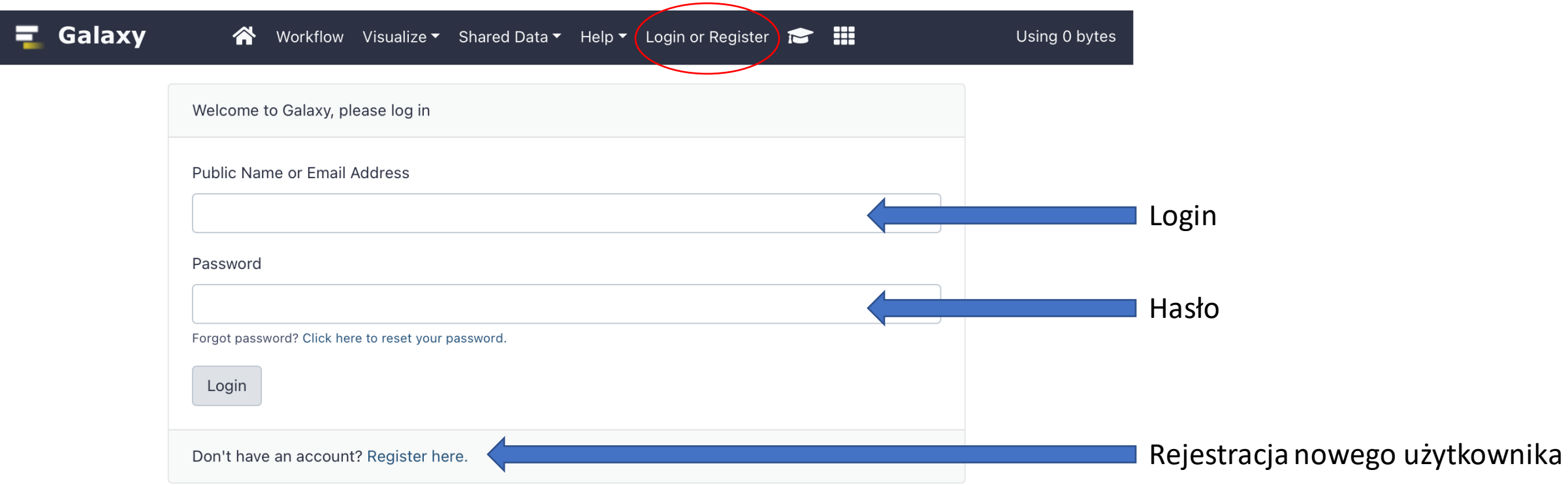
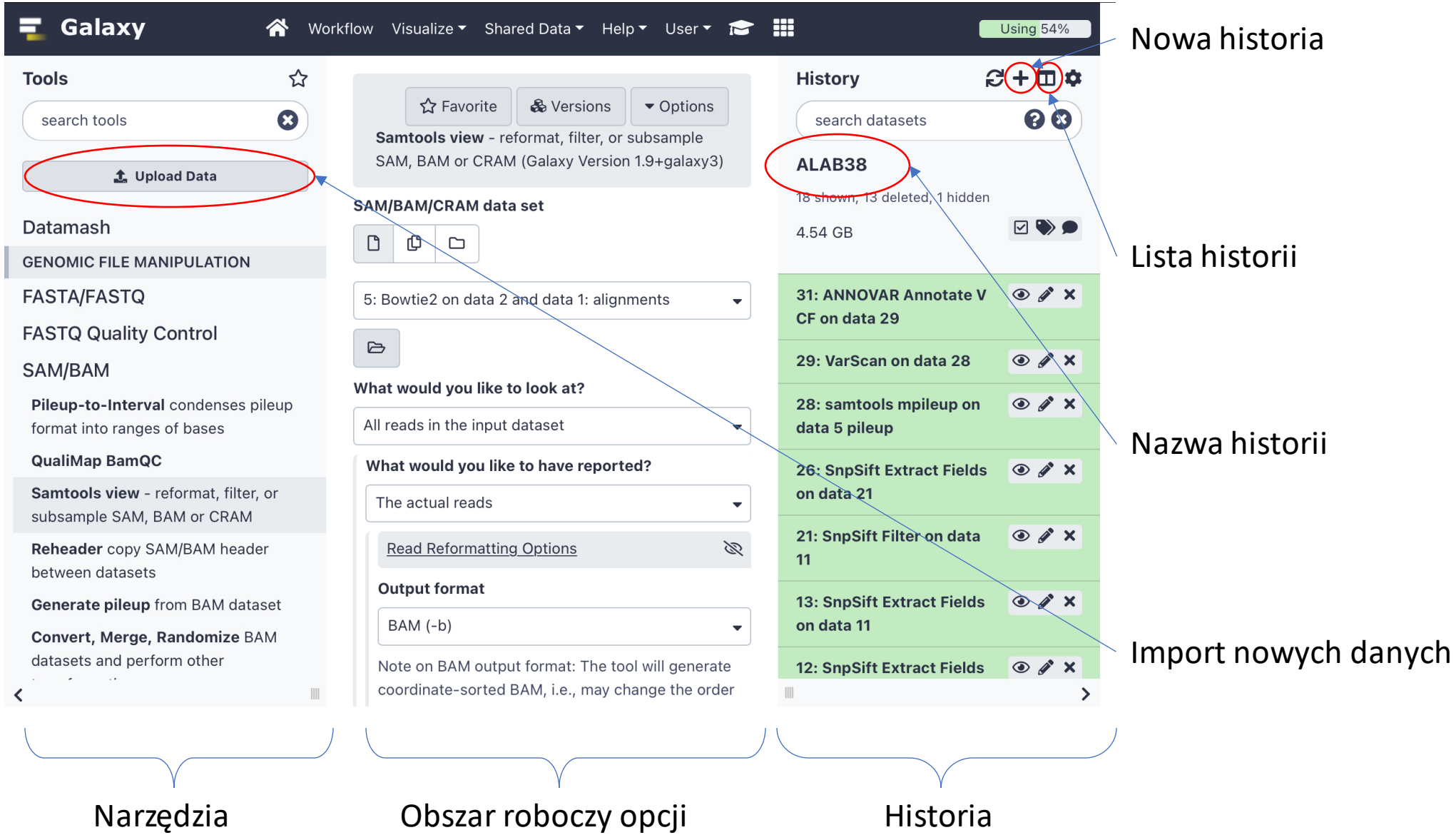
