

Лекция 4

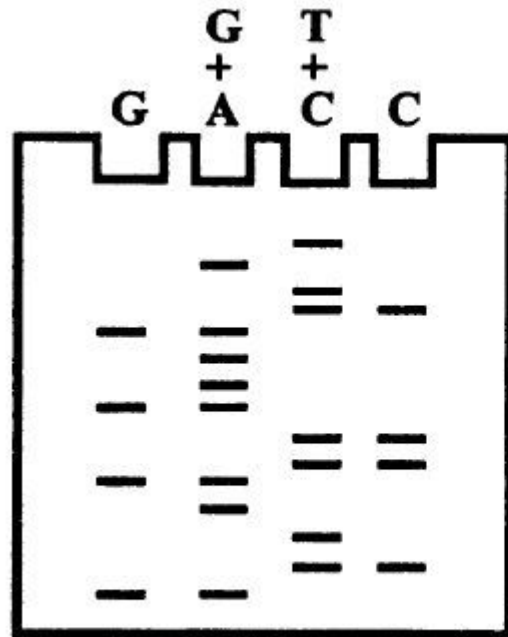
**Классические методы секвенирования.
Анализ данных, полученных в ходе секвенирования.**

История

- Метод Сэнгера был предложен Фредериком Сэнгером в 1977 году, за который он был удостоен нобелевской премии по химии в 1980 году.
- В том же году Максам и Гилберт предложили альтернативный метод, получивший название «метод химической дегградации».
- Технологии NGS были предложены уже в XXI веке

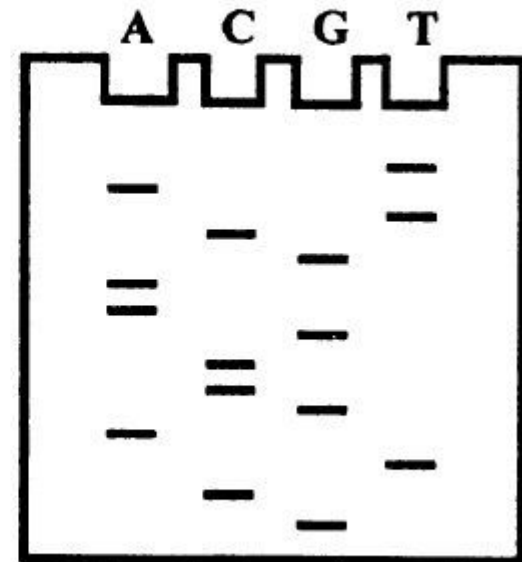
Примеры секвенирования

A C G T



GCTAGCCGAAGCTAT

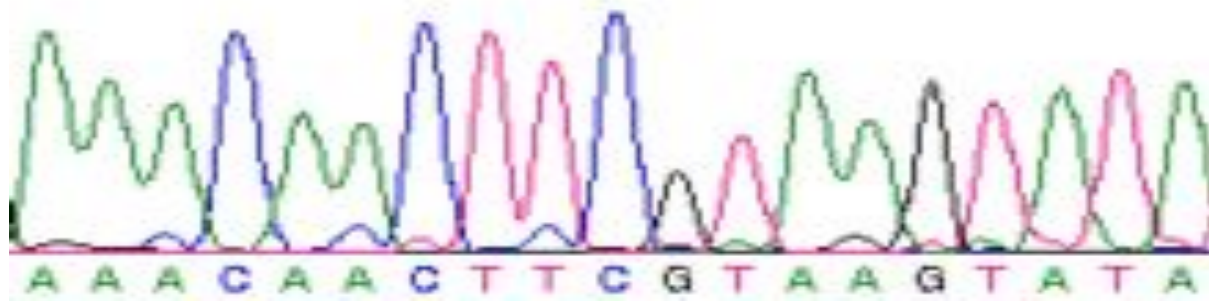
Метод Максама
Гилберта



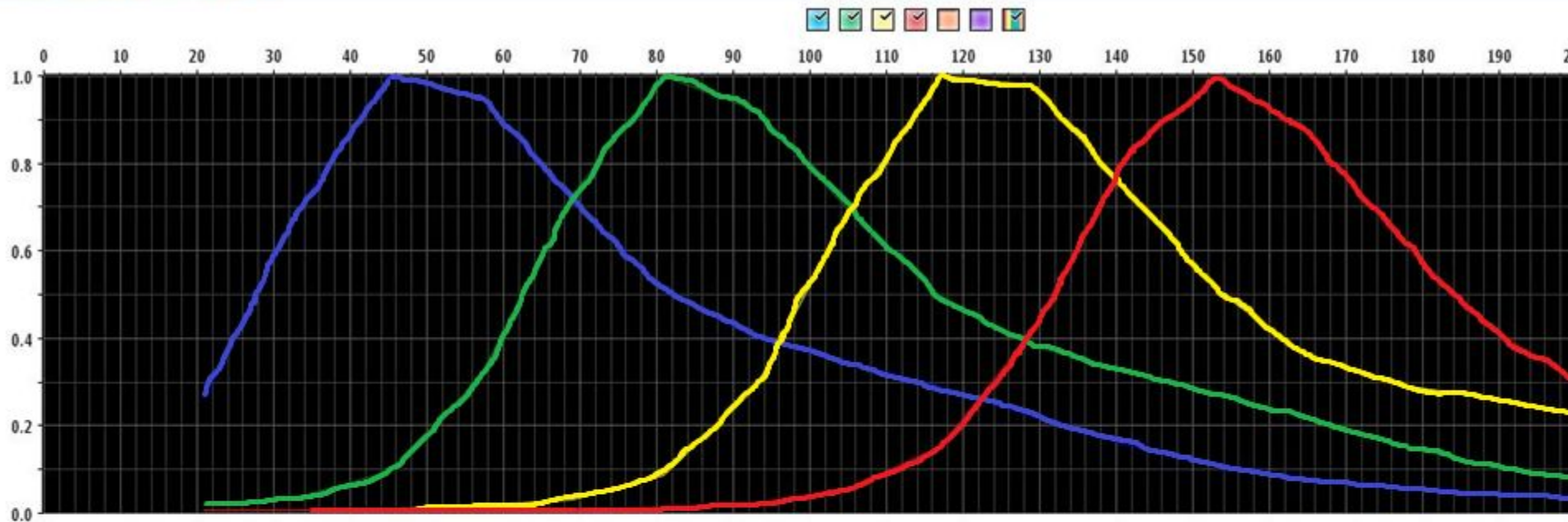
GCTAGCCGAAGCTAT

Метод Сэнгера

Флюорофоры наше всё! :)

