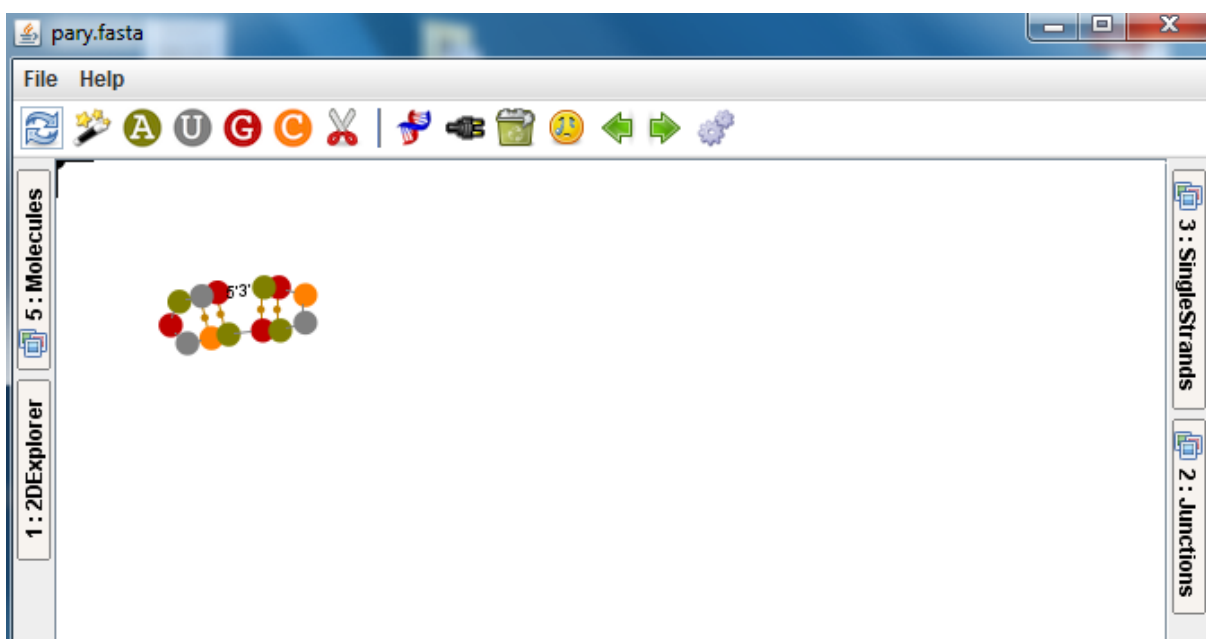


Uloženou molekulu načteme do Assemble2 jako RNA secondary structure.





Pokud jste vytvořili molekulu bez chyby a jste připojeni na Internet, objeví se vám její 2D mapka.

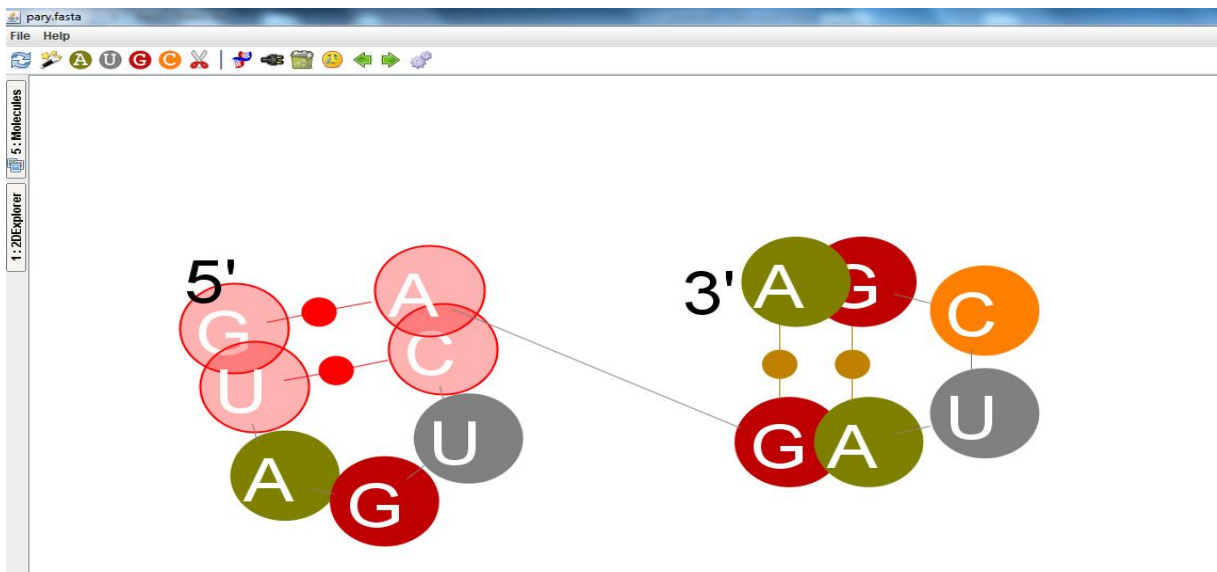


Častou chybou je špatný počet závorek, pak se vám nic nenačte. Kdyby se vám to stalo, hledejte jako první ve svém souboru s molekulou ve VIENNA formátu.

