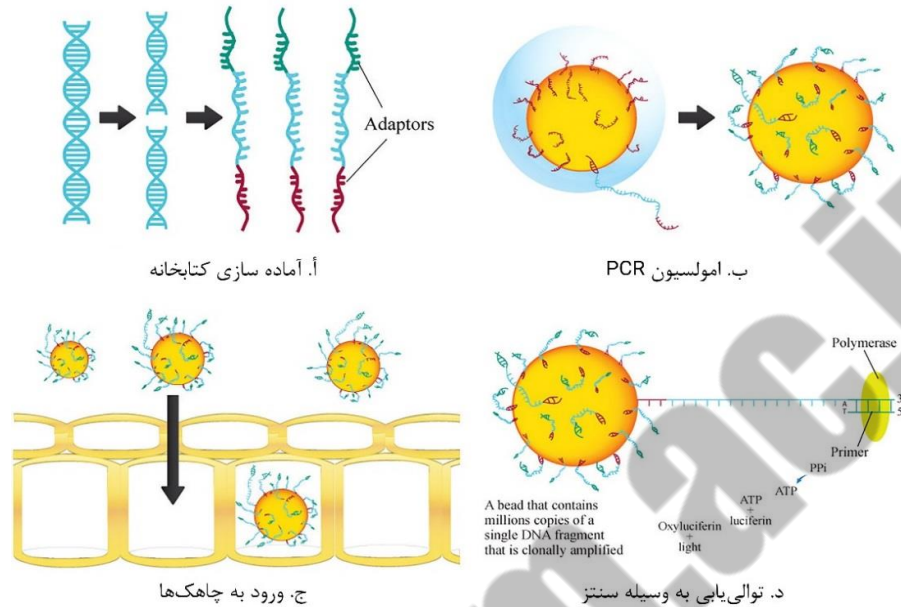
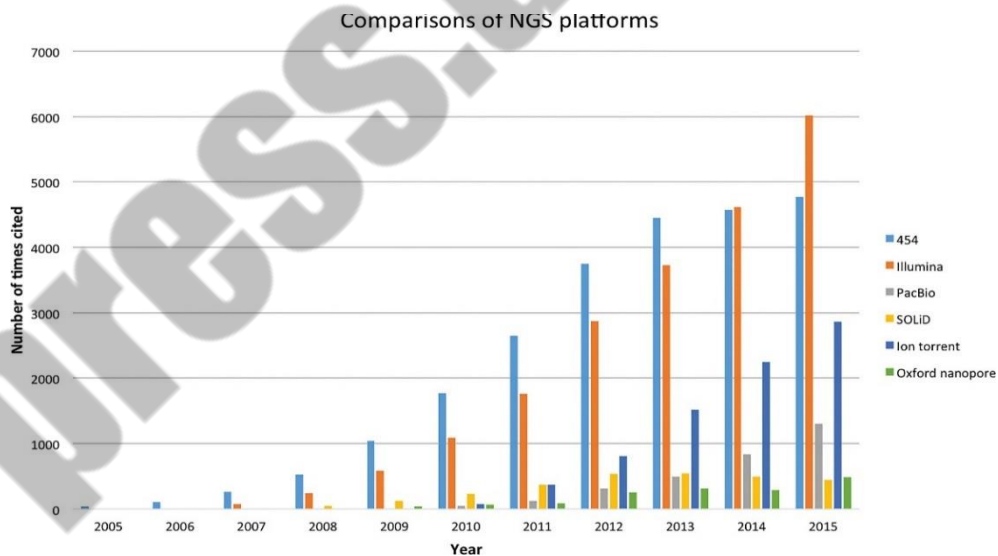


