1 实验流程

- 1)样品 barcode及接头的准备及干燥;
- 2)用限制性酶(Restrict Enzyme, RE)消化DNA;
- 3)在消化后的DNA片段两端加接头(adapter):一端的接头含有barcode序列.另一端的接头不含有barcode序列;
- 4)Pooling和纯化;
- 5)PCR扩增,只有两端接头种类不同的片段以及片段长度在170-350bp之间的可被选择性扩增;
- 6-7)纯化PCR产物并对文库进行质控并测序。

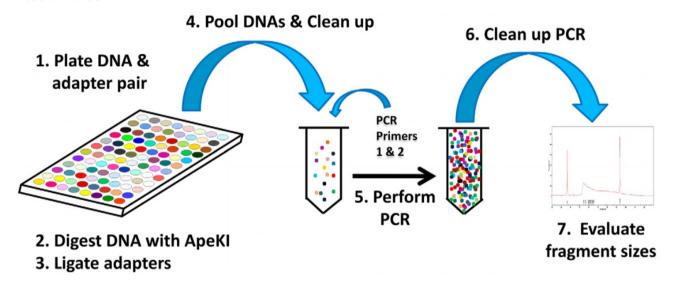


图1 实验流程

2 生物信息分析

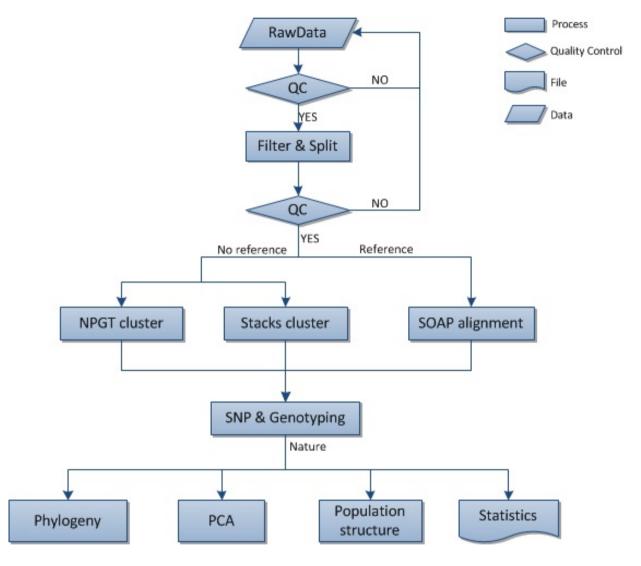


图2 标准信息分析流程

2.1 数据统计

此项目根据合同要求,共产出52.61 Gb数据,其中部分样品的数据量统计如下(各列含义请见Data.readme.txt),这里仅取部分文件示意:

表1 数据产量统计 (Clean Data)

1HL_10A	6.37	615.01	42.61	95.68	90.80
1HL_11A	7.14	688.72	42.69	95.72	90.91
1HL_12A	5.05	487.29	42.57	95.61	90.70
1HL_13A	5.35	516.55	42.84	95.63	90.72
1HL_14A	4.03	387.00	42.69	95.59	90.64
1HL_15A	4.39	421.69	42.50	95.59	90.62
1HL_16A	4.67	447.97	42.62	95.63	90.74
1HL_17A	7.31	701.52	42.51	95.61	90.70
1HL_19A	7.24	694.65	42.76	95.64	90.73
1HL_1A	4.52	436.26	42.36	95.61	90.66

^{*} 所有样品数据统计列表Data.stat.xls

2.2 SNP结果

下列表格为SNP统计信息(各列含义详见SNP.readme.txt),这里仅取部分文件示意:

表2 SNP结果统计

Sample name	Total	Homo	Hete	Homo rate (%)	Hete rate (%)
1HL_10A	8058	6755	1303	83.83	16.17
1HL_11A	8392	7033	1359	83.81	16.19
1HL_12A	7422	6405	1017	86.30	13.70
1HL_13A	7580	6499	1081	85.74	14.26
1HL_14A	6374	5552	822	87.10	12.90

