

I. PENGENALAN NATIONAL CENTRE FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION (NCBI)

A. PENDAHULUAN

NCBI (*National Centre for Biotechnology Information*) merupakan suatu institusi yang menyediakan sumber informasi terkait perkembangan biologi molekuler. NCBI membuat database yang dapat diakses oleh publik dan mengembangkan software penganalisis data genom. Situs NCBI dapat di akses pada : www.ncbi.nlm.nih.gov.

Databases and Software

1. Entrez

Entrez merupakan sistem pencarian informasi dalam NCBI yang menyediakan akses terintegrasi untuk melakukan sekensing, pemetaan (*mapping*), taksonomi dan data struktural. Entrez juga menyediakan gambaran grafis untuk mapping sekuen dan kromosom. Ciri khas dan keunggulan Entrez adalah kemampuan untuk pencarian informasi terkait sekuen, struktur dan referensi. Literatur jurnal yang tersedia dapat diakses melalui PubMed. PubMed merupakan alat penghubung pencarian di web yang menyediakan akses ke lebih dari 11 juta sitasi jurnal di MEDLINE. Entrez Gene adapat diakses pada www.ncbi.nlm.nih.gov/gene.

2. Nucleotide Database

Database nukleotida merupakan suatu koleksi sekuen dari beberapa sumber, termasuk diantaranya GenBank, Reference Sequence (RefSeq), Third Party Annotation (TPA) dan Protein Data Bank (PDB).

a. GenBank

GenBank merupakan database sekuen genetik dari NIH (*National Institutes of Health*), berupa koleksi sekuen DNA yang dapat diketahui oleh publik. Database GenBank dibiayai dan didistribusikan oleh NCBI. Data sekuen dikirim ke GenBank oleh peneliti dari seluruh dunia.

NCBI

GenBank Overview

PubMed Entrez BLAST OMIM Books Taxonomy Structure

Search for

[NCBI Home](#)
[NCBI Site Map](#)
[Submit to GenBank](#)
[Submit an update](#)
[Search GenBank](#)
[GenBank and RefSeq: a comparison](#)
[BLAST](#)

► **What is GenBank?**

GenBank® is the NIH genetic sequence database, an annotated collection of all publicly available DNA sequences ([Nucleic Acids Research, 2008 Jan;36\(Database issue\):D25-30](#)). There are approximately 106,533,156,756 bases in 108,431,692 sequence records in the traditional GenBank divisions and 148,165,117,763 bases in 48,443,067 sequence records in the WGS division as of August 2009.

The complete [release notes](#) for the current version of GenBank are available on the NCBI ftp site. A new release is made every two months. GenBank is part of the [International Nucleotide Sequence Database Collaboration](#), which comprises the DNA DataBank of Japan (DDBJ), the European Molecular Biology Laboratory (EMBL), and GenBank at NCBI. These three organizations exchange data on a daily basis.

Format GenBank disajikan pada gambar dibawah ini :

[Display Settings:](#) GenBank

Pyrococcus woesei beta-galactosidase gene, complete cds

GenBank: AF043283.1
[FASTA](#) [Graphics](#)

[Features](#) [Sequence](#)

LOCUS	AF043283	1533 bp	DNA	linear	BCT 25-MAY-2001
DEFINITION	Pyrococcus woesei beta-galactosidase gene, complete cds.				
ACCESSION	AF043283				
VERSION	AF043283.1 GI:2811285				
KEYWORDS	.				
SOURCE	Pyrococcus woesei				
ORGANISM	Pyrococcus woesei Archaea; Euryarchaeota; Thermococci; Thermococcales; Thermococcaceae; Pyrococcus.				
REFERENCE	1 (bases 1 to 1533)				
AUTHORS	Daabrowski,S., Sobiewska,G., Maciunska,J., Synowiecki,J. and Kur,J.				
TITLE	Cloning, expression, and purification of the His(6)-tagged thermostable beta-galactosidase from Pyrococcus woesei in Escherichia coli and some properties of the isolated enzyme				
JOURNAL	Protein Expr. Purif. 19 (1), 107-112 (2000)				
PUBMED	10833397				
REFERENCE	2 (bases 1 to 1533)				
AUTHORS	Dabrowski,S., Maciunska,J. and Synowiecki,J.				
TITLE	Direct Submission				
JOURNAL	Submitted (16-JAN-1998) Food Preservation, Technical University of Gdansk, Narutowicza 11/12, Gdansk 80-952, Poland				

FEATURES	Location/Qualifiers
source	1..1533 /organism="Pyrococcus woesei" /mol_type="genomic DNA" /strain="DSM3773" /db_xref="taxon: 2262 "
CDS	1..1533 /codon_start=1 /transl_table= 11 /product="beta-galactosidase" /protein_id=" AAB97862.1 " /db_xref="GI:2811286" /translation="MFPEKFLWGVAQSGFQFEMGDKLRRNIDTNTDWHHWVRDKNIE KGLVSGDLPEEGINNNYELYEKDHEIARKLGLNAYRIGIEWSRIFPWPTTFIDVDYNSYN ESYNLIEDVKITKDTLEELDEIANKREVAYYRSVINSLRSKGFKVIVNLNHFTLPYWL HDPIEARERALTMKRNGWVNPRTVIEFAKYAAIYAKFGDIVDMWSTFNEPMVVVELG YLAPYSGFPVGVLNPAAKLLAIHLHMNAHALAYRQIKKFDTEKADKDSKEPAEVGIIY NNIGVAYPKDPNDSKDVKAAEENDNFFHSGLFFEAHKGKLNIEFDGETFIDAPYLGN DWIGVNYYTREVVTYQEPMFPSIPLITFKGVQGYGYACRPGTLSKDDRPVSDIGWELY PEGMYDSIVEAHKYGVPVYVTENGIADSKIDL RPYYIA SHIKMTEKA FEDGYEVKGYF HWALT DNF EWALGFRMRFGLYEVNLITKERIPREKSVSISFREIVANNGVTKKIEELL RG"
Amino acid sequence	{
Start codon	
ORIGIN	1 atgttccctg aaaagttcct ttggggtgtg gcacaatcg gtttcagtt tgaaatgggg 61 gataaactca ggaggaatat tgacactaac actgatttgtt ggcactgggt aagggataag 121 acaaataatag agaaaggcct cgttagtgga gatcttcggc aggaggggat taacaattac 181 gagctttatg agaagagacca tgagattgca agaaagctgg gtcttaatgc ttacagaata 241 ggcatacagt ggagcagaatttccatgg ccaacgcac ttattgtatgt tgattatagc 301 tataatgaat catataacacct tatagaagatgtt gtaaatgc ccaaggacac ttggaggag 361 tttagatgaga tcgccaacaa gaggggggttgc ctactataa ggtcgtcat aaacagcctg 421 aggagcaagg ggtttaaggat tatagttat ctaaatcact tcacccttcc atattggttt 481 catgatccca ttgaggctag ggagagggcg ttaactaata agaggaacgg ctgggttaac 541 ccaagaacac ttatacgtt tgccaaatgtt gccccttataa tagccataaa gttggagat 601 atagtggata tggggagcac gtttaatgat cctatgggg ttgttggatgt tggctaccta 661 gccccctact ctggcttcccc tccagggggtt ctaaatccat agggcccaaa gctggcgata 721 cttcacatga taaatgcaca tgctttatgt tataggcaga taaagaaggat tgacactgag 781 aaagctgata aggattctaa agagcctgca gaagttggta taatttacaa caacattgg 841 gttgcttatac ccaaggatcc gaacgattcc aaggatgtt aaggcagcaga aaacgacaac 901 ttcttccact caggctgtt ctcgaggcc atacacaaag gaaaacttaa tatagagttt 961 gacgggtaaaa cgtttataga tgccccctat ctaaaaggca atgactggat aggggttaat 1021 tactacacaa gggaaatgt tacgtatcg gaaccaatgt ttccctcaat cccgctgatc 1081 acctttaagg gagttcaagg atatggctat gcctgcagac ctgggactct gtcaccaaggat 1141 gacagacccg tcagcgcacat agatggaa ctctatccat aggggatgtt cgattcaata 1201 gttgaagtc acaagtacgg cgttccagg tacgtgacgg agaaccggat agcggattca 1261 aaggacatcc taagacctta ctacatagcg agccacataa agatgacaga gaaggccctt 1321 gaggatgggtt atgaatgtt gggctacttc cactgggttacactgacaa ctccgagtgg 1381 gctctcggtt ttagaatgcg ctttggccctc tacgaatgtt acctaattac aaaggagaga 1441 attccccaggg agaagagcgt gtcgatattc agagagatag tagccataaa tggtgttacg 1501 aaaaagattt aagaggaattt gctgaggggat tga
//	Stop codon

3. Blast

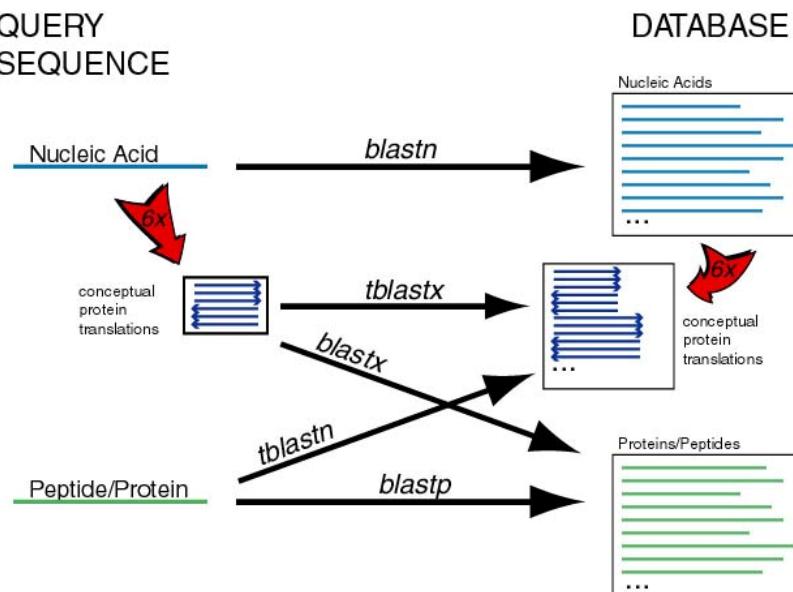
BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*) merupakan suatu program untuk pencarian kemiripan sekuen (*sequence similarity*) dan merupakan alat dalam identifikasi gen dan karakter genetik. Blast dapat melakukan pencarian sekuen melalui perbandingan

dengan database DNA dalam waktu singkat (kurang dari 15 detik). Keterangan lengkap mengenai program BLAST dapat dilihat pada :
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/producttable.shtml#>

Ada 5 program utama dalam BLAST, yaitu :

- a. **nucleotide blast (blastn)** : membandingkan suatu sekuen nukleotida meragukan (*query sequence*) yang kita miliki dengan database sekuen nukleotida.
- b. **protein blast (blastp)** : membandingkan suatu sekuen asam amino yang kita miliki dengan database sekuen protein.
- c. **blastx** : membandingkan produk translasi konsep 6-frame sebuah sekuen nukleotida (translated nucleotide) yang kita miliki dengan database sekuen protein.
- d. **tblastn** : membandingkan suatu sekuen protein yang kita miliki dengan database sekuen nukleotida yang secara dinamis ditranslasi pada semua pembacaan 6 frame.
- e. **tblastx** : membandingkan suatu translasi 6 frame dari nukleotida.

Gambaran mengenai program Blast dapat dilihat pada gambar berikut ini :



HOMOLOGI PROTEIN

Protein merupakan polipeptida yang tersusun atas asam amino. Sekuens asam amino dari masing-masing protein ditentukan oleh gen yang meng-kodenya. Gen ditranskripsi menjadi mRNA dan selanjutnya mRNA ditranslasikan menjadi protein oleh ribosom. Urutan basa yang berbeda pada mRNA akan menghasilkan asam amino yang berbeda. Beberapa organisme dapat memiliki jenis protein yang sama. Sebagai contoh, hormon insulin terdapat pada manusia, babi, sapi dan beberapa hewan mamalia lainnya. Fungsi insulin pada masing-masing organisme tersebut adalah sama, yaitu mengubah glukosa menjadi glikogen sehingga kadar gula darah dapat terkontrol. Namun demikian, ternyata insulin pada masing-masing organisme memiliki struktur primer yang berbeda karena adanya perbedaan beberapa sekuen asam amino.

Oleh sebab itu diperlukan penelitian mengenai homologi protein antar-organisme sehingga dapat dibandingkan kemiripan asam amino yang menyusun protein. Melalui program *blastp* pada situs NCBI dapat dilakukan pencarian protein homolog dari berbagai macam organisme. Homologi bukan berarti sama persis, namun terdapat kemiripan antara satu dengan yang lainnya dengan persentase kemiripan tertentu. Untuk tujuan terapi, misalnya diinginkan suatu protein pengganti dari hewan tertentu, tentu akan dipilih protein yang memiliki persen kemiripan yang paling tinggi dengan protein yang kita miliki, sehingga diharapkan reaksi alergi tidak terjadi. Dalam bidang enzimologi, homologi protein diperlukan untuk mengetahui kemiripan sekuen asam amino suatu enzym yang dihasilkan oleh suatu organisme dibandingkan dengan organisme lain.

ACARA 1. ANALISIS HOMOLOGI SEKUEN NUKLEOTIDA DAN PROTEIN

TUJUAN

1. Mahasiswa mampu memahami dan menggunakan program Blastn untuk identifikasi sekuen nukleotida melalui database Genbank
2. Mahasiswa dapat melakukan analisis homologi suatu protein dari organisme tertentu dengan organisme lain menggunakan database Genbank menggunakan Blastp.

LANGKAH KERJA

a. Blastn

Blastn dapat digunakan untuk mengidentifikasi suatu sekuen nukleotida menggunakan (*query sequence*) yang kita miliki dengan database nukleotida, sehingga output yang didapat berupa identitas nukleotida tersebut, antara lain nama gen dan spesies penghasil dari sekuen lengkapnya.

1. Buka situs www.ncbi.nlm.nih.gov

The screenshot shows the NCBI (National Center for Biotechnology Information) homepage. At the top, there is a search bar with a dropdown menu set to "All Databases" and a search button. Below the search bar, the NCBI logo and the text "National Center for Biotechnology Information" are visible. On the left, a green sidebar titled "Resources" lists various categories such as NCBI Home, All Resources (A-Z), Chemicals & Bioassays, Data & Software, DNA & RNA, Domains & Structures, Genes & Expression, Genetics & Medicine, Genomes & Maps, Homology, Literature, Proteins, Sequence Analysis, Taxonomy, Training & Tutorials, and Variation. In the center, the "Welcome to NCBI" section features a banner for "PubMed Central" with the text "Free Full Text. Over 1,500,000 articles from over 450 journals. Linked to PubMed and fully searchable." Below this, there is a "How To..." section with a list of tips and a "See all ..." link. On the right, a "Popular Resources" sidebar contains links to BLAST (which is highlighted with a red box and an orange arrow), Gene, Genome, Nucleotide, OMIM, Protein, PubChem, PubMed, PubMed Central, and SNP. Below this, there is a "NCBI News" section with links to news articles. The overall layout is clean and organized, providing quick access to various biological databases and resources.