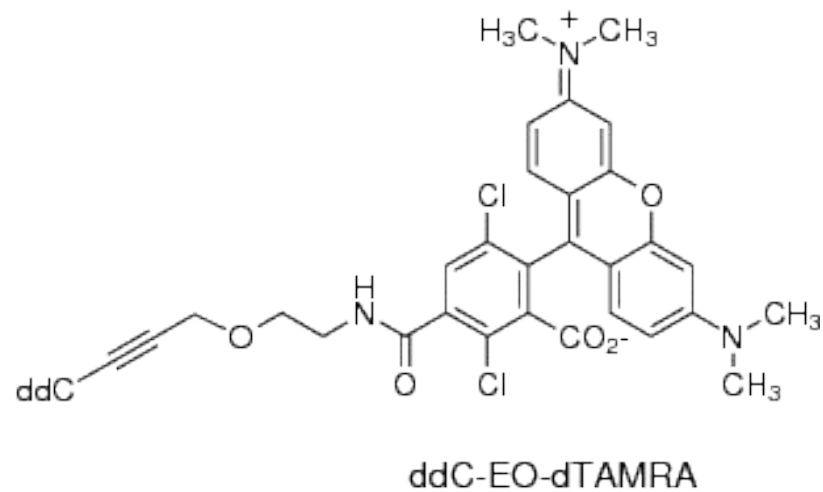
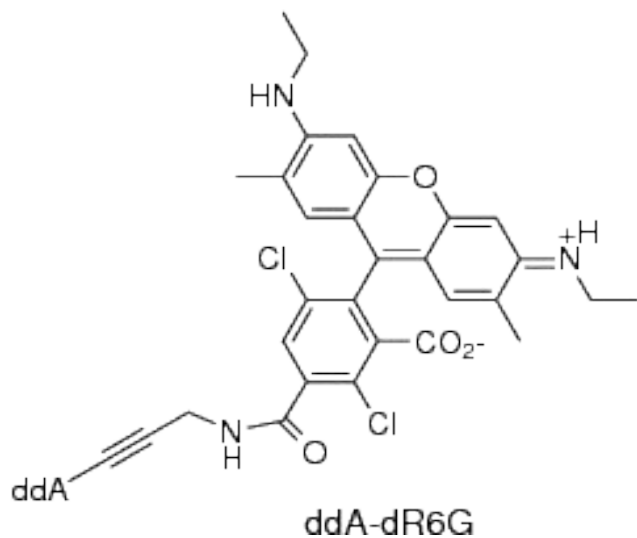
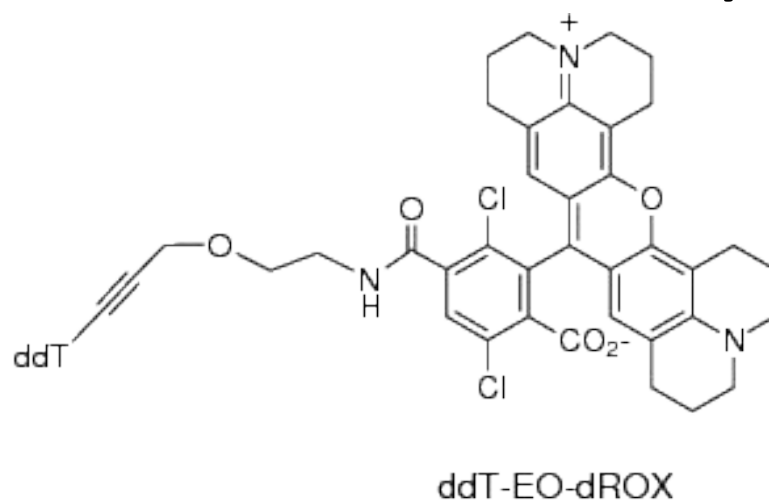
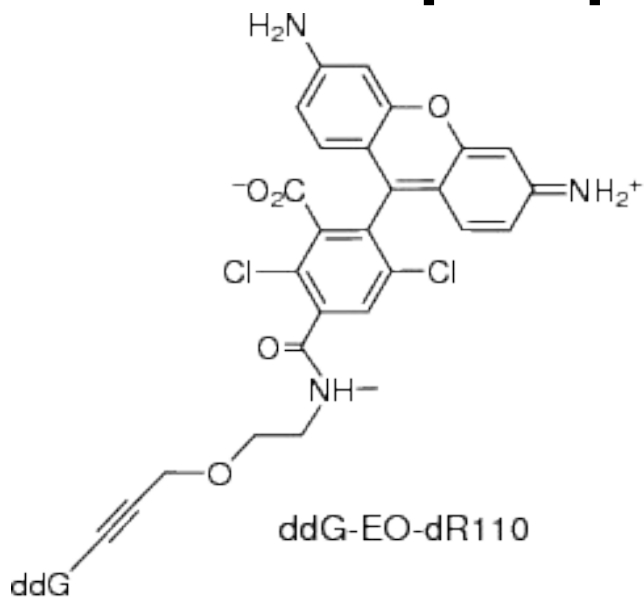