ضمیمه ۱

تصاویر رنگی

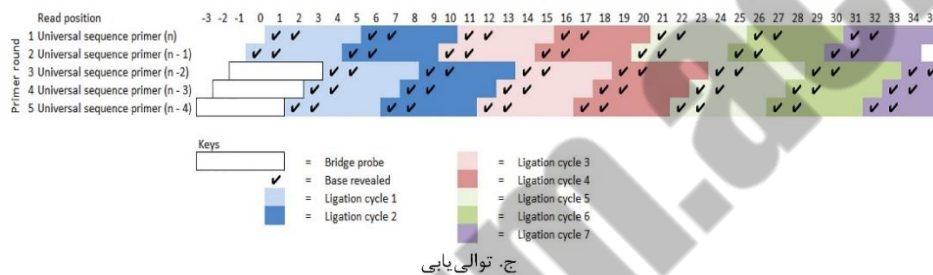
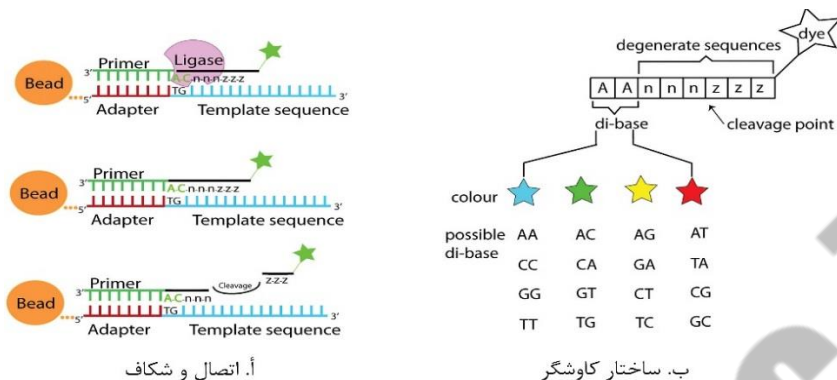


شکل ۱-۲ روش پیروسکوئینسینگ 454: ا. به‌طور خلاصه، این روش با ایجاد کتابخانه DNA تکرار شده‌ای آغاز می‌شود که در هر دو انتها واجدا داپتور است. ب. توالی آداپتور برای اتصال قطعات DNA به دانه‌های کوچک استفاده می‌شود. به‌دنبال آن امولسیون PCR برای تولید میلیون‌ها نسخه منفرد از قطعه DNA در هر دانه صورت می‌گیرد. ج. پس از آن، دانه‌ها مورد اشاره در دستگاهی معروف به PicoTiter Plate جهت توالی‌یابی با تشخیص درج نوکلئوتید در زمان PCR قرار می‌گیرند. د. با درج یک باز، پیروفسفات معدنی (PPi) آزاد و توسط سولفوریلاز به ATP تبدیل می‌شود و لوسیفران از ATP برای تبدیل لوسیفرین به اکسی‌لوسیفرین و نور استفاده می‌کند.

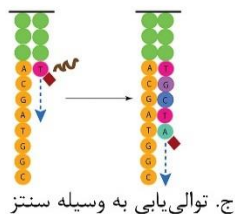
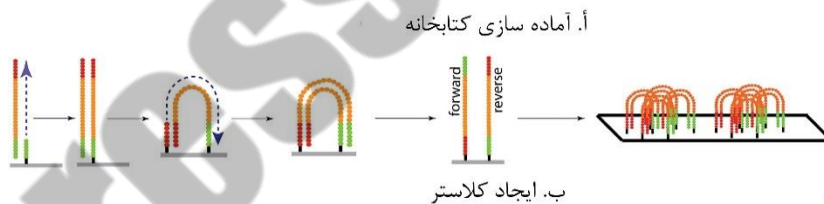
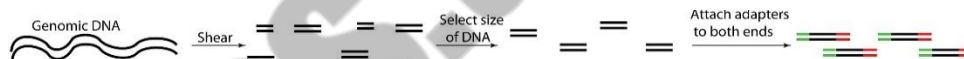


شکل ۱-۳ مقایسه محبوبیت پلت‌فرم‌های NGS در طول سال‌ها با استفاده از کلمات کلیدی به‌عنوان اصطلاحات جست‌وجو در گوگل اسکولار؛ کلمات کلیدی جست‌وجوها به‌شرح زیرند: 454 "454 Sequencing" یا "454 Pirosequencing"؛ Illumina "Illumina Sequencing" یا "Sequencing Solexa"؛ PacBio "PacBio" یا "PacBio Sequencing"؛ SOLiD "SOLiD sequencing"؛ Ion torrent "Ion torrent"؛ Oxford "Oxford nanopore" nanopore.