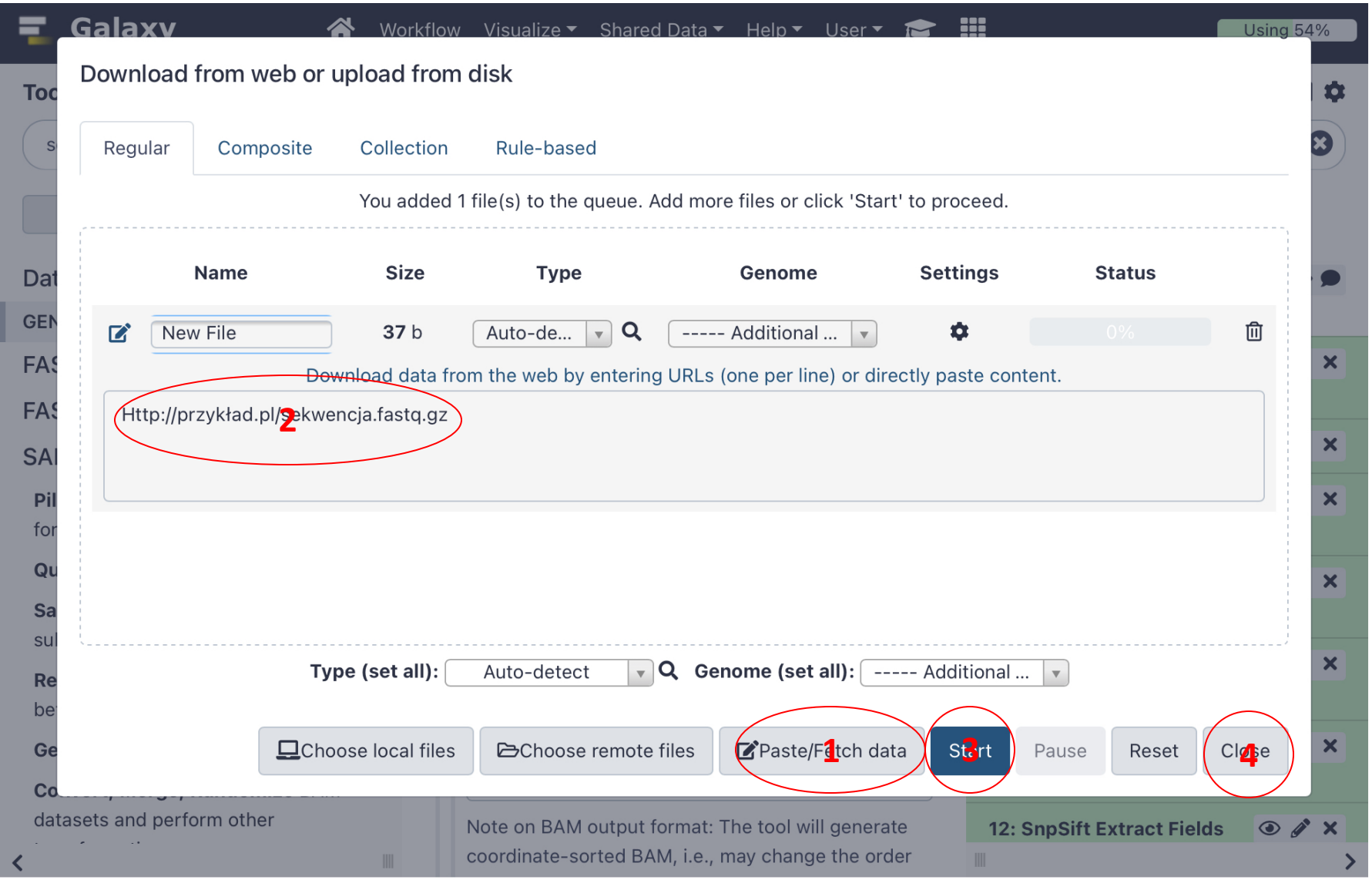
Logowanie