Intensity vs Pixel Number (Capillary 1)

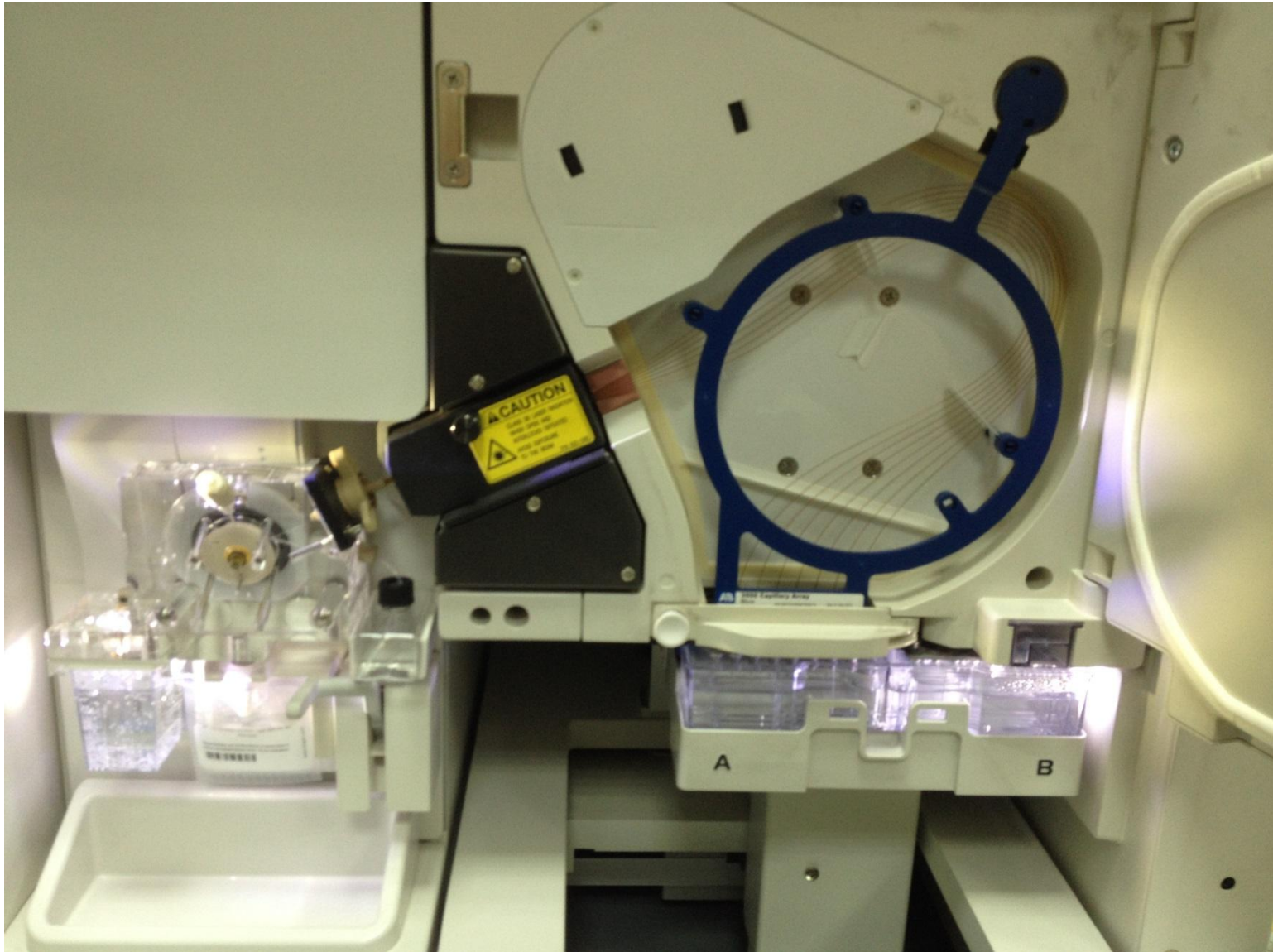


Intensity vs Pixel Number

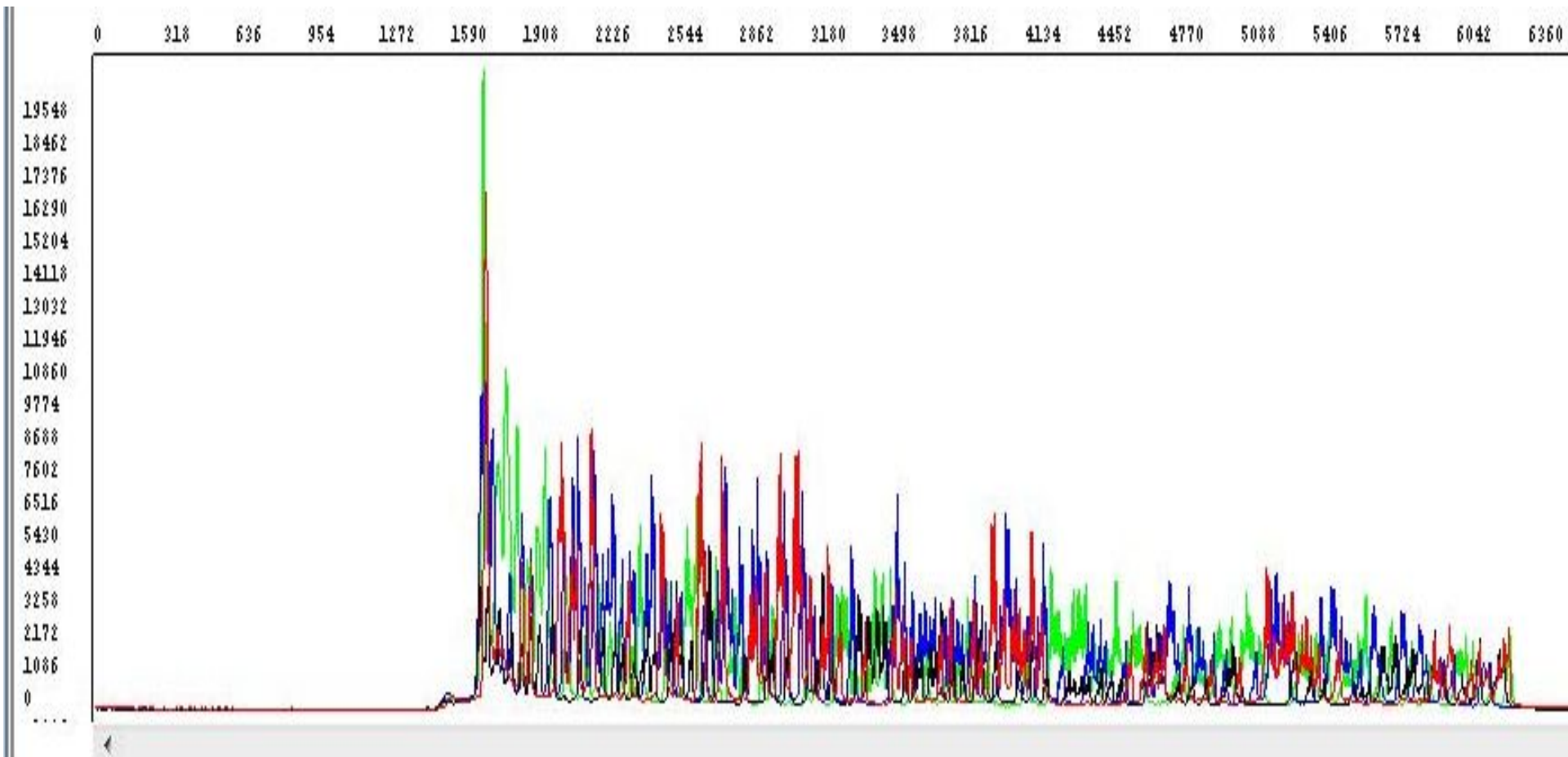
