天津医科大学实验课教案首页

(共2页、第1页)

课程名称:系统生物学 实验名称:实验一测序数据的质量控制与预处理

授课对象:生物医学工程与技术学院 2014 级生信班(本)

实验人数:30

实验类型(验证型、综合型、设计型、创新型):验证型 **实验分组:**一人一机

学时数:3 教材版本:系统生物学实验讲义(自编教材)

实验目的与要求:

• 掌握二代测序数据的 FASTO 格式。

- 熟悉 FastQC 和 FASTX-Toolkit 等工具的使用方法。
- · 熟悉 Galaxy 的使用方法。
- 了解 FastQC 输出结果的含义。

实验内容及学时分配:

- (10') FASTQ 格式:回顾存储二代测序数据的 FASTQ 格式。
- (10') 质控与预处理:回顾二代测序数据分析流程中质控与预处理。
- (10') FastQC 和 FASTX-Toolkit: 回顾 FASTQC 和 FASTX-Toolkit 的基本用途。
- (120') 实验操作:对以 FASTQ 格式存储的二代测序数据进行质量控制与预处理。

主要仪器和实验材料:

• 实验材料:以 FASTQ 格式存储的二代测序数据。

• 主要仪器: 联网的计算机。

• 分析工具: Galaxy, FastQC, TASTX-Toolkit。

实验重点、难点及解决策略:

• 难点: FASTQ 格式;解决策略:通过实例进行讲解。

• 重点: FastQC 和 FASTX-Tollkit 的使用;解决策略:根据资料进行学习,通过练习熟练掌握。

思考题:

- 解释存储二代测序数据的 FASTQ 格式。
- 列举二代测序数据质控和预处理的主要内容。
- 如何对二代测序数据进行质控和预处理?

参考资料:

- FastOC
- FASTX-Toolkit
- Galaxy

天津医科大学实验课教案续页

Label

(共2页、第2页)

一、 FASTQ 格式 (10 分钟)

Extension from traditional FASTA format

Each block has 4 elements (in 4 lines):

- Sequence name (read name, group, etc...)
- Sequence
- · + (optional: sequence name again)
- Associated quality scores (phred-scaled) : different encoding possible

Example record:

- @FCD19MJACXX:2:1101:1735:1993#GTTCGACA/1
- NGAGGCTGAGGCGGGCAGAGGTCAGGAGATCGAGACCATC
- +
- BP\cccc]ceecheheeZbe_cZbd_dbbdd\aXab_`b

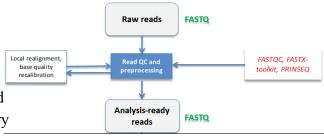
二、 质控与预处理 (10 分钟)

- 质量控制
 - Identify poor/bad sample
 - Identify contaminates
- 2. 预处理
 - Trimming: remove bad bases from read
 - Filtering: remove bad reads from library
- 三、 FastQC 和 FASTX-Toolkit (10 分钟)
 - 1. FastQC: quality control tool
 - · Basic statistics
 - Per base sequence quality
 - Per tile sequence quality
 - Per sequence quality content
 - Per base sequence content
 - ...

@FORJUSP02AJWD1
CCGTCAATTCATTTAAGTTTTAACCTTGCGGCCGTACTCCCAGGCGGT
+
AAAAAAAAAAAAAAA::99@:::??@::FFAAAAACCAA::::BB@@?A?

Base = T, Q = A = 25

Q Scores (as ASCII charts)



- 2. FASTX-Toolkit: FASTA/FASTQ preprocessing
 - Remove linker/adapter sequences
 - Trim low quality reads at the end of the read
 - Filter sequences based on quality
 - ...

四、 实验操作 (120 分钟)

- 1. Upload data to Galaxy (比较导入数据的不同方法; 注意参数的设定)
- 2. Checking read quality with FastQC (理解输出结果中每一部分的含义)
- 3. Convert FASTQ quality to sanger (为什么要进行质量编码的转换)
- 4. Preprocessing with FASTX-Toolkit(结合 FastQC 的结果进行预处理)
- 5. Clean adapter containing reads from FASTQ data (结合 FastQC 的结果进行预处理)
- 6. 探索 "NGS: QC and manipulation" 中的其他工具 (同一个任务可以选用不同的工具)