Galaxy
Workflow
Visualize
Shared Data
Help
Login or Register
Using 0 bytes
Welcome to Galaxy, please log in
Public Name or Email Address
Password
Forgot password? Click here to reset your password.
Login
Don't have an account? Register here.
Login
Hasło
Rejestracja nowego użytkownika

Obszary robocze

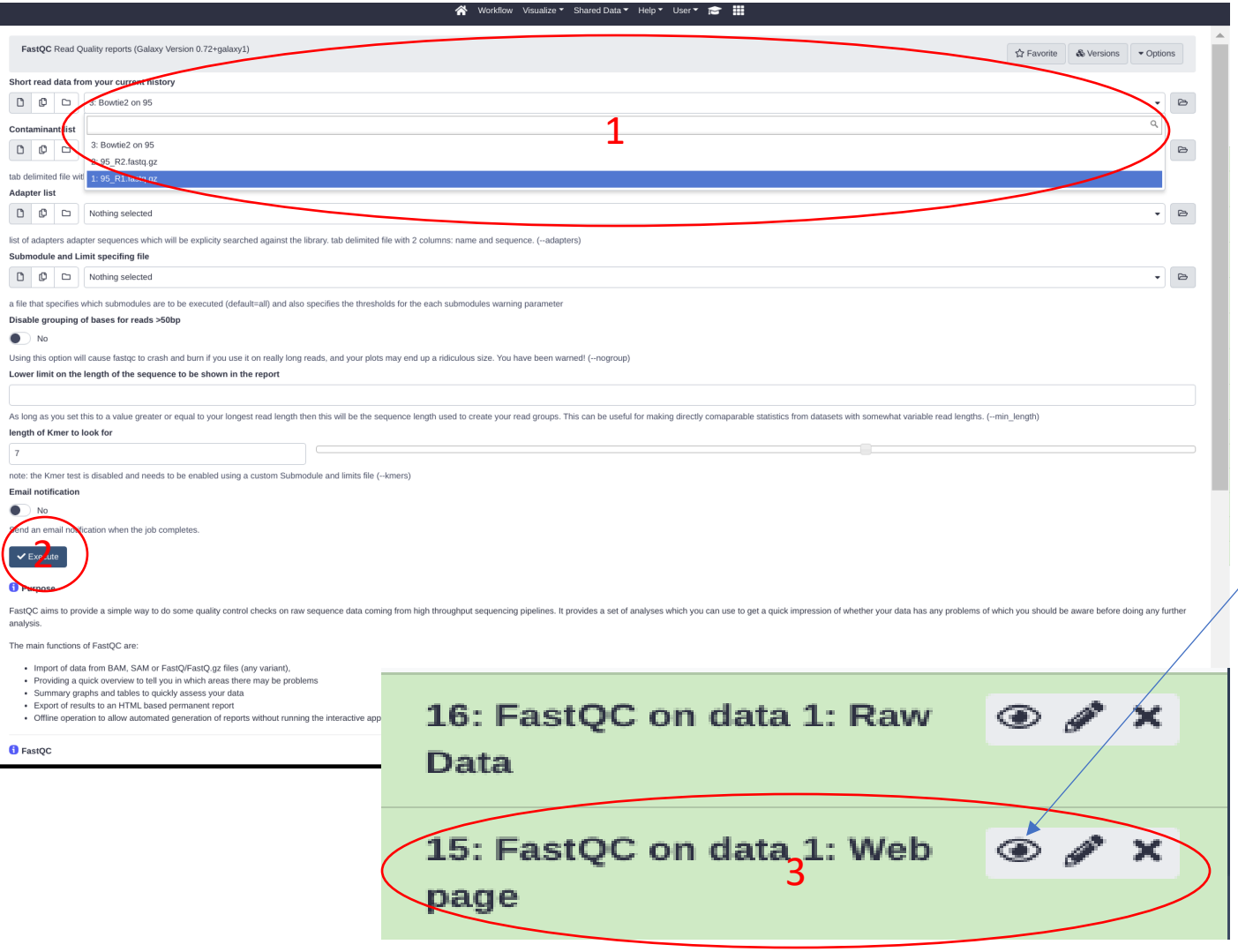


Import danych



1. Naciśnij „Paste/Fetch data”.
2. Skopiuj link do danych.
3. Naciśnij „START”.
4. Zamknij okno „Close”

Analiza jakości (fastqc)