Флюорофоры наше всё! :)



Как же это все происходит?

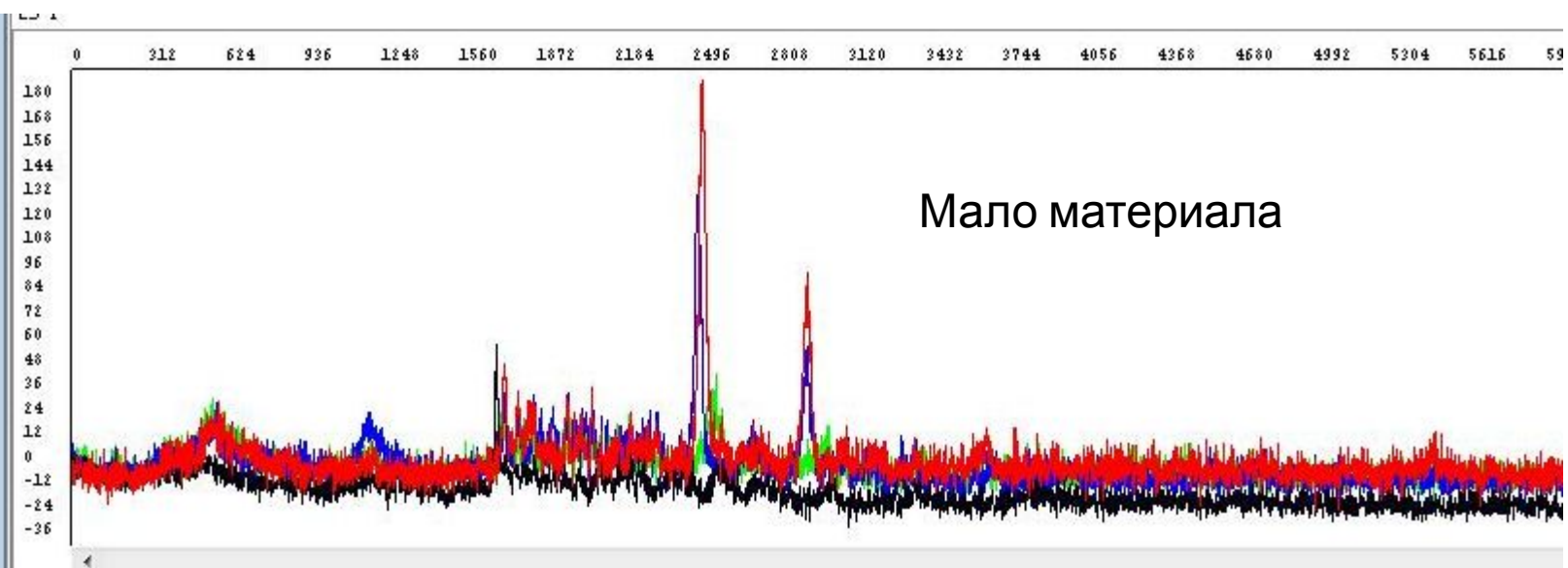
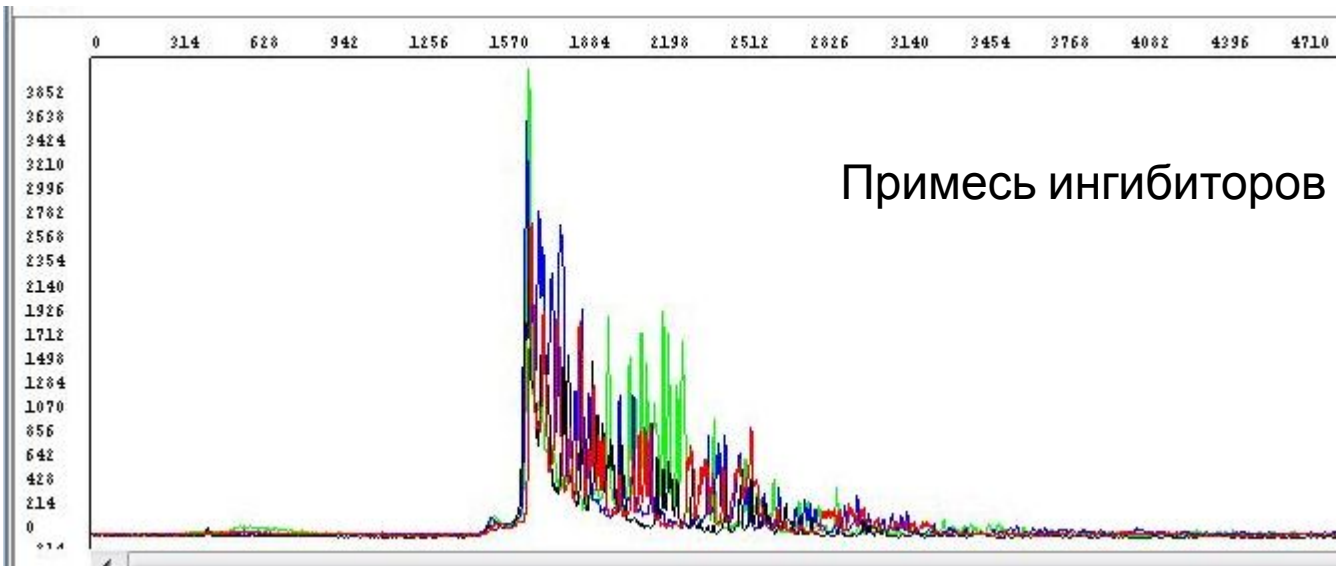