1HL_15A	6683	5706	977	85.38	14.62
1HL_16A	7041	6043	998	85.83	14.17
1HL_17A	8419	7050	1369	83.74	16.26
1HL_19A	8543	7141	1402	83.59	16.41
1HL_1A	6919	5949	970	85.98	14.02
•••					

^{*} 所有样品的SNP统计表见SNP.stat.xls

2.3 基因分型

下列表格为基因分型统计信息(各列含义详见genotype.noref.readme.txt),这里仅取部分文件示意:

表3 基因分型列表-noref

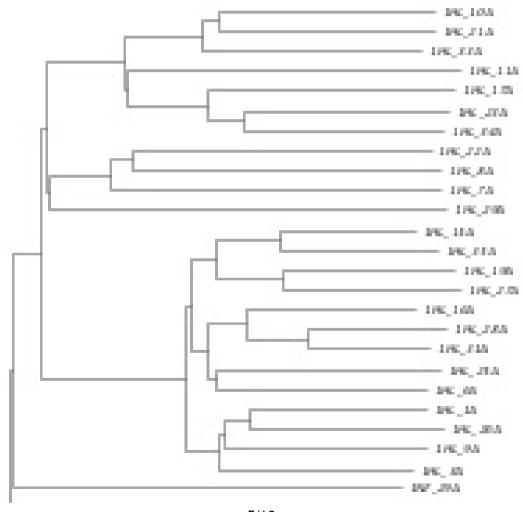
	秋6 を四万主列秋 Hold									
ID	Consensus_Seq	pos	1SN_9A							
record_385	CAGCCCTTATTAGGCCACCTGAGTRAACTGATGTGACCTATATTGTAATTAGTTTTCATCCATCATTGTTAAGTCATATGTA	25	Α							
record_795	CAGCTTCCGATGCGTCGGAGAAGATCAGCACTTYTGGATCTGATACTAAGCTCAGTGATTGTGGAACAAACATCCGTGGAAT	34	Υ							
record_1907	CAGCTGAAGCATCCAGCAAAGCACGAACAAAGCAGAGAGACACCTACAACACCAAAGTGAGARGAGGAACGGTTAAGGCTGG	63	G							
record_2412	CAGCCCTTCACCGGTAATGGTGACGTCTCAATATGAATGA	56	-							
record_3293	CAGCACCTCAGGGCTATCCGTTTCTAACACGGGTACGGGCCMGCGGGGGTTCACGGGCAGTGACCTCCCTTGCACGTTACAA	42	-							
record_4526	CTGCACTTGACCACAATAAATGTGATCTTCCTTTAGATTTAATATATCTGTCTG	64	R							
record_4591	CAGCTGTATCATCTGACCCCAGAAGAAGCCGGYTTGATAGGAAGCTCTCTTGATGTGTGCTTCTCGAGTTGGAGGAATGGCC	33	С							
record_5127	CTGCGTTGTCATGCAAGCATTCTTGACTCCCATGCTCACGAGCCATAGTTACAATGCCGGAATCGCRCATTGGTTTATTCGC	67	R							
record_5132	CAGCTTAAGATTTTGTGCATTTTTCAGTTGTGYTCTCTCTACTTTCGATTCCTTGATCCGCCCTTGAAGGAGACCTTCATGT	33	С							
record_5456	CAGCTTGTTTACGAGGCCCTGCYCGCACTTTCTACATAAGTCTCCCCGCAGAATTCAGACAGCCATATAACTTGTTAATTAC	23	Υ							