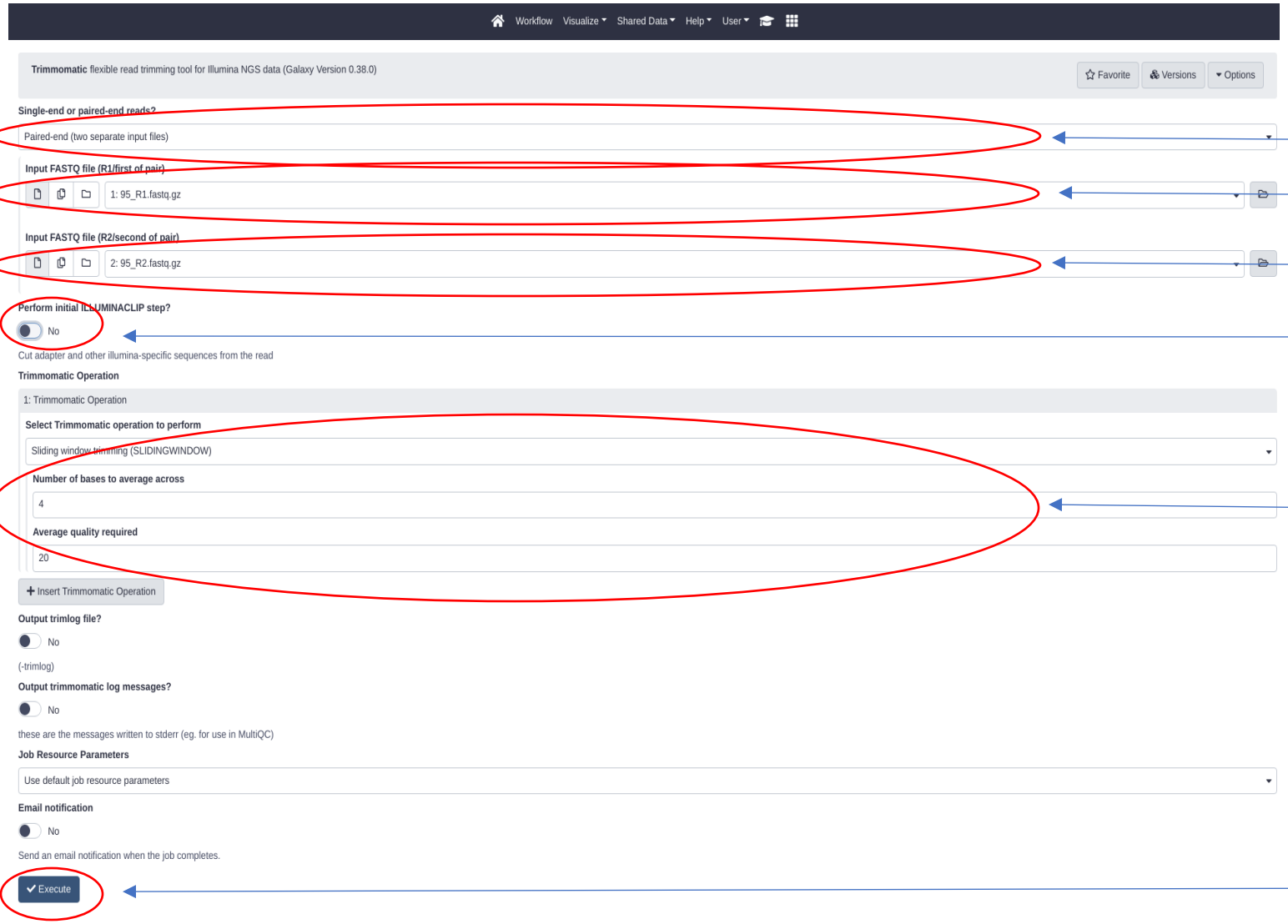


1. Wybierz z listy plik fastq.gz do oceny jakości.

2. Wciśnij "Execute".

3. Oglądaj wyniki analizy jakości po naciśnięciu podglądu pliku typu Webpage

Trimming (trimmomatic)



Zaznaczyć: "Paired-end"

Wybrać plik forward (R1)

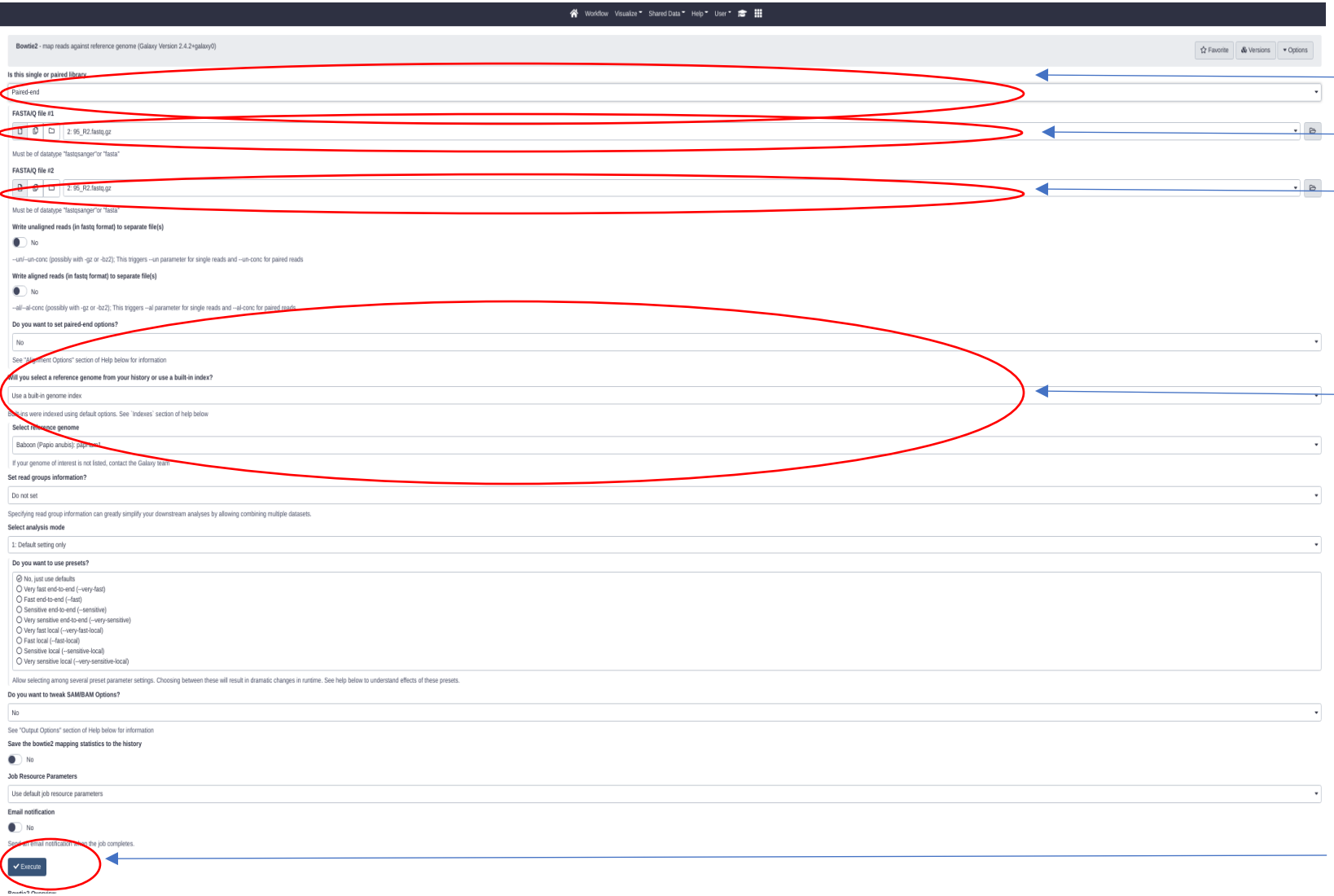
Wybrać plik reverse (R2)

Wybrać usuwanie adapterów Illuminy (opcjonalnie)

Wybrać metodę trimmingu (na początek np. SLIDINGWINDOW), opcje:
Number of bases: 4
Average quality: 30

Wybrać: "Execute"

Alligment – mapowanie odczytów do sekwencji referencyjnej (bowtie2)



Zaznaczyć: "Paired-end"

Wybrać plik forward (R1)

