Анализ корреляции между биохимическими свойствами ампликонов и эффективностью амплификации в мультиплексной ПЦР

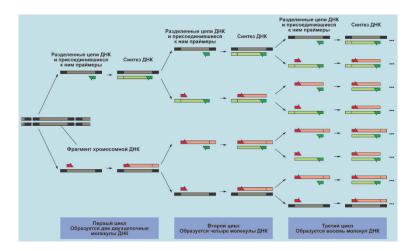
Студент: Татьяна Кривошеева Руководители проекта: Антон Брагин 1 , Герман Демидов 1,2

¹Parseq Lab

²СП6АУ

Промежуточные презентации проектов, осень 2014

ПЦР



Задачи

- Определить набор свойств, от которых может зависеть эффективность ампликонов
- Понять, от каких свойств эффективность зависит в большей степени
- Кластеризовать ампликоны по поведению в серии реакций и определить, какие свойства влияют на попадание ампликона в кластер
- Предложить подходы к оценке качества работы мультиплексных панелей и подбору праймеров

Обзор литературы. Признаки

- длина (праймера, ампликона)
- dangling ends (примыкающие к последовательности праймера нуклеотиды)
- GC-content (праймера, ампликона)
- последовательность (хэш от последовательности)
- \[
 \Q G 0 \]
 гибридизации праймера
- эффективная $\Delta G0$ гибридизации праймера (с учетом существания в растворе альтернативных конформаций)
- температура отжига
- нуклеотид 3′-конца
- эффективная концентрация дуплекса праймер-матрица
- энтропия последовательности ампликона



Обзор литературы. Признаки

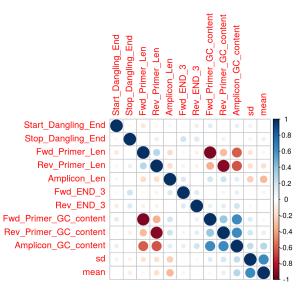
- длина (праймера, ампликона)
- dangling ends (примыкающие к последовательности праймера нуклеотиды)
- GC-content (праймера, ампликона)
- последовательность (хэш от последовательности)
- \(\Delta G \)
 О гибридизации праймера
- эффективная $\Delta G0$ гибридизации праймера (с учетом существания в растворе альтернативных конформаций)
- температура отжига
- нуклеотид 3'-конца
- эффективная концентрация дуплекса праймер-матрица
- энтропия последовательности ампликона



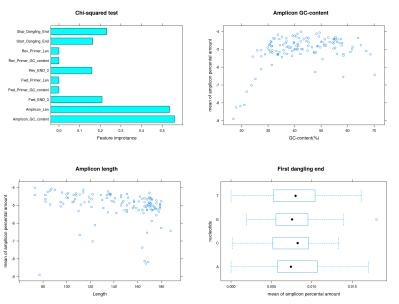
Данные

- три набора данных
- каждый включает в себя информацию о количестве ампликонов таргетной панели в 100 – 150 образцов
- данные получены с использованием Ion Torrent PGM

Корреляция признаков

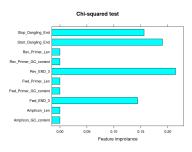


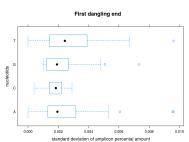
Признаки, влияющие на долю ампликона

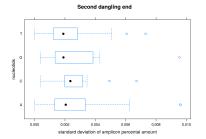


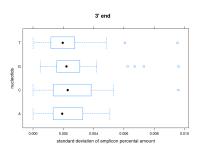


Признаки, влияющие на дисперсию доли ампликона











Итоги

Признаками, влияющими на долю ампликона в выборке, являются

- длина ампликона
- GC-состав ампликона
- dangling ends

Признаками, влияющими на дисперсию доли ампликона в выборке, являются

- нуклеотид 3'-конца
- dangling ends

Дальнейшая работа

- Добавить в выборку все признаки
- Провести эксперименты на всех базах
- Кластеризовать ампликоны по различным мерам близости, используя все признаки
- Предложить подходы к оценке качества работы мультиплексных панелей и подбору праймеров

Спасибо!