ضمیمه ۱: تصاویر رنگی ۲



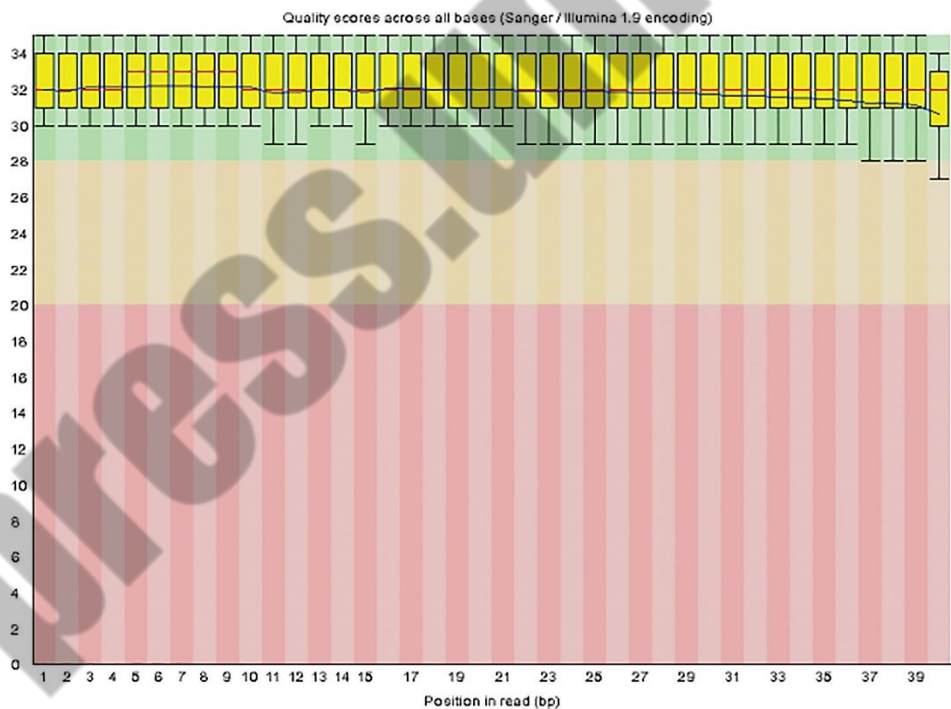
شکل ۱-۴ مروری بر روند توالی‌یابی SOLiD: ا. هر چرخه اتصال با کاوشگر 8-mer متصل‌شونده به الگو شروع و سپس برای تشخیص به آن متصل می‌شود. سپس، شکاف برای حذف سه نوکلئوتید و یک رنگ برجسته‌خورده رخ می‌دهد. ب. ساختار کاوشگر 8-mer. ج. تصویری از روند توالی‌یابی در طی هر چرخه اتصال آگارگر. موقعیت صفر بخشی از توالی آداپتور است و توالی الگو فقط از موقعیت ۱ به بعد آشکار می‌شود.



شکل ۱-۵ مروری بر روند توالی‌یابی ایلومینا: ا. DNA ژنومی برش‌خورده، براساس اندازه انتخاب و سپس در هر دو انتها به آداپتور وصل می‌شود. ب. کتابخانه DNA بر روی فلوسل قرار داده شده است تا در یک انتهای آداپتور به پروب‌هایی که روی سطح پوشیده شده‌اند، بتواند اتصال مکنکی برقرار کند. سپس تکثیر پل ۲ در فاز جامد برای تولید کلاسترهایی از قطعات DNA منفرد صورت می‌گیرد. پس از آن،