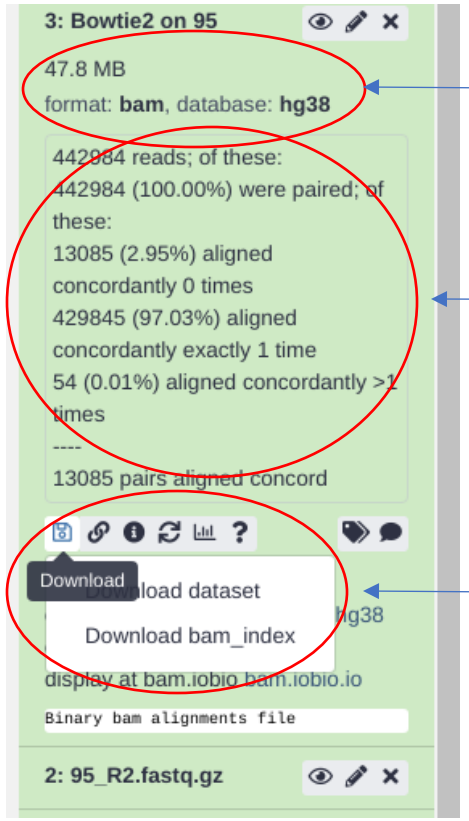
Wybrać plik reverse (R2)

Wybrać sekwencję referencyjną z lokalnej bazy danych (hg19 lub hg38)

Wybrać: "Execute"

Alligment – mapowanie odczytów do sekwencji referencyjnej (bowtie2)

Informacje o składaniu:

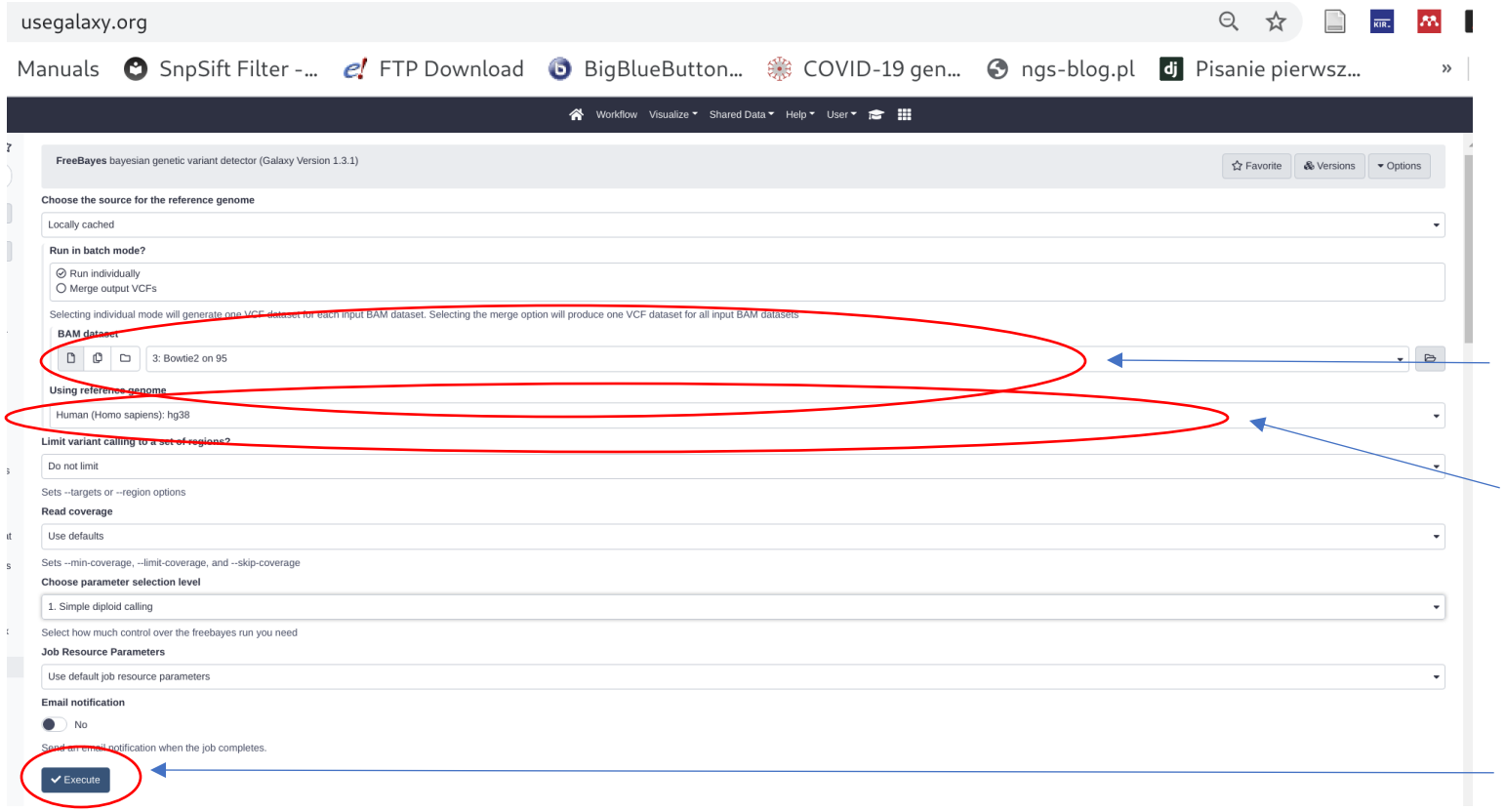


Informacja o formacie i rozmiarze poliku

Informacja o liczbie zmapowanych odczytów

Pobieranie plików bam oraz indeksów na lokalny komputer

Alligment – detekcja wariantów (FreeBayes)