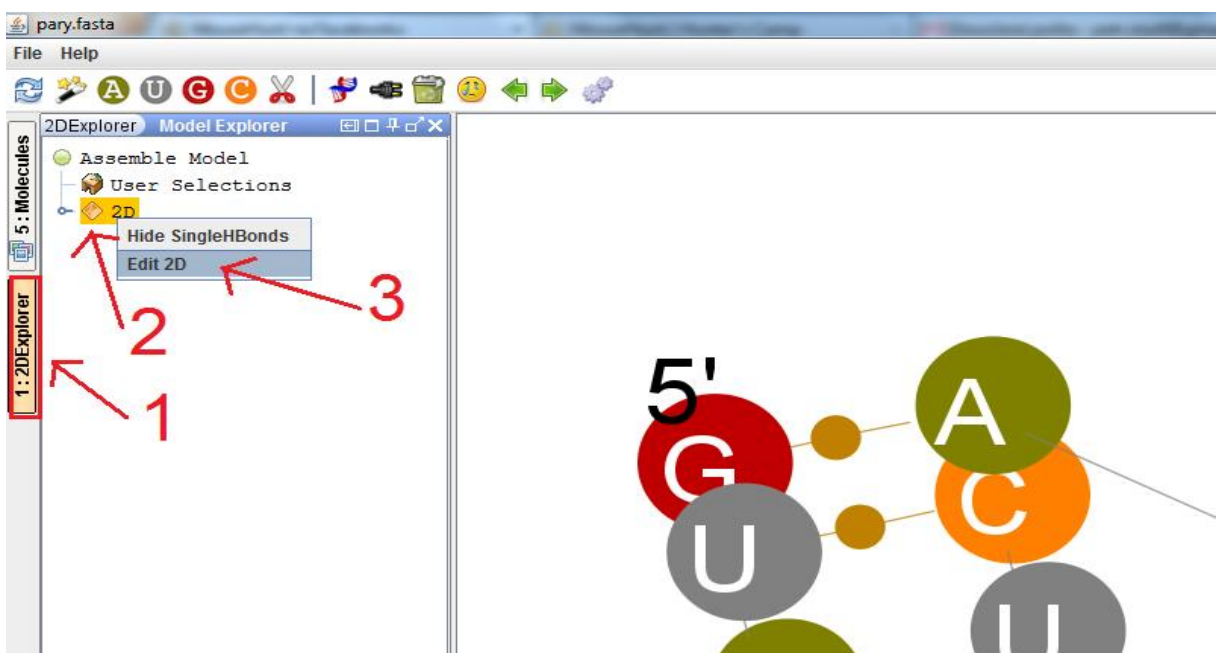
Nově načtená molekula není příliš zvětšená, a proto v ní nevidíme písmena bází, jen barvu, která je ekvivalentní barvě báze v horní liště. Molekulu můžeme přiblížit i oddálit kolečkem myši a posouvat ji pomocí pravého tlačítka myši. Posouvání a zvětšování je jistě užitečná věc, ale nám by se hodilo i něco více. Budeme chtít posouvat a rotovat jednotlivými úseky molekul a editovat páry bází. Prvním krokem je označení nukleotidů. K tomu slouží levé tlačítko myši. Kliknutím na nukleotid se označí (růžově). Když na něj klikneme ještě jednou, označí se i nukleotid, který je s naším

v spárování, pokud pár není, označí se celá smyčka. A pokud klikneme potřetí, označí se celý helix, kde se náš nukleotid nachází. Označení nukleotidů lze provést i tak, že na nukleotid klikneme levým tlačítkem a současně držíme klávesu „Alt“ nebo „Ctrl“. Tento postup je nutný použít v případě označení více nezávislých nukleotidů. Označení zrušíme dvojklikem mimo molekulu. Části molekul se pohybují a rotují jen pomocí celých helixů.