Как все это выглядит

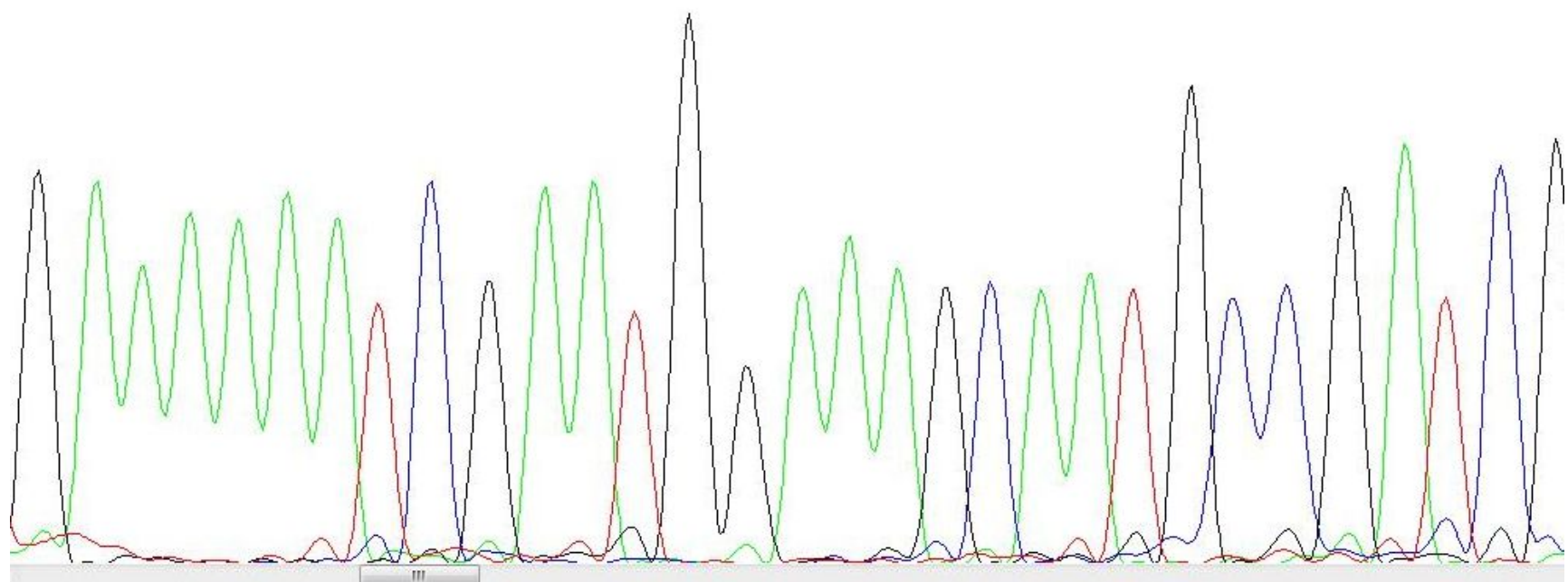
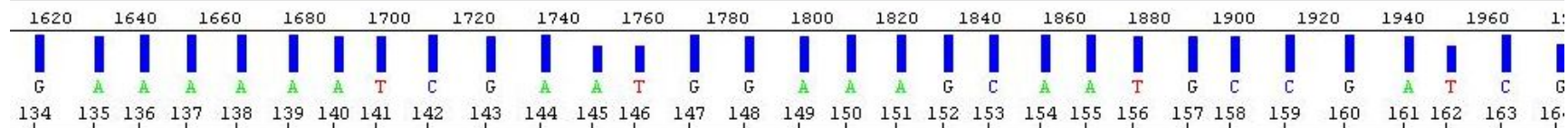