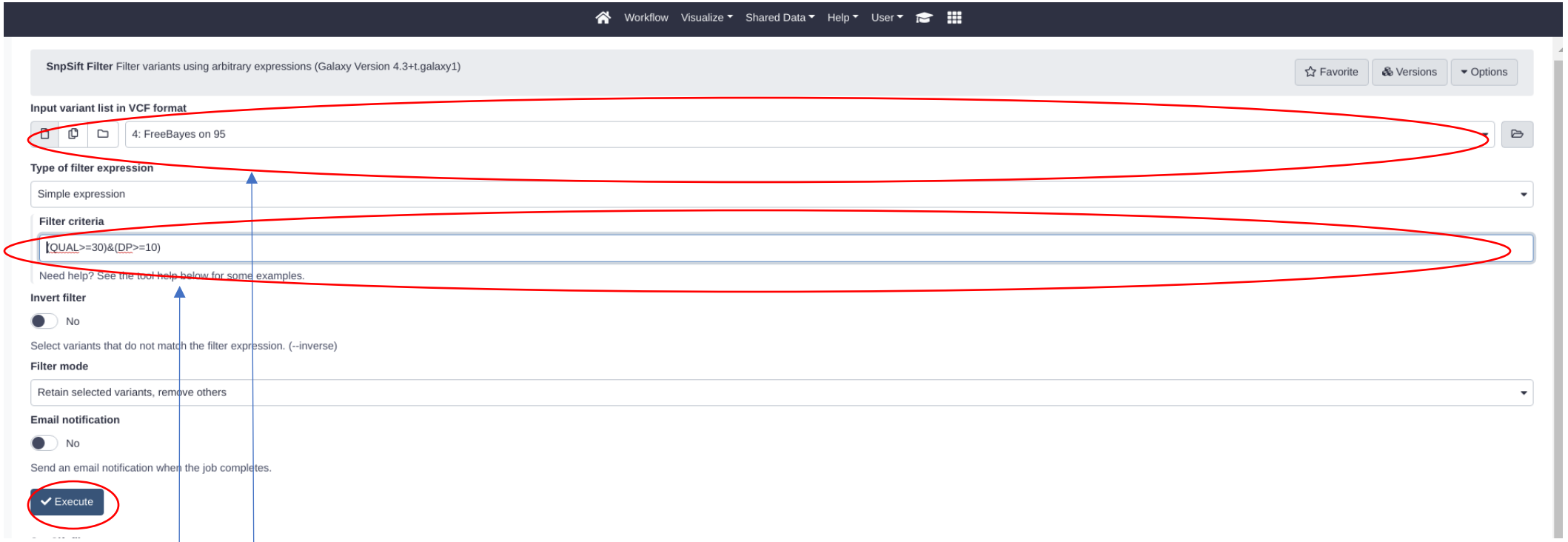


Wybrać plik w formacie bam

Wybrać sekwencję referencyjną z lokalnej bazy danych (hg19 lub hg38)

Wybrać: "Execute"

Alligment – filtrowanie wariantów (SnpSift Filter)

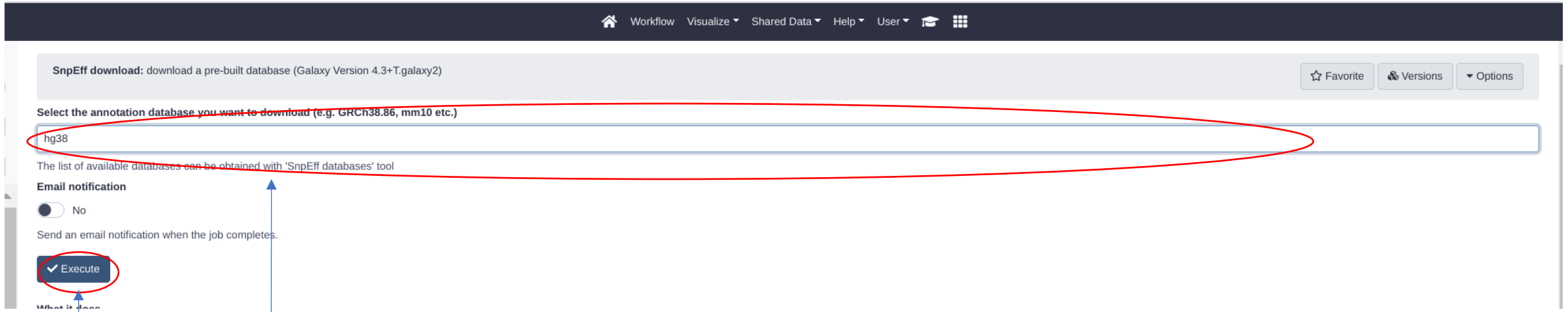


Wybrać plik w formacie VCF, np. Po detekcji warinatów (FreeBayes)

Wpisać kryteria filtrowania, np. (QUAL>=30)&(DP>=10), co oznacza średnia jakość odczytów o PhredScore (QUAL) powyżej 30 oraz pokrycie (DP) powyżej 10.

Wybrać: "Execute"