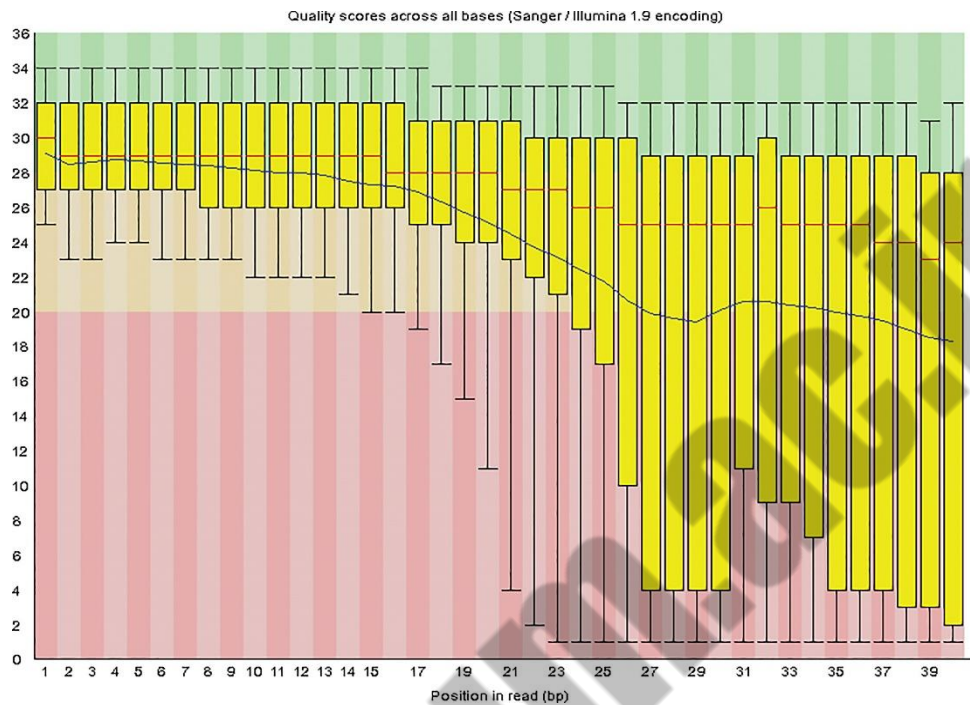
1. Flowcell
2. Bridge

رشته‌های معکوس برش یافته و شسته می‌شوند. یک کلاستر از توالی‌ها برای فعال کردن افزایش سیگنال در هنگام تشخیص باز مورد نیاز است. ج. توالی‌یابی با شروع اتصال یک آغازگر به باقی‌مانده رشته رو به جلو آغاز و از یک DNA پلیمرز برای مشارکت نوکلئوتید دارای برچسب فلورسانس مناسب در بین چهار حالت ممکن (به‌عنوان مثال A, C, T یا G) استفاده می‌شود. در هر چرخه، فقط یک نوکلئوتید به‌دلیل استفاده از خاتمه‌دهنده برگشت‌پذیر مشارکت داده می‌شود و در این مرحله تشخیص رخ می‌دهد. این فرایند با مرحله برش ادامه می‌یابد و واکنش برای چرخه بعدی آماده اجرا می‌گردد.

