

Určování sekvence DNA

Od manuálních po plně automatické metody sekvenování

1st generation:

Maxam-Gilbert (čtyři štěpící reakce – G, AG, C, TC)

Sangerova metoda (terminace syntézy druhého vlákna)



Next-generation:

454/Roche (pyrosekvence, PP se chemicky váže na emisi světla)

SOLiD/LifeTechnologies (ligace fluorescenčních oligonukleotidů)

Solexa/Illumina (polymerace fluorescenčních nukleotidů)

3rd generation:

Single-molecule sequencing:

Helicos (sekvenuje jednotlivé molekuly díky lepší optice)

SMRT/Pacific Biosciences (jamky pro jednu polymerázu)

IonTorrent (semiconductor sequencing)

Nanopore sequencing:

Oxford Nanopore

NABSys

NobleGen



NOBLEGEN



Sanger Sequencing Centre

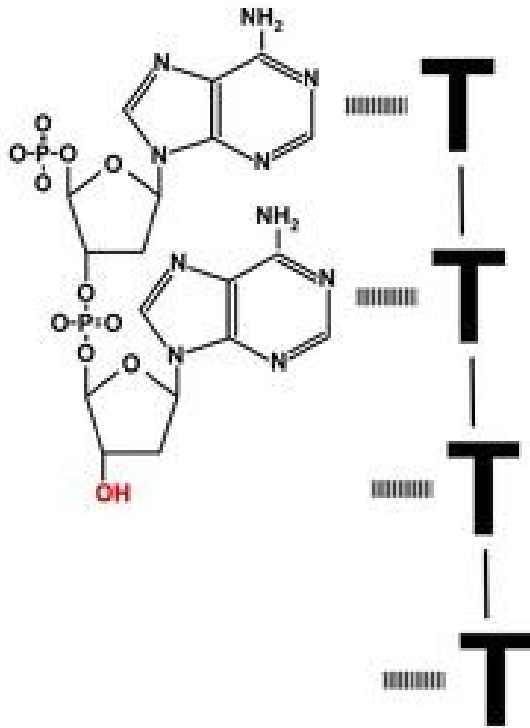


EBI - Hinxton



Ion Torrent vyrábí přístroj pro polovodičové sekvenování.
V srpnu byla firma převzata firmou LifeTechnologies.

Zachytává se elektrický signál z protonů (vodíkových Iontů) uvolněných po navázání dalšího nukleotidu)



1. Jaký je počet nukleotidů v genomu:
 - bakterie E.coli
 - kvasinky
 - mušky Drosophila
 - člověka
 - pšenice
2. Jaká je průměrná délka zjištěných sekvencí u metod
 - první
 - druhé
 - třetígenerace?
3. Kolik trvá a stojí osekvenování jednoho lidského genomu?

1. Jaký je počet nukleotidů v genomu:
bakterie E.coli **4.6 Mbp**
kvasinky **12 Mbp**
mušky Drosophila **123 MBp**
člověka **3200 Mbp**
pšenice **16000 Mbp**
2. Jaká je průměrná délka zjištěných sekvencí u metod
první **800 bp**
druhé **100-400 bp**
třetí **50-1500 bp**
generace?
3. Kolik trvá a stojí osekvenování jednoho lidského genomu?
několik dnů - \$10000