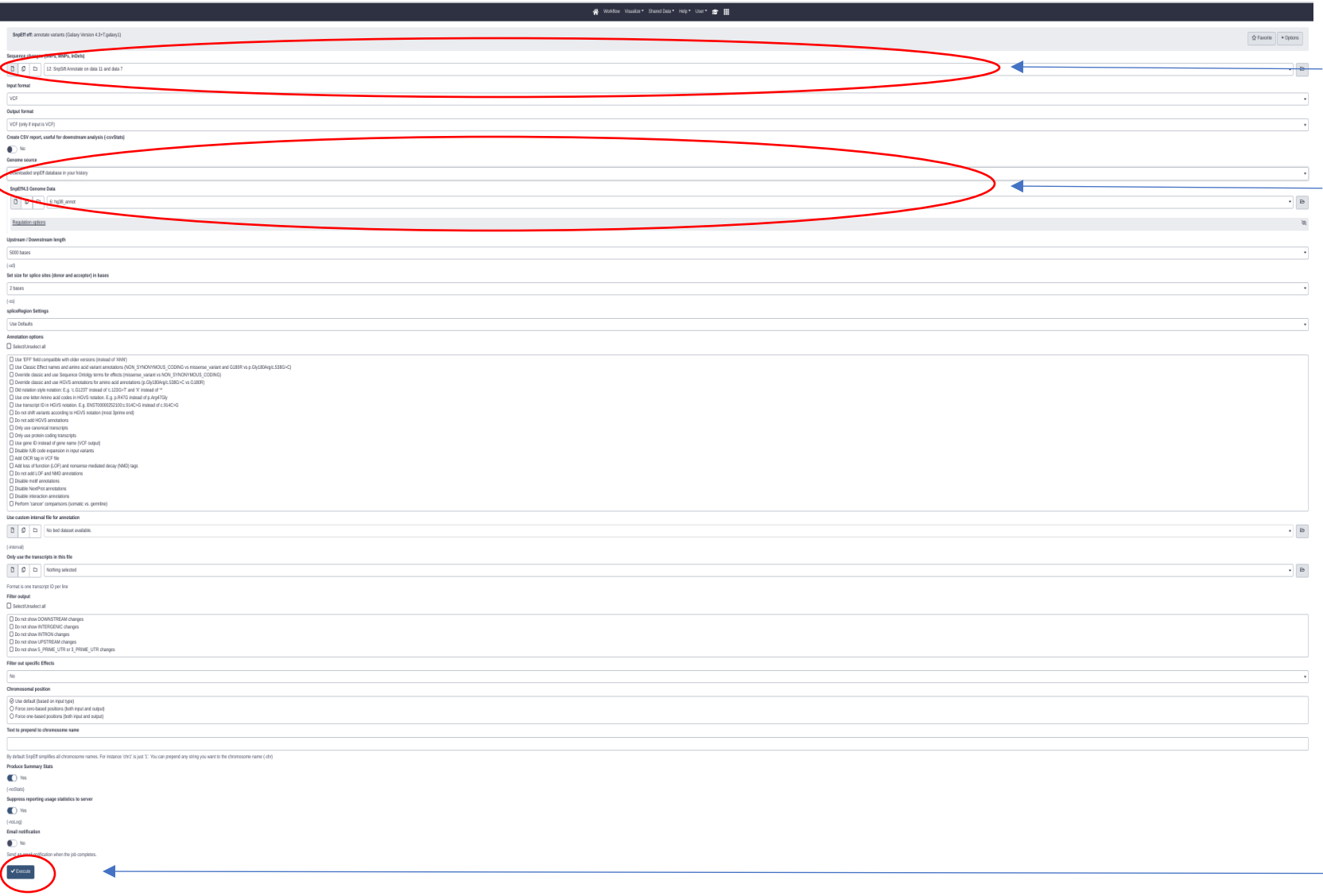
Alligment – ściągnięcie bazy danych annotacji (SnpEff download)



Wpisać nazwę bazy danych annotacji, np. "hg38" lub "hg19"

Wybrać: "Execute"

Annotacje wariantów (SnpEff eff)

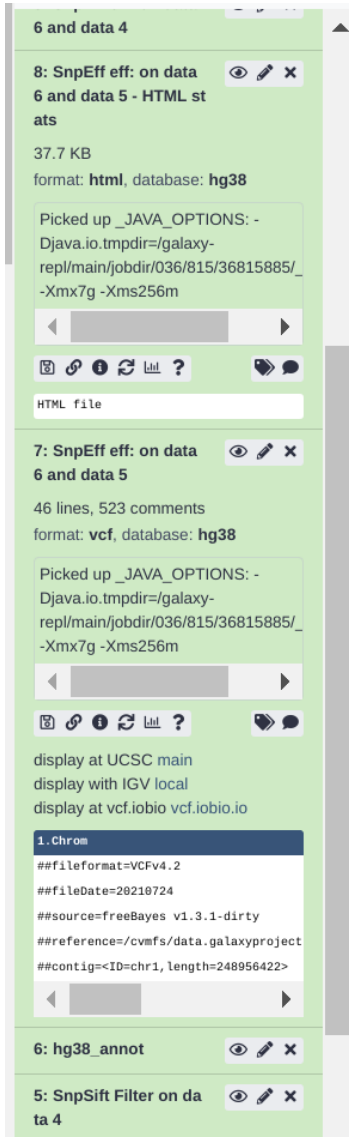


Wybrać plik csv z przefiltrowanymi danymi

Wybrać opcję "Download SnpEff database from history" i poniżej wybrać plik ze ściągniętą bazą danych annotacji.

Wybrać: "Execute"

Annotacje wariantów (SnpEff eff) - wyniki



Plik z raportem annotacji w formacie html.

Plik z danymi w formacie vcf.