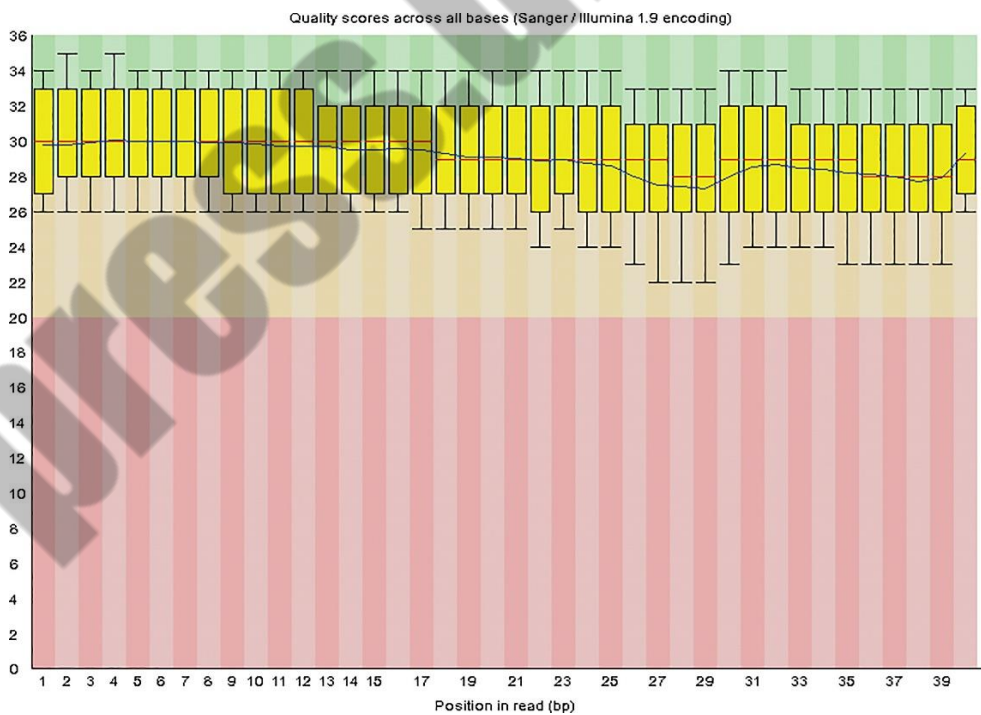


شکل ۳-۴ مثالی از نتایج خروجی برای نمرات کیفیت خوب توالی

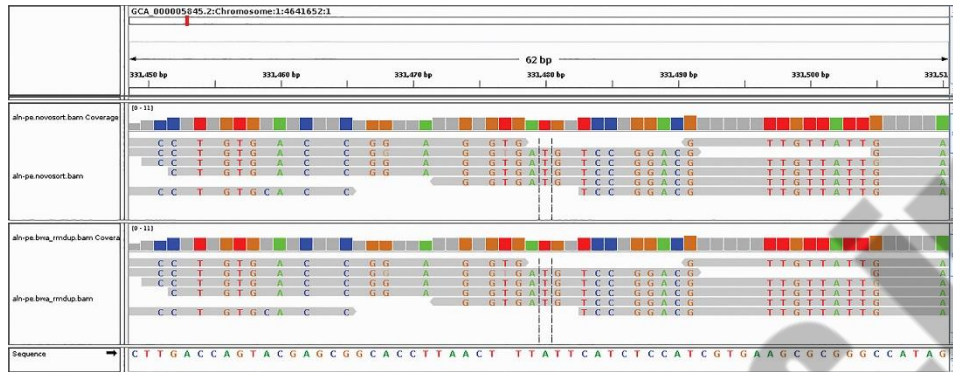
ضمیمه ۱: تصاویر رنگی ۵



شکل ۳-۹ مثالی از نتایج خروجی برای توالی با نمرات کیفی بد

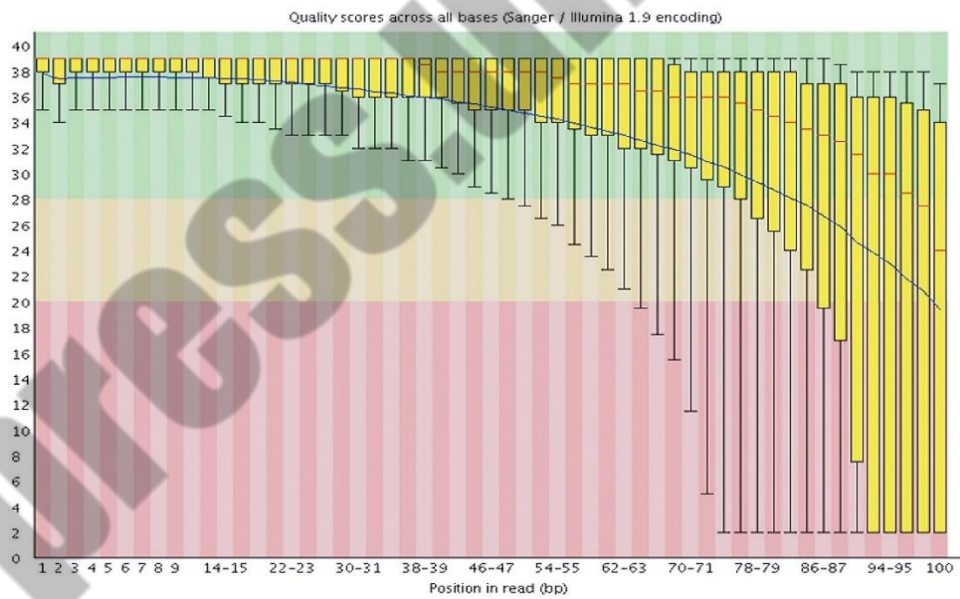


شکل ۳-۱۱ نتیجه FastQC پس از حذف بازهای کم کیفیت



شکل ۴-۱ نمای بزرگ‌نمایی‌شده از خوانش‌های هم‌ردیف‌شده در IGV

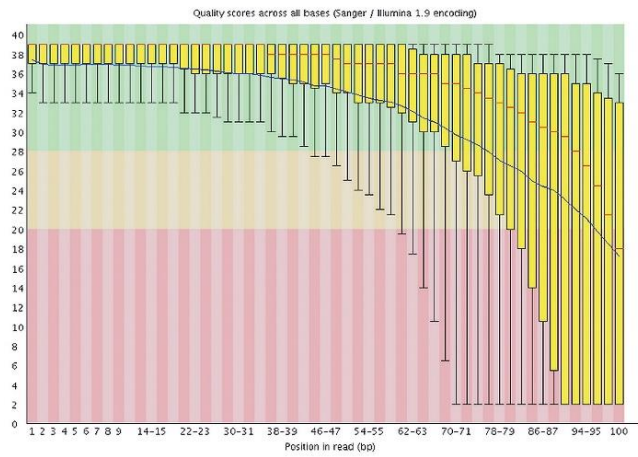
Per base sequence quality



شکل ۵-۸ نمره کیفیت توالی فایل s_6_1.2M.fastq کیفیت base call پس از موقعیت ۶۳ کاهش یافته است.

ضمیمه ۱: تصاویر رنگی

Per base sequence quality



History

search datasets

Sequence Quality Check
6 shown

872.87 MB

6: FastQC on data 2: RawData

5: FastQC on data 2: Webpage
