

探針設計規格

2024實習

Part 1

探針設計規格

Step 1. 擷取序列

Step 1. 擷取SNP位置，上下游800bps (總長度1601bps)

input: 格式自訂

output: fasta format

Tools: Biomart or biopython都可

```
>rs135550|alleles='T/C'
```

```
TTTTGGAATATAAAAGTGAGATTTCTCCACCAGTACAATAAAGTTGTTACAAGTGGTTCCTATGTGtttgttttgttttg  
agacagagtctcactctgtcaccaggctgcagtgcaagtgccMcaatcttggtcactgcaacctccgctcccgggttcaagcaattctccacctcagcctcct  
aagtagctgggactacaggcaccgccaccacgcccagctaattttgtatttttagtagagatggagtttcaccatgttggccaggctggttttgaWcttctgacc  
tcaggtgatccaccYgcttcagcctcccaaagtcttaggattacaggcgtgagcc
```

Step 2. 探針設計 (using Python)

rs1021962985 FwdA AGAGATTATACTTGCAATGCTATCAAAT**A**

晶片用 Probe(探針/oligo)

3' GACCTC TGTGCATCC C CCACCCATGAG AATTGATGATGCAAG TATAATCTC TGGTGATGCAC 5'

rs1021962985_RevC
rs1021962985_RevT

1. 設計兩對primers (共4條，同上底線部分)

2. Primer 長度 ≥ 16 nucleotides
3. 計算Tm值，Tm值須符合 > 61 且 < 63.9 °C (Hint: Biopython套件，MeltingTemp); 選擇最接近62.5的探針

1. 藍色框線部分
2. 含括Forward & Reverse Primer最大範圍
3. 序列方向為Forward 5' > 3'

探針設計規格

Step 3. 探針設計: 輸出格式

rs_id	primer_id	Tm	GC_content(%)	genotype_label	primer_len	SNP_chr	SNP_position	primer_sequence
rs1021962985	rs1021962985_FwdG	63.16	60	G	41	7	107661806	GTGGTGTGTTGGGTGTGTTTGGGGAGGCCAAGTGCTGCAGG

rs_id

primer_id: 命名規則 [rs_id]_[Fwd/Rev][genotype_label]

Tm: 計算後的Tm值

GC content(%): GC在序列當中的佔比

genotype_label: 哪一種SNP型別

primer_len: primer序列的長度

SNP_chr

SNP_position

primer_sequence: 設計完的序列

檢核目標

- 使用Python撰寫主要設計程式
- 產生預期輸出結果
- 輸出結果內容符合規格書設定
- 將設計script檔案以git進行版本管理 (第一版請給v1.0)，有修正請更改第二碼重新push至git遠端儲存庫 (這邊是使用github)
- 提供github程式碼位置