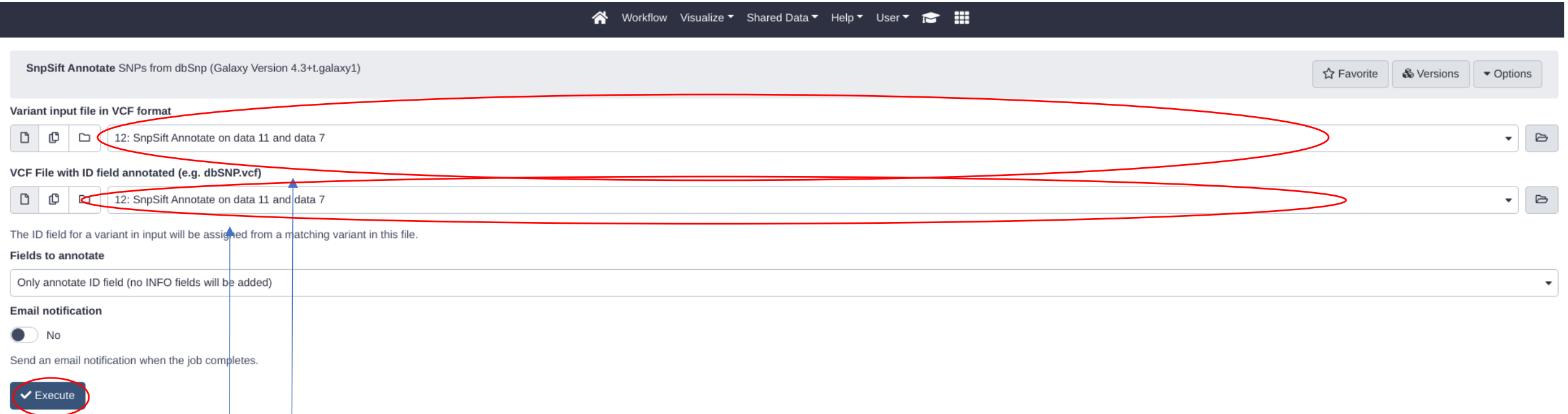
Annotacje wariantów - ściągniecie pliku z referencją annotacji

Ze strony:
http://ftp.ensembl.org/pub/release-104/variation/vcf/homo_sapiens/

Należy ściągnąć plik z referencją annotacji dla odpowiedniego chromosomu (w formacie vcf.gz).

Następnie należy zrobić upload tego pliku na serwer Galaxy używając narzędzia Upload Data.

Annotacja wariantów (SnpSift Annotate)

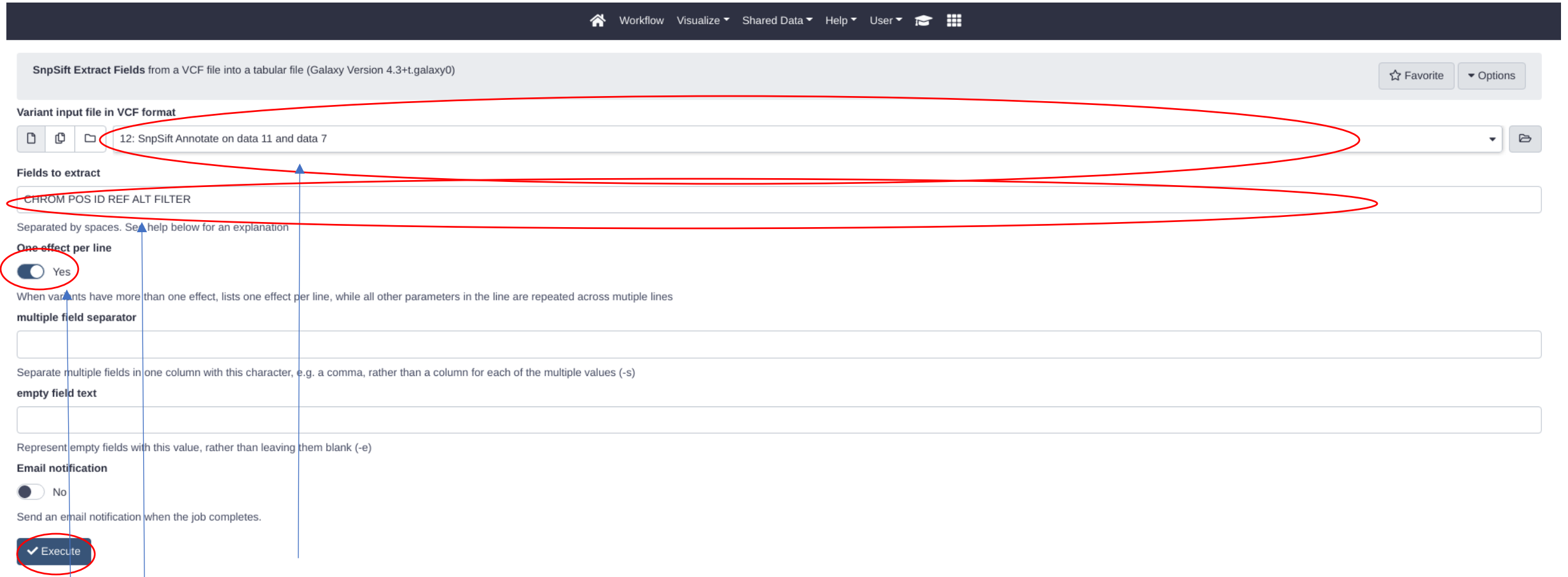


Wybrać plik w formacie VCF, po użyciu narzędzia SnpEff eff

Wybrać plik z referencją annotacji

Wybrać: "Execute"

Ekstrakcja pól (SnpSift Extract Field)



Wybrać plik w formacie VCF, po użyciu narzędzia SnpSift Annotate

Wybrać pola do ekstracji, np. CHROM POS ID REF ALT FILTER ANN[*].IMPACT ANN[*].GENE ANN[*].GENEID GEN[0].GT[0]

Zaznaczyć **YES**

Wybrać: "Execute"

Przykładowy plik wynikowy

CHROM	POS	ID	REF	ALT	IMPACT	GENE	ALLELE
chr4	154567669	rs6056	C	T	LOW	FGB	0/1
chr4	154567669	rs6056	C	T	LOW	FGB	0/1
chr4	154567933	rs2227411	A	G	MODIFIER	FGB	0/1
chr4	154567933	rs2227411	A	G	MODIFIER	FGB	0/1
chr4	154569680	rs4681	C	T	MODERATE	FGB	0/1
chr4	154569680	rs4681	C	T	LOW	FGB	0/1
chr4	154570607	rs4220	G	A	LOW	FGB	0/1
chr4	154571269	rs2227439	T	C	MODIFIER	FGB	1/1
chr4	154571269	rs2227439	T	C	HIGH	FGB	1/1