247.9 KB
format: html, database: 2
View data

Picked up _JAVA_OPTIONS:
-Djava.io.tmpdir=/galaxy-repl/main/scratch

HTML file

4: FastQC on data 1: RawData

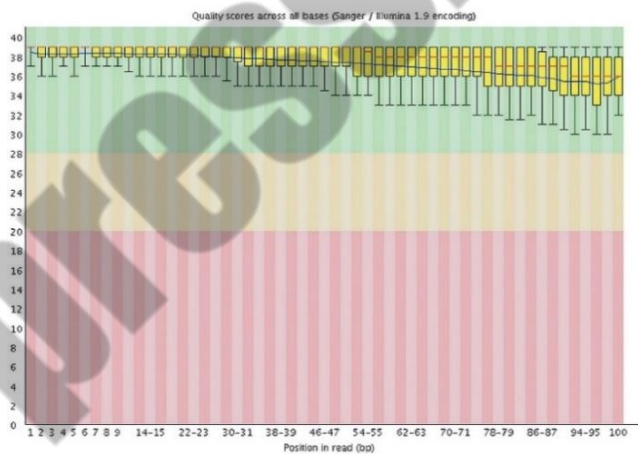
3: FastQC on data 1: Webpage

2: s_6_2.2m.fastq

1: s_6_1.2m.fastq

شکل ۵-۹ نمره کیفیت توالی فایل s_6_2.2m.fastq

Per base sequence quality



History

18: FastQC on data 10: RawData

17: FastQC on data 10: Webpage

16: FastQC on data 9: RawData

15: FastQC on data 9: Webpage

14: FastQC on data 8: RawData

13: FastQC on data 8: Webpage

12: FastQC on data 7: RawData

11: FastQC on data 7: Webpage
View data

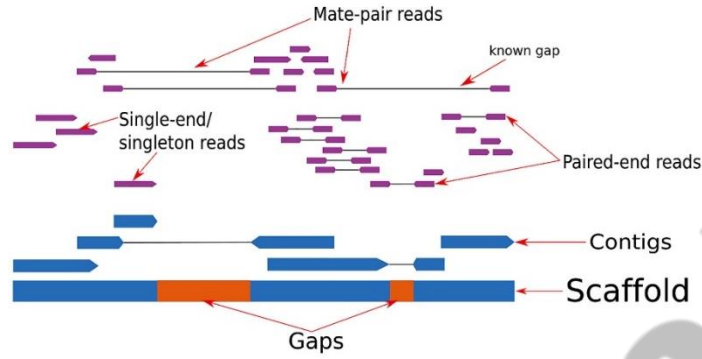
10: Trimmomatic on s_6_2.2M.fastq (R2 unpaired)

