Bioinformatics Lab.

2012. 3.18.

SEQUENCHER 를 이용한 Sequence editing

1. http://amborella.net 에서 프로그램과 샘플data를 다운받아 압축을 풀고 install
   cf., 이 프로그램은 데모버전으로 저장이 되지 않는다(화면켑춰도 불가).
2. Program open
3. File -> New Project
4. File -> Import -> Sequences 에서 불러올 sequence들을 선택. 또는 sequence들이 있는 폴더에서 sequence화일을 drag 시켜 New Project 창에 넣음.
   cf., 읽을 수 있는 파일은 sequencing 기계가 만들어낸 low data임(ABIF file). text 파일도 읽는 것은 가능하나 chromatogram을 만들어내지는 못함.
5. 불러들인 sequence들 중 같은 샘플의 forward(M13F)와 reverse(M13R)을 동시에 하이라이트시킴
6. click Assemble Automatically
   cf. data가 깨끗하지 못하여 assemble이 잘 안될 경우 “assembly parameters"에서 minimum match percentage를 조정하여 다시 assemble.
7. Click "Contig[0001]" <--여기서 만들어진 contig의 이름을 바꿀 수 있다.
8. Click "Bases" 를 하면 pick들을 눈으로 확인하여 quality를 평가해 가며 editing이 가능함.
9. 가장 아랫 칸에 . 또는 +로 표시되어 있는 부분을 눈으로 확인하고 고치거나 자름
10. primer sequence 들을 찾아서 primer sequence와 앞, 뒤 sequence를 잘라내어 sequencing의 결과로 나온 원하는 sequence만을 만들어낸다.

The Second Assignment

특정 유전자구간을 PCR을 이용하여 증폭시킨 후 염기서열을 결정하여 GenBank에 report 하려고 한다. 만약 sequencing 실험의 결과가 sequence data pack에 들어있는 Sequencher data --> Carex trnH-psbA 의 **D0899와 D0904** 시료일 경우 SEQUENCHER를 이용하여 sample의 forward와 reverse sequencing data (예를 들어 D0904-trnH와 D0904-psbA)를 assembly 하여 하나의 contig를 만들어 내고 결과가 안좋은 부분을 editing 하여 완전한 염기서열을 만든 후 전체 시퀀스를 제출.

단 여러분이 쓰시는 프로그램은 데모버젼으로 저장이 안되므로 결과화면을 사진으로 찍어 이어 붙여 제출하시오.

제출할 것: 1. forward와 reverse sequence 가 합쳐져 contig를 형성한 사진
2. primer들을 제거한 시퀀스의 앞, 뒤, 중간 부분 사진.

다음주 까지~