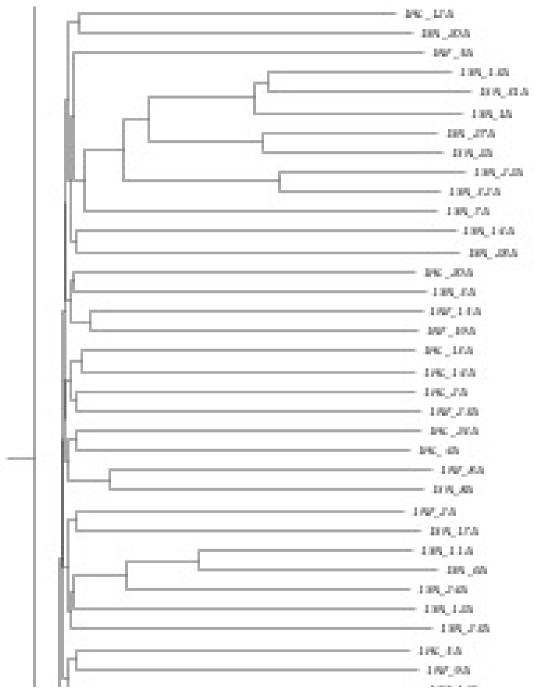
... ...

* 所有样品的基因分型结果Genotype.xls

2.4 系统发育分析

根据得到的SNP信息,我们可以推断出种群间的进化关系,并用分支图表示,结果请见下图:





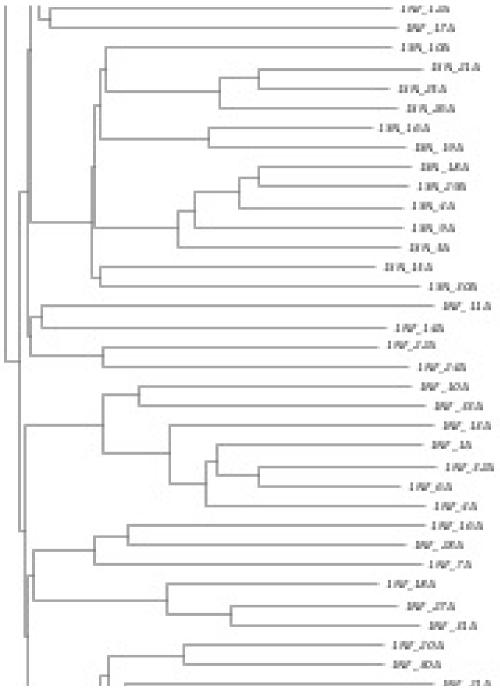




图3 系统发育树.

2.5 主成分分析

主成分分析(Principal Component Analysis, PCA)是指通过线性变换找出数据集中对方差贡献最大的主要成分,以降低数据复杂度的一种分析。基于个体间的SNP差异程度,利用PCA按照不同性状特征可以将样本按主成分分类成不同的亚群,分析结果请见下图:

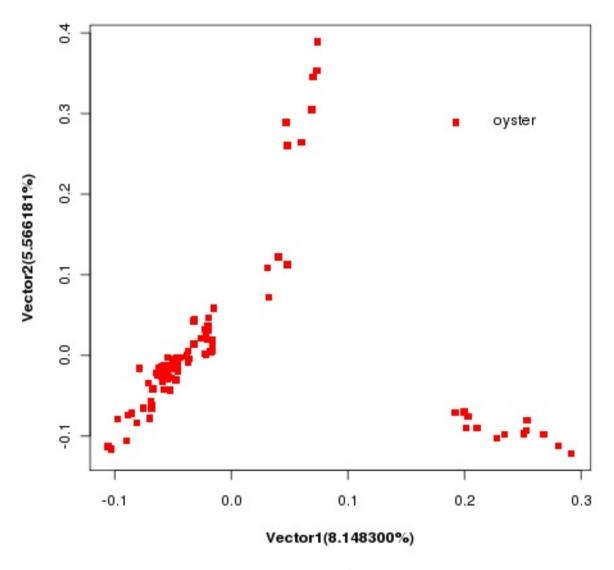


图4 PCA分析.

注:不同颜色的点代表不同亚群的样本。