Классическое и желательное распределение уровня светимости флуорофоров

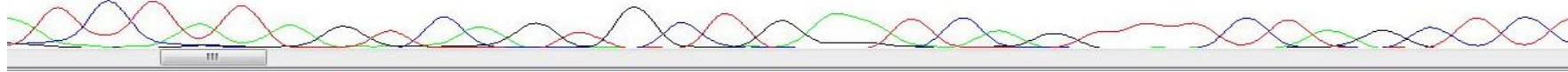
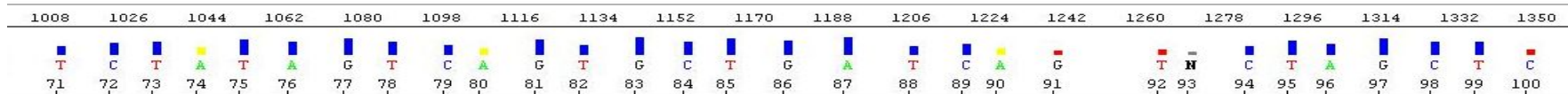
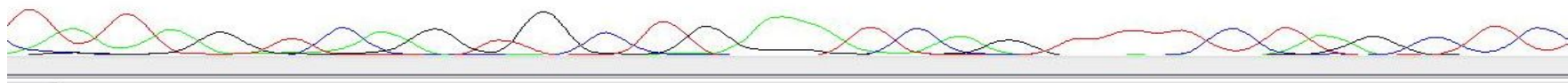
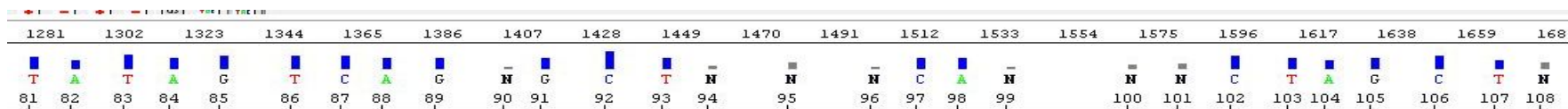
Нежелательное распределение уровня светимости флюорофоров



