

Практикум 6 – Секвенирование по Сэнгеру

На выходе из капиллярного секвенатора получается бинарный файл в формате .ab1 (.abi, .ab, .scf), в котором есть информация о флуоресценции каждой из четырёх нуклеотидных меток по ходу продвижения электрофореза, автоматически определённая последовательность, а также качество определения каждого отдельного нуклеотида. Автоматическая аннотация нуклеотидов, основанная на данных флуоресценции, называется base calling; в ходе этого процесса могут происходить ошибки, — именно поэтому перед экспортом итоговой последовательности хроматограмму необходимо проанализировать самому.

Полноценный анализ предполагает обработку двух хроматограмм (с прямой и обратной цепочек), сборка контига и разрешение неоднозначностей. В качестве учебной задачи каждому из вас предложен один файл. Для работы можно пользоваться любыми программами для анализа результатов капиллярного секвенатора. Одной из таких программ является [Chromas](#). Установите эту программу на свой персональный компьютер.

Файлы с хроматограммами лежат [здесь](#). У каждого студента свой индивидуальный файл типа: N_F.ab1. Свой N можно увидеть в ведомости: блок 2, практикум 6, столбец AI “Файл”.

По результатам вашей работы необходимо написать отчет, сохранить его в файле .pdf с корректным названием (пр.: Zharikova_pr6.pdf) и прикрепить в [форму](#).

В отчете необходимо указать следующее:

1. Название предложенного вам файла
2. Длина хроматограммы
3. Длины начального и конечного трудно читаемых фрагментов, оцените “на глаз”
4. Оцените “на глаз” отношение сигнала и шума в среднем (уровень шума может быть низким, очень высоким на протяжении всей хроматограммы, локальные области, где шум выше среднего и т.д.).
5. Приведите примеры в виде картинок:
 - a. “шума” почти нет
 - b. “шум” мешает интерпретации сигнала
 - c. “шум” есть, но не мешает интерпретации сигнала
6. Выберите 5-7 проблемных нуклеотидов или полиморфизмов и опишите:
 - a. координату проблемного нуклеотида или полиморфизма
 - b. причину выбора (полиморфизм, разное расстояние между сигналами, пятно краски и т.п. (см. презентацию))
 - c. решение (гомо-/гетерозигота, необходимо удалить или добавить нуклеотид, фрагмент не подлежит интерпретации, другое ...)
 - d. картинку окрестности проблемного нуклеотида, достаточную для обоснования описанного решения.

При оформлении отчета обратите, пожалуйста, внимание на оформление.
Ваш отчет должен быть независимой самостоятельной работой, не требующей дополнительных справок при проверке.

Если выданная вам хроматограмма оказалась слишком плохой, в ней не набирается 5-7 случаев для исследования или вам просто не нравится конкретный файл - напишите мне, выдам другой файл.