9: Trimmomatic on s_6_1.2M.fastq (R1 unpaired)

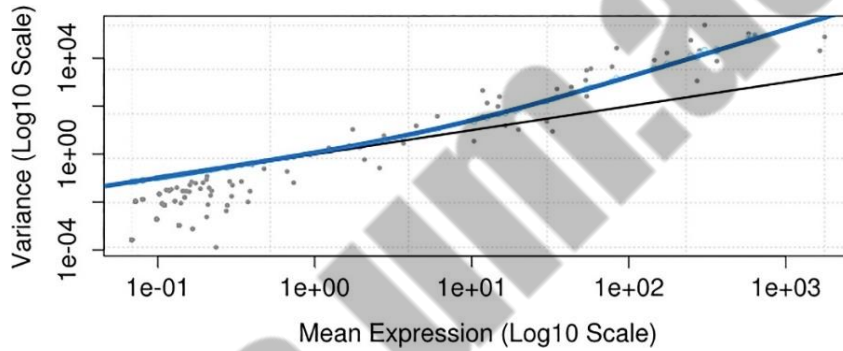
8: Trimmomatic on s_6_2.2M.fastq (R2 paired)

7: Trimmomatic on s_6_1.2M.fastq

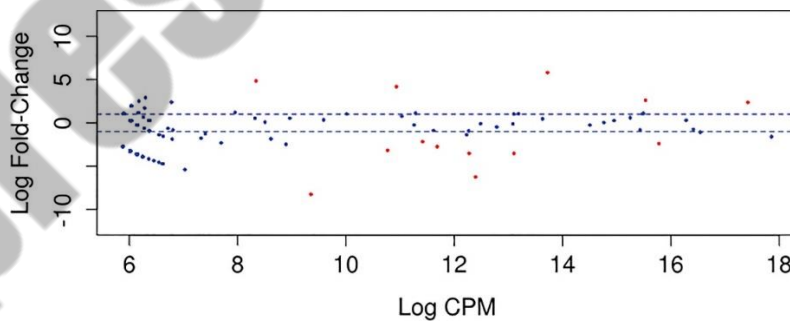
شکل ۵-۲۰ نمره کیفیت توالی برای فایل s_6_1.2M.fastq پس از پیرایش



شکل ۶-۱ تصویری از سرهم‌بندی شدن خوانش‌های تک‌انتهایی، جفت‌انتهایی و دوطرفه بلند برای تشکیل اسکافولد



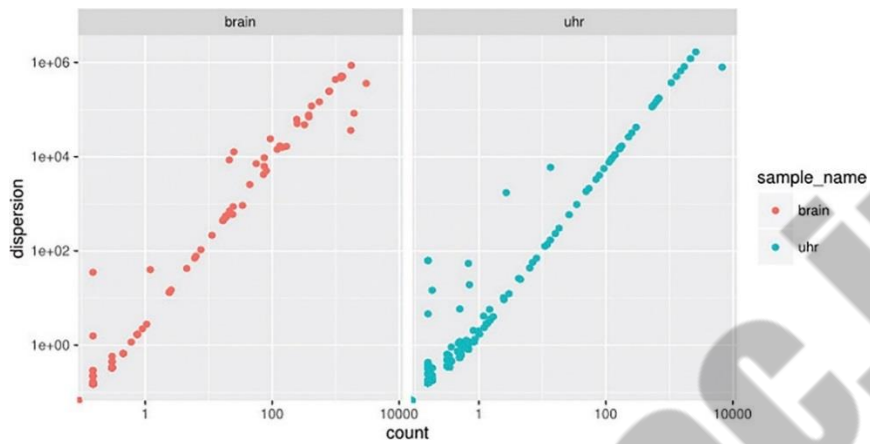
شکل ۸-۳ پلات میانگین-واریانس: رابطه میانگین-واریانس براساس پراکندگی تخمین زده شده است. ا. واریانس‌های خام شمارش (نقاط خاکستری)، ب. واریانس‌ها با استفاده از پراکندگی tagwise (نقاط آبی روشن)، ج. واریانس‌ها با استفاده از پراکندگی مشترک (خط آبی توپُر)، د. واریانس پواسون (خط سیاه توپُر)