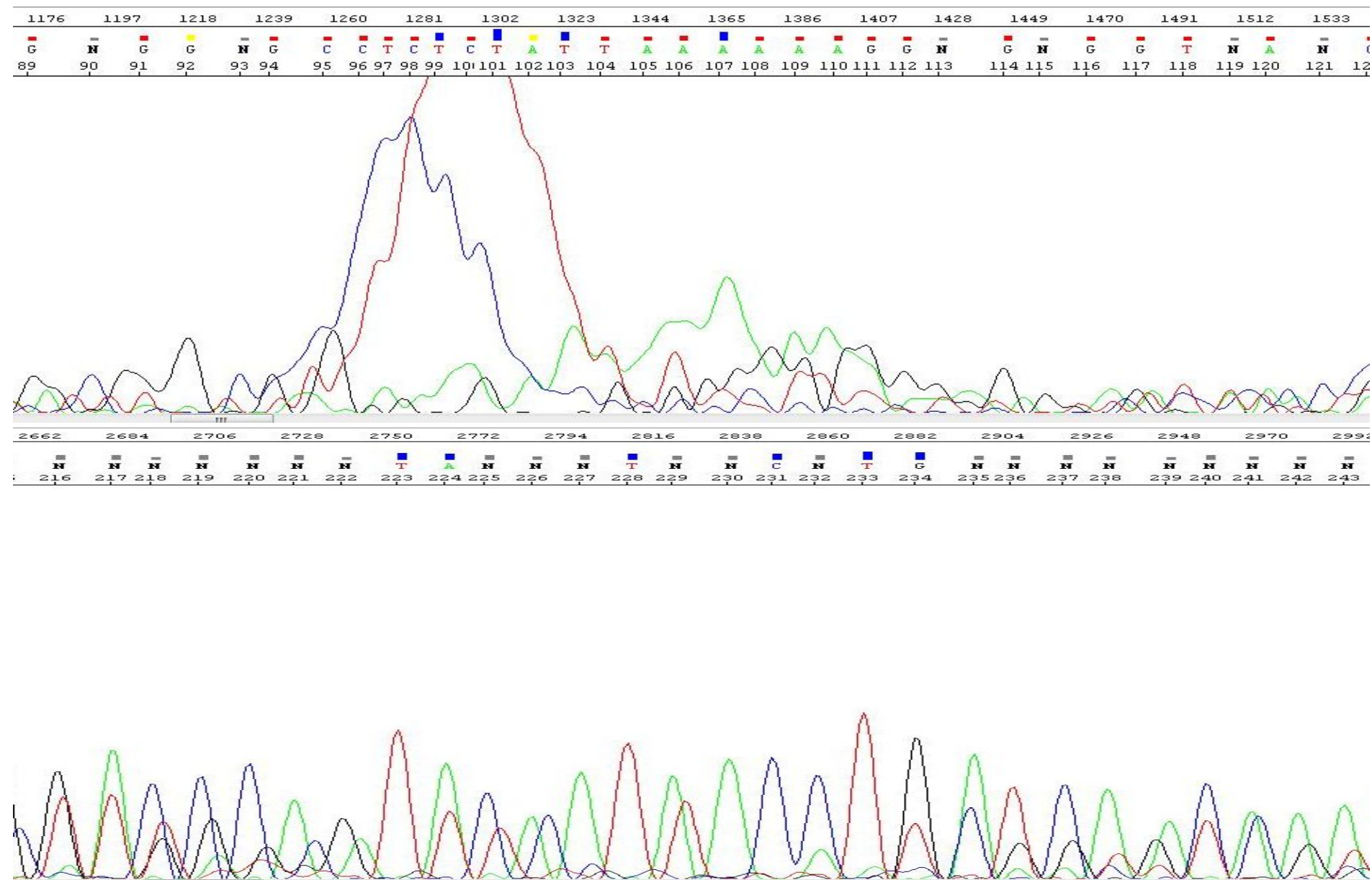
Дешифровка и матрица подвижностей



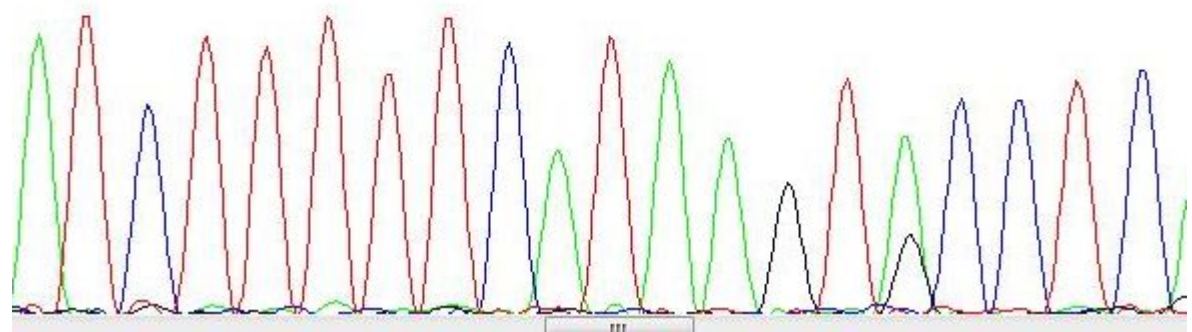
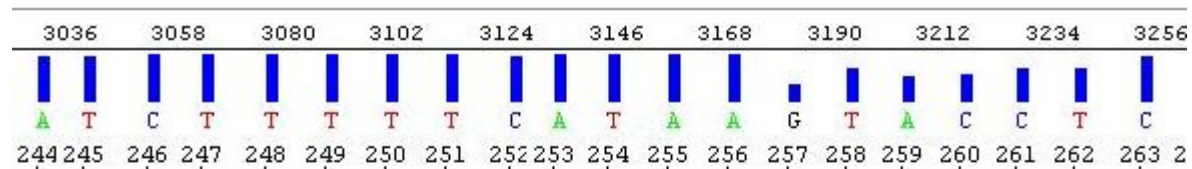
Характерные случаи



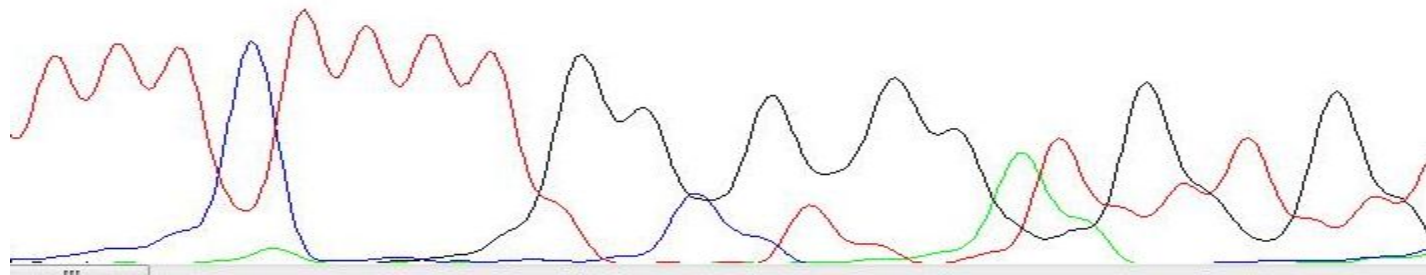
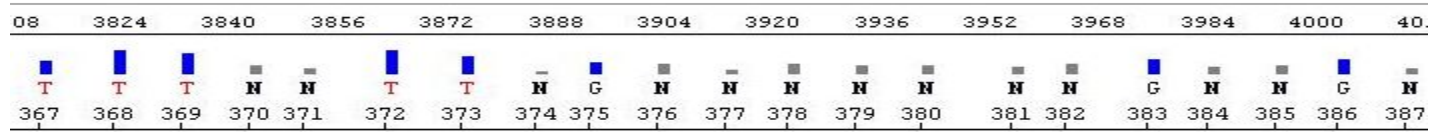
Наложение пиков друг на друга