2. Pilih tool "BLAST", akan muncul tampilan pilihan program BLAST.

Untuk mencari gen suatu sekuen nukleotida dari database nukleotida pilih "nucleotide blast" (blastn).

The screenshot shows the NCBI BLAST homepage. At the top, there's a navigation bar with links for Home, Recent Results, Saved Strategies, and Help. Below the navigation bar, a banner reads "BLAST finds regions of similarity between biological sequences." A red box highlights the "nucleotide blast" link. Another red box highlights the "protein blast" link. To the right, there are lists of species for both nucleotide and protein databases. Under "Basic BLAST", there's a section for choosing a program to run, with options like "nucleotide blast", "protein blast", "blastx", "tblastn", and "tblastx".

Species Database	Program Options
Nucleotide Database	nucleotide blast, protein blast, blastx, tblastn, tblastx
Protein Database	nucleotide blast, protein blast, blastx, tblastn, tblastx
Microbes	nucleotide blast, protein blast, blastx, tblastn, tblastx

3. Setelah tampilan muncul, entri sekuen nukleotida (query) yang akan dicari; pilih setting pencarian dari database "others" (jika belum diketahui spesiesnya); pilih program "megablast"; klik "BLAST" untuk memulai proses searching.

Pada latihan/contoh digunakan sekuen nukleotida DNA berikut :

```
ATGTTCCCTGAAAAGTCCTTGGGTGTGGCACAATCGGGTTTCAGTTGAAATGGGGATAAACTCA
GGAGGAATATTGACACTAACACTGATTGGCAGCTGGTAAGGGATAAGACAATATAGAGAAAGGCCT
CGTTAGTGGAGATCTCCGAGGAGGGATTAACAATTACGAGCTTATGAGAAGGACCATGAGATTGCA
AGAAAGCTGGTCTTAATGCTTACAGAATAGGCATAGAGTGGAGCAGAATATTCCCATGGCCAACGACAT
TTATTGATGTTGATTATAGCTATAATGAATCATATAACCTTATAGAAGATGAAAGATCACCAAGGACAC
TTGGAGGAGTTAGATGAGATGCCAACAGAGGGAGGTGGCTACTATAGGTCAAGTCATAAACAGCCTG
AGGAGCAAGGGTTAACGGTTAGTTAAGGTTATAGTTAACACTAACCTCACCCTCCATATTGGTTGCATGATCCCA
TTGAGGCTAGGGAGAGGGCGTTAACTAATAAGAGGAACGGCTGGGTTAAC
```

blastn blastp blastx tblastn tblastx

Enter Query Sequence

Enter accession number, gi, or FASTA sequence

Or, upload file Browse...

Job Title AF043283:Pyrococcus woesei beta-galactosidase...

Align two or more sequences

Choose Search Set

Database Human genomic + transcript Mouse genomic + transcript Others (nr etc.): **Nucleotide collection (nr/nt)**

Organism Optional Exclude

Exclude Optional Models (XM/XP) Uncultured/environmental sample sequences

Entrez Query Optional Enter an Entrez query to limit search

Program Selection

Optimize for Highly similar sequences (megablast) More dissimilar sequences (discontiguous megablast) Somewhat similar sequences (blastn)
Choose a BLAST algorithm

BLAST

Search database Nucleotide collection (nr/nt) using Megablast (Optimize for highly similar sequences)

Show results in a new window

4. Hasil searching / pencarian akan didapat tampilan seperti berikut :

Nucleotide Sequence (440 letters)

Query ID	Id 64235	Database Name	nr
Description	None	Description	All GenBank+EMBL+DDBJ+PDB sequences (but no EST, STS, GSS,environmental samples or phase 0, 1 or 2 HTGS sequences)
Molecule type	nucleic acid	Program	BLASTN 2.2.24+ Citation
Query Length	440	Other reports: Search Summary Taxonomy reports Distance tree of results	

▼ Graphic Summary

Distribution of 4 Blast Hits on the Query Sequence

Color key for alignment scores

Query	<40	40-50	50-80	80-200	>=200
1	80	160	240	320	400

▼ Descriptions

Legend for links to other resources: Unigene GEO Gene Structure Map Viewer PubChem BioAssay

Sequences producing significant alignments:

Accession	Description	Max score	Total score	Query coverage	E value	Max ident	Links
AE009950.1	Pyrococcus furiosus DSM 3638, complete genome	813	813	100%	0.0	100%	
AF043283.1	Pyrococcus woesei beta-galactosidase gene, complete cds	813	813	100%	0.0	100%	
U60214.1	Pyrococcus furiosus beta-mannosidase (bmnA) gene, complete cds	813	813	100%	0.0	100%	
EU294509.1	Uncultured bacterium clone pWTSA beta-galactosidase gene, complete cds	272	272	95%	1e-69	78%	

```

>gb|AF043280.1|AF043280 Pyrococcus woesei beta-galactosidase gene, complete cds
Length=1533

Score = 998 bits (540), Expect = 0.0
Identities = 540/540 (100%), Gaps = 0/540 (0%)
Strand=Plus/Plus

Query  1      ATGTTCCCTGAAAAGTTCCTTGGGTGTGGCACAAATCGGGTTTCAGTTGAAATGGGG  60
          |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||
Sbjct   1      ATGTTCCCTGAAAAGTTCCTTGGGTGTGGCACAAATCGGGTTTCAGTTGAAATGGGG  60
          |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||
Query  61     GATAAACTCAGGAGGAATTGACACTAACACTGATTGGTGGCACTGGTAAGGGATAAG  120
          |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||
Sbjct   61     GATAAACTCAGGAGGAATTGACACTAACACTGATTGGTGGCACTGGTAAGGGATAAG  120
          |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||
Query  121    ACAAAATATAGAGAAAAGGCCCTCGTTAGTGGAGATCTTCCCGAGGGGGATTAAACAATTAC 180
          |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||
Sbjct  121    ACAAAATATAGAGAAAAGGCCCTCGTTAGTGGAGATCTTCCCGAGGGGGATTAAACAATTAC 180
          |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||
Query  181     GAGCTTTATGAGAAGGACCATGAGATTGCAAGAAAAGCTGGGTCTTAATGCTTACAGAATA 240
          |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||
Sbjct  181     GAGCTTTATGAGAAGGACCATGAGATTGCAAGAAAAGCTGGGTCTTAATGCTTACAGAATA 240
          |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||
Query  241     GGCATAGAGTGGAGCAGAATTTCATGGCCAAACGACATTATTGATGTTGATTATAGC 300
          |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||
Sbjct  241     GGCATAGAGTGGAGCAGAATTTCATGGCCAAACGACATTATTGATGTTGATTATAGC 300
          |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||
Query  301     TATAATGAATCATATAACCTTATAGAAGATGTAAAGATCACCAAGGACACTTTGGAGGAG 360
          |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||
Sbjct  301     TATAATGAATCATATAACCTTATAGAAGATGTAAAGATCACCAAGGACACTTTGGAGGAG 360
          |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||
Query  361     TTAGATGAGATGCCAACAAAGAGGGAGGTGGCCTACTATAGGTCACTAAACAGCCTG 420
          |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||
Sbjct  361     TTAGATGAGATGCCAACAAAGAGGGAGGTGGCCTACTATAGGTCACTAAACAGCCTG 420
          |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||
Query  421     AGGAGCAAGGGTTTAAAGTTATAGTTAATCTAAATCACTTCACCCCTTCCATATTGGTTG 480
          |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||
Sbjct  421     AGGAGCAAGGGTTTAAAGTTATAGTTAATCTAAATCACTTCACCCCTTCCATATTGGTTG 480
          |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||
Query  481     CATGATCCCATTGAGGCTAGGGAGAGGGCGTTAACTAAATAAGAGGAACGGCTGGGTTAAC 540
          |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||
Sbjct  481     CATGATCCCATTGAGGCTAGGGAGAGGGCGTTAACTAAATAAGAGGAACGGCTGGGTTAAC 540
          |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||||  |||||

```

5. Hasil blast umumnya akan menghasilkan lebih dari satu sekuen yang bersesuaian. Pilih hasil dengan skor paling tinggi dan query coverage mendekati 100%.

Description	Max score	Total score	Query coverage	E value	Max ident
Pyrococcus furiosus DSM 3638, complete genome	998	998	100%	0.0	100%
Pyrococcus woesei beta-galactosidase gene, complete cds	998	998	100%	0.0	100%
Pyrococcus furiosus beta-mannosidase (bmnA) gene, complete cds	998	998	100%	0.0	100%
Uncultured bacterium clone pWTSA beta-galactosidase gene, complete cds	292	292	99%	1e-75	77%

6. Klik "Accession" gen terpilih (hasil blastn) untuk keterangan lebih lanjut, (nucleotide origin dan CDS-nya).

Pyrococcus woesei beta-galactosidase gene, complete cds

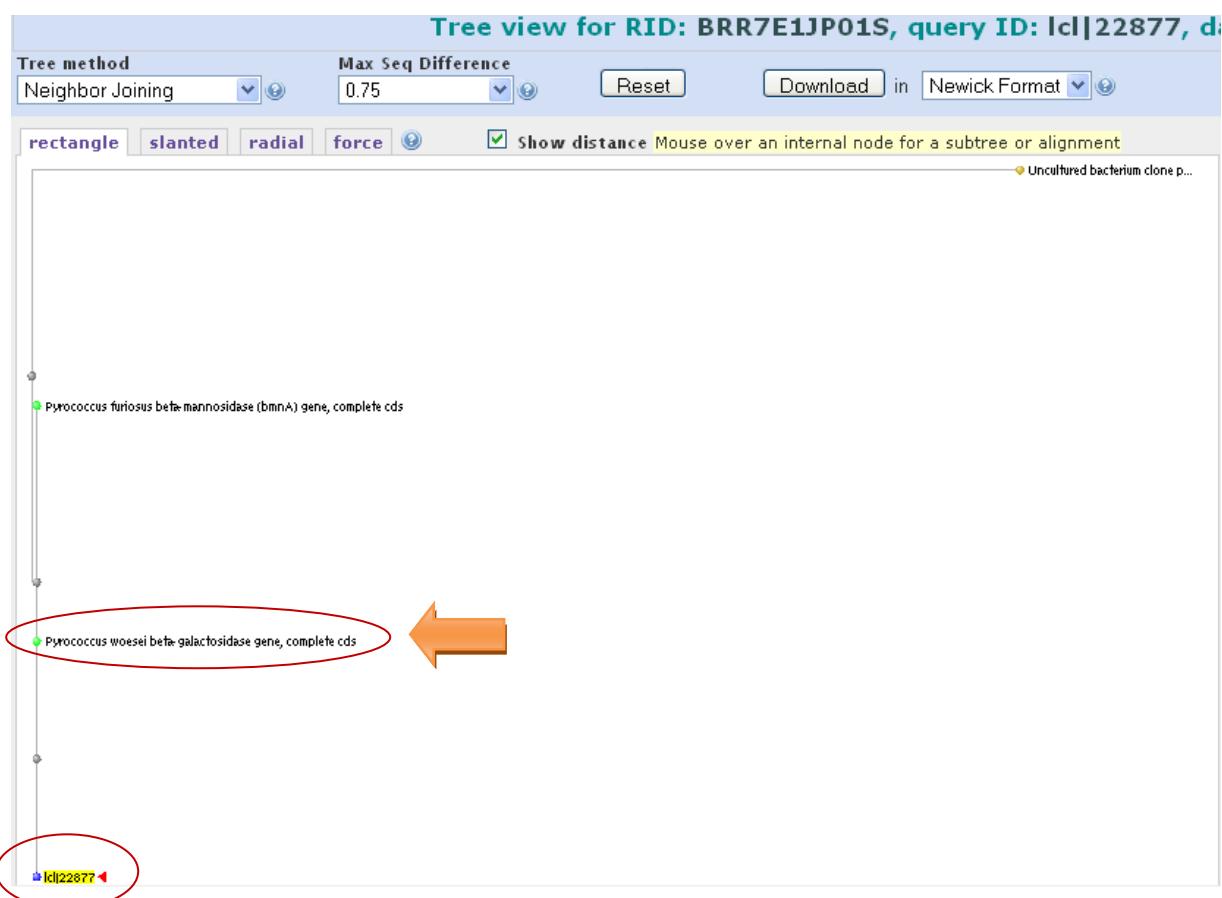
GenBank: AF043283.1

[FASTA](#) [Graphics](#)

[Features](#) [Sequence](#)

LOCUS AF043283 1533 bp DNA linear BCT 25-MAY-2001
DEFINITION Pyrococcus woesei beta-galactosidase gene, complete cds.
ACCESSION AF043283

7. Klik "Distance tree of results" Apabila ingin mengetahui phylogenetic tree antar sekuen yang didapatkan. Sebelum melakukan analisis ini, harus dipilih database sekuen yang akan dibandingkan.



b. Blastp

Blastp dapat digunakan untuk mencari protein homolog dari protein yang kita miliki.

1. Buka situs www.ncbi.nlm.nih.gov
2. Pilih tool "BLAST". Untuk mencari protein homolog dari query asam amino gunakan "protein blast" (blastp)
3. Setelah tampilan muncul, entri sekuen protein (*query*) yang akan dicari; pilih setting pencarian dari database (jika membatasi hanya ingin mencari pada spesies tertentu, ketik nama organisme); pilih program "blastp"; klik "BLAST" untuk memulai proses *searching*.

Pada latihan / contoh digunakan query sekuen protein berikut ini :

```
mfppekfkwgv aqsgfqfemg dklrrnidtn tdwwhwvrdk tniekglvsg dlpeeginny  
elyekdheia rklglnayri giewsrifpw pttfidvdys ynesynlied vkitkdtlee  
ldeiankrev ayyrsvisnl rskgfkvivn lnhtftlpwl hdpipearera ltnkrngwn  
prtviiefaky aayiaykfdg ivdmwstfnne pmvvvelgyl apysgffppgv lnpeaaklai
```

NCBI BLAST/blast suite

blastn blastp blastx tblastn tblastx

Enter Query Sequence

Enter accession number, gi, or FASTA sequence

From To

Or, upload file Browse... Job Title

Enter a descriptive title for your BLAST search

Align two or more sequences

Choose Search Set

Database Non-redundant protein sequences (nr) Exclude

Organism Enter organism common name, binomial, or tax id. Only 20 top taxa will be shown.

Exclude Models (XM/XP) Uncultured/environmental sample sequences

Entrez Query Enter an Entrez query to limit search

Program Selection

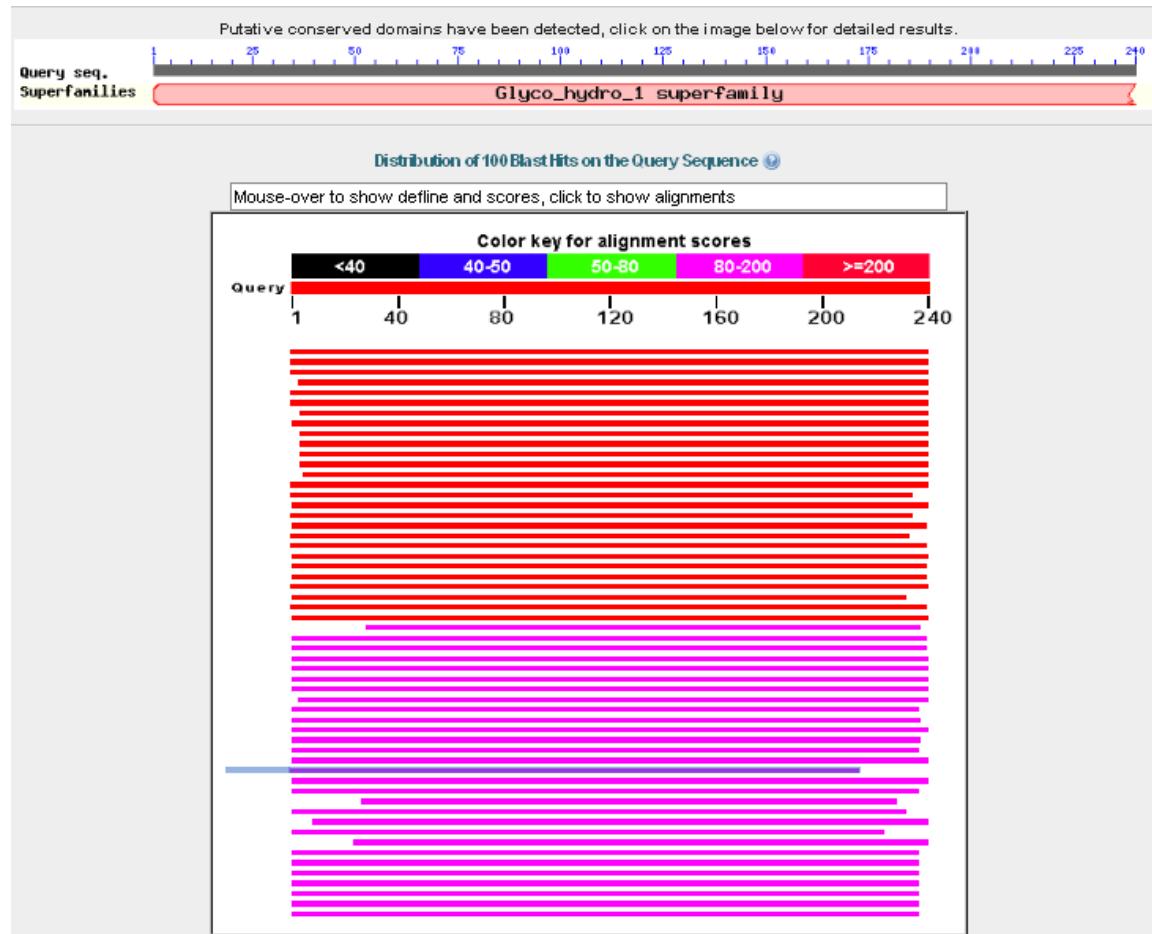
Algorithm blastp (protein-protein BLAST) PSI-BLAST (Position-Specific Iterated BLAST) PHI-BLAST (Pattern Hit Initiated BLAST)

Choose a BLAST algorithm

BLAST

Search database Non-redundant protein sequences (nr) using Blastp (protein-protein BLAST)
Show results in a new window

4. Hasil searching akan didapat tampilan seperti berikut:



Sequences producing significant alignments:

Accession	Description	Max score	Total score	Query coverage	E value
O52629.1	RecName: Full=Beta-galactosidase; Short=Lactase >gb AAB97862.1 beta-galactosidase	494	494	100%	2e-138
NP_578937.1	beta-mannosidase [Pyrococcus furiosus DSM 3638] >gb AAC44387.1 beta-mannosidase	494	494	100%	4e-138
NP_126617.1	Beta-mannosidase [Pyrococcus abyssi GE5] >emb CAB49848.1 bgal-1 beta-galactosidase	426	426	100%	1e-117
YP_002993739.1	Beta-galactosidase [Thermococcus sibiricus MM 739] >gb ACS89390.1 Beta-galactosidase	337	337	98%	1e-90
ABY49715.1	beta-galactosidase [uncultured bacterium]	328	328	100%	3e-88
YP_921073.1	glycoside hydrolase family protein [Thermoflum pendens Hrk 5] >gb ABL79070.1 glycoside hydrolase	315	315	100%	3e-84
YP_184174.1	beta-galactosidase [Thermococcus kodakarensis KOD1] >dbj BAD85950.1 beta-glycosidase	312	312	98%	3e-83
YP_003668816.1	glycoside hydrolase family 1 [Staphylothermus hellenicus DSM 12710] >gb ADI31917.1 beta-glycosidase	308	308	99%	4e-82
BAAAT8713.1	beta-glycosidase [Thermococcus kodakarensis]	306	306	98%	1e-81
NP_142473.1	beta-mannosidase [Pyrococcus horikoshii OT3] >dbj BAA29589.1 483aa long hypothetical protein	303	303	98%	1e-80
NP_127217.1	beta-galactosidase [Pyrococcus abyssi GE5] >emb CAB50447.1 bgal-2 beta-galactosidase	299	299	98%	2e-79
NP_578085.1	beta-galactosidase [Pyrococcus furiosus DSM 3638] >gb AAL80480.1 beta-galactosidase	299	299	98%	2e-79
ZP_04878911.1	beta-galactosidase [Thermococcus sp. AM4] >gb EEB74957.1 beta-galactosidase [Thermococcus sp. AM4]	297	297	97%	7e-79

5. Hasil blast akan menghasilkan lebih dari satu sekuen yang bersesuaian. Pilih hasil dengan skor paling tinggi. Dengan meng-klik referensi akan didapat keterangan lebih lanjut tentang protein tersebut.

beta-galactosidase [Pyrococcus woesei]

GenBank: AAB97862.1

[FASTA](#) [Graphics](#)

[Go to:](#)

LOCUS AAB97862 510 aa linear BCT 25-MAY-2001
DEFINITION beta-galactosidase [Pyrococcus woesei].
ACCESSION AAB97862
VERSION AAB97862.1 GI:2811286
DBSOURCE accession [AF043283.1](#)
KEYWORDS .
SOURCE Pyrococcus woesei
ORGANISM [Pyrococcus woesei](#)
Archaea; Euryarchaeota; Thermococci; Thermococcales;
Thermococcaceae; Pyrococcus.
REFERENCE 1 (residues 1 to 510)
AUTHORS Daabrowski,S., Sobiewska,G., Maciunska,J., Synowiecki,J. and Kur,J.
TITLE Cloning, expression, and purification of the His(6)-tagged
thermostable beta-galactosidase from Pyrococcus woesei in
Escherichia coli and some properties of the isolated enzyme
Protein Expr. Purif. 19 (1), 107-112 (2000)
PUBMED [10833397](#)
REFERENCE 2 (residues 1 to 510)
AUTHORS Dabrowski,S., Maciunska,J. and Synowiecki,J.
TITLE Direct Submission
JOURNAL Submitted (16-JAN-1998) Food Preservation, Technical University of
Gdansk, Narutowicza 11/12, Gdansk 80-952, Poland
COMMENT Method: conceptual translation.

FEATURES Location/Qualifiers
source 1..510
/organism="Pyrococcus woesei"
/strain="DSM3773"
/db_xref="taxon:[2262](#)"
Protein 1..510
/product="beta-galactosidase"
Region 1..504
/region_name="Glyco_hydro_1"
/note="Glycosyl hydrolase family 1; c101046"
/db_xref="CDD:[174504](#)"
CDS 1..510
/coded_by="AF043283.1:1..1533"
/transl_table=[11](#)

ORIGIN
1 mfpекflwgw aqsgfqfemg dklrrnidtn tdwwhvvrdk tniekglvsg dlpeeginny
61 elyekdheia rklglnayri giewsrifpw pttfidvdys ynesynlied vkitkdtlee
121 ldeiankrev ayyrsvinsl rskgfkvivn lnhtlpywl hdpiearera ltnkrngwn
181 prtviiefaky aayiaykfgd ivdmwstfn e pmvvvelgyl apysgfppgv lnpeaaklai
241 lhminahala yrqikkfdte kadkdskepa evgiiynnig vaypkdpnds kdvkaaendn
301 ffhsglffea ihkgklnief dgetfidapy lkgnndwigvn yytrevvtyq epmfpsiipi
361 tfkgvqgygy acrpgtlskd drpvsdigwe lypegmydsi veahkygvpv yvtengiads
421 kdilrpwyia shikmtekaf edgyevkgyf hwaltdnfew algfrmrfgl yevnlitker
481 ipreksvsif reivanngvt kkieeellrg

8. Klik “Distance tree of results” pada bagian akhir apabila ingin mengetahui phylogenetic tree antar protein yang didapatkan. Sebelum melakukan analisis ini, harus dipilih database protein yang akan dibandingkan.