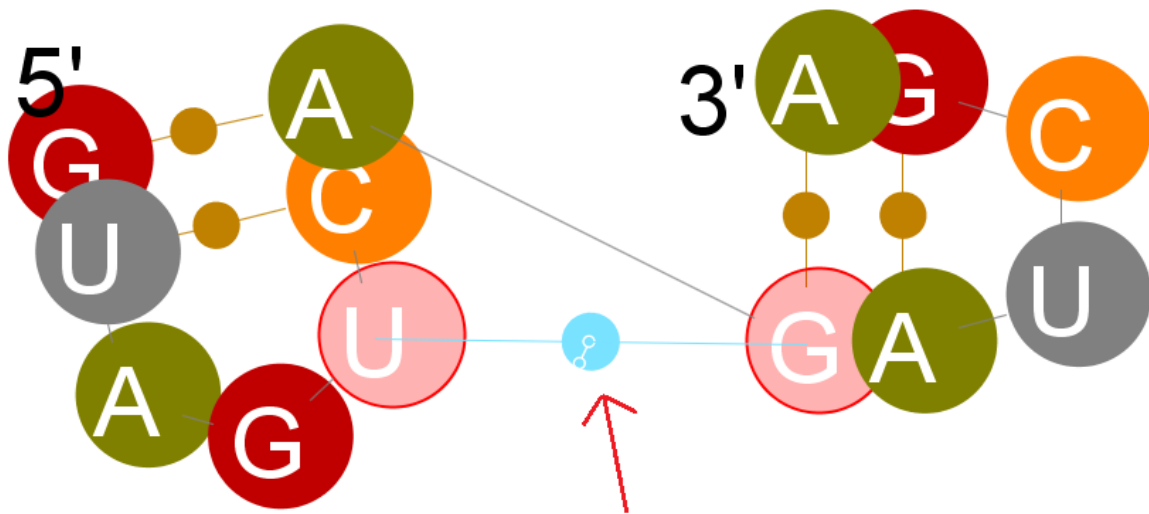
Označíme si tedy trojklikem jeden helix. Rotaci provedeme tak, že držíme Alt nebo Ctrl a levé tlačítko myši a pohybujeme myší. Rotace je občas až příliš citlivá na pohyb myši, proto se neleknete toho, že se vám bude helix točit jak v centrifuze. Posunování se provádí s tím rozdílem, že místo levého tlačítka máme stlačené pravé tlačítko. Trochu cviku a po chvíli budete vše hravě ovládat.



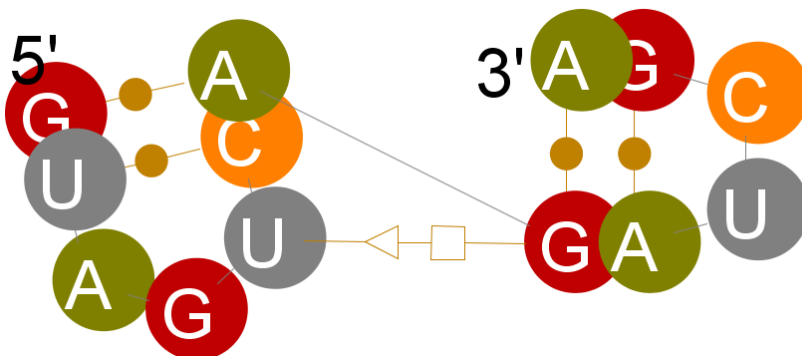
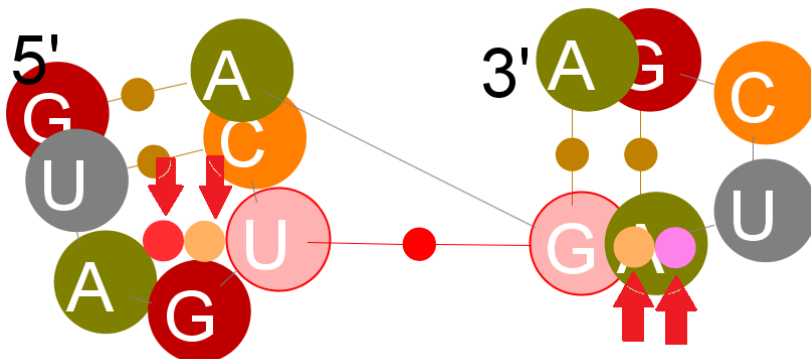
Vrcholem naší práce bude dokreslování interakcí. V liště u levého okraje klikněte na „1 : 2DExplorer“. Objeví se okno, kde pravým tlačítkem kliknete na „2D“ a v objevivší se nabídce levým kliknete na „Edit 2D“.



Vybereme dva libovolné nukleotidy (pomocí klávesy Alt), mezi nimi se objeví modré kolečko, na které klikneme, tedy pokud chceme mezi danými dvěma nukleotidy nakreslit interakci.



Objeví se čtveřice dalších kruhů, jejichž funkce je následující. Klikáním na béžové kolečko u nukleotidů se mění interagující hrana daného nukleotidu, střídá se tedy kolečko, čtverec a trojúhelník. Fialové kolečko vpravo slouží k přepínání mezi *cis* a *trans* páry bází. Červené kolečko vlevo slouží ke smazání interakce mezi nukleotidy.



A to je vše. Všechny úkoly byste měli zvládnout vyřešit, pokud zvládnete úkony v tomto návodu. Pro vyřešení posledního úkolu budete navíc potřebovat vizualizační program, například VMD, pro který je návod v minulém studijním materiálu. Assemble2 nabízí spoustu dalších užitečných funkcí, ale pro nás již nejsou potřeba. Zájemce odkazuji na oficiální dokumentaci k programu, na nějž jsem odkazoval i v textu úlohy. Assemble2 samozřejmě není bez chyb, ale doufám, že ty neovlivní vaši práci, do které vám přeji hodně zdaru.