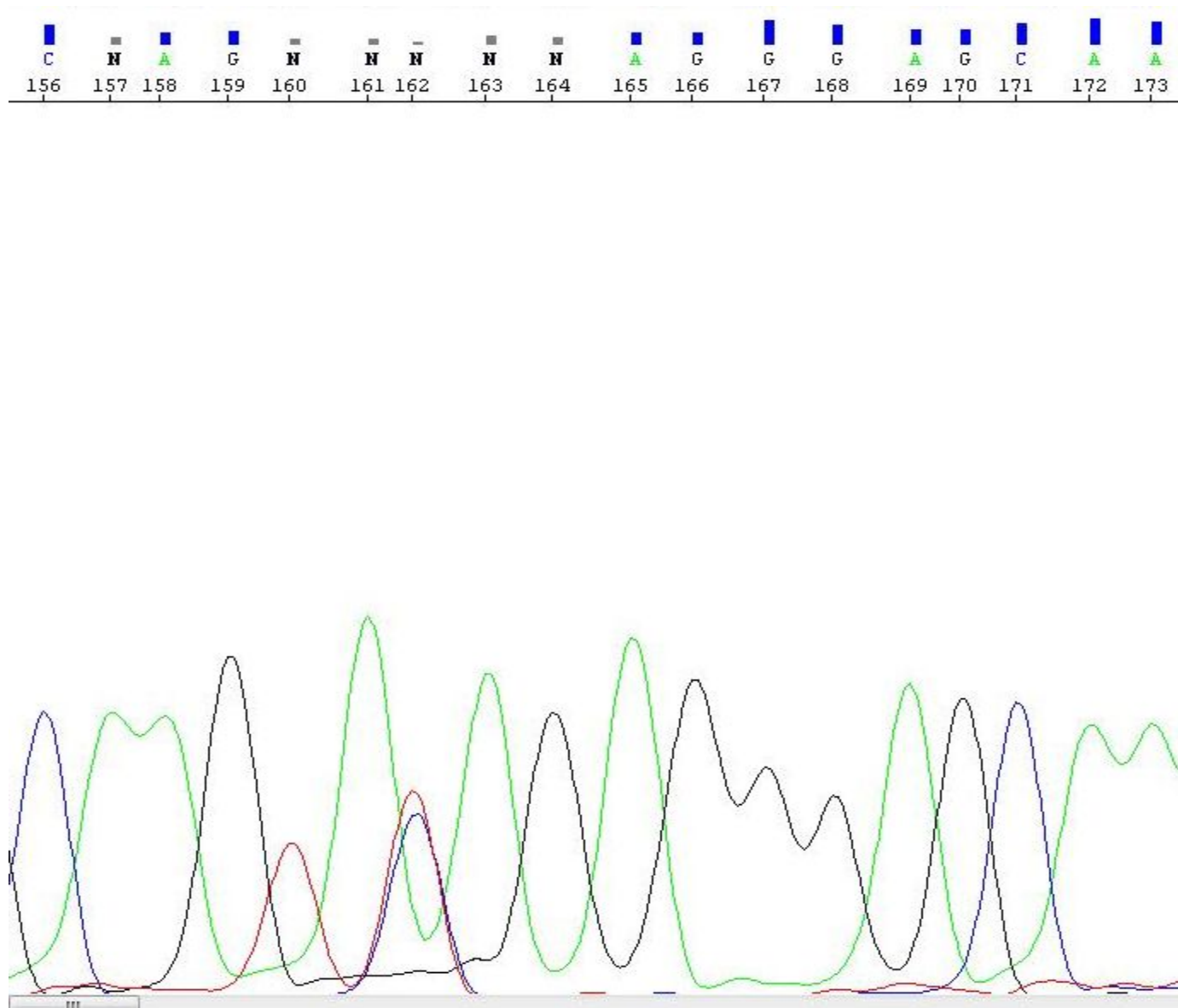
Квазиштамм



Повторы в геноме



Истинная гетерозигота



Визуализаторы

- FinchTV (бесплатный)
- Sequencher (платный)
- TraceEditor (встроен в пакет Mega начиная с 5 версии)

FinchTV



Sequencher

Compare Consensus to Reference

Review Refresh Reports Options Comparison Range Translation

Description: 12 consensus sequences compared to Reference Reference with 3 exons.
 Comparison Range: Unfiltered
 Base Positions: 14587..18495

Reference	116	128	130	131	Total
15,395	G	C			8
15,400	T	A	A	A	10
15,401.1	:	T	T	T	10
15,403	C	S			3
15,517	A	g	g	g	12
15,564	C	Y	Y	Y	11
15,576	G	I	I	I	12
15,579	C	Y	Y	Y	11
15,612	G	W			3
15,615	G				1
15,624	G	R			1
15,644.1	:	G	G	G	10
15,644.2	:	G	G	G	10
15,645	T	:			2
15,646	C	:			2
15,646.1	:	A			8
+	Total	27	34	20	328

Chromatograms from Contig[0013]

Compare Translation to Reference

Review Refresh Reports Translation Range Bases

Description: 12 consensus sequences compared to Reference Reference with 3 exons.
 Comparison Range: Unfiltered
 Base Positions: 14587..18495
 Amino Acid Positions: 1..1303

Reference	128	130	131	138	Total	
15,400	TGG	AGT	AGT	AGT	AGT	10
272	W	S	S	S	S	
15,403	CTA	GST	GCT	GCT	GCT	10
273	L	?	A	A	A	
15,408	AGT	AAG	AAG	AAG	AAG	10
274	S	K	K	K	K	
15,412	ATG	TAT	TAT	TAT	TAT	10
276	M	Y	Y	Y	Y	
15,415	AAC	GAA	GAA	GAA	GAA	10
277	N	E	E	E	E	
15,418	AGA	CAG	CAG	CAG	CAG	10
278	R	Q	Q	Q	Q	
15,421	TGG	ATG	ATG	ATG	ATG	10
279	W	M	M	M	M	
+	Total	177	170	172	176	1931

Contig[0013]

Overview Summary Cut Map Find Show Chromatograms ReAligner

Reference with 3 exons
 Gene4A_09-Gene_93-R
 Gene4A_09-Gene_150-R
 Gene4A_09-Gene_45-R
 Gene4A_09-Gene_128-R
 Gene4A_09-Gene_138-R
 Gene4A_09-Gene_152-R
 Gene4A_09-Gene_35-R
 Gene4A_09-Gene_130-R
 Gene4A_09-Gene_131-R

25 fragment bases at consensus position 15,564

```

TGAGAACGGCGGTCTTTTATG
TGAGAACGGCKGTYTTTTATG
TGAGAACGGCTGTYTTTTATG
TGAGAACGGCTGTYTTTTATG
TGAGAACGGCTGTYTTTTATG
TGAGAACGGCTGTYTTTTATG
TGAGAACGGCTGTYTTTTATG
TGAGAACGGCKGTCTTTTATG
TGAGAACGGCTGTYTTTTATG
TGAGAACGGCTGTYTTTTATG
TGAGAACGGCTGTYTTTTATG
TGAGAACGGCTGTYTTTTATG
TGAGAACGGCTGTYTTTTATG
TGAGAACGGCTGTYTTTTATG
TGAGAACGGCKGTYTTTTATG
    
```

variation

```

E N G ? ? L C
R T A V F Y A R
    
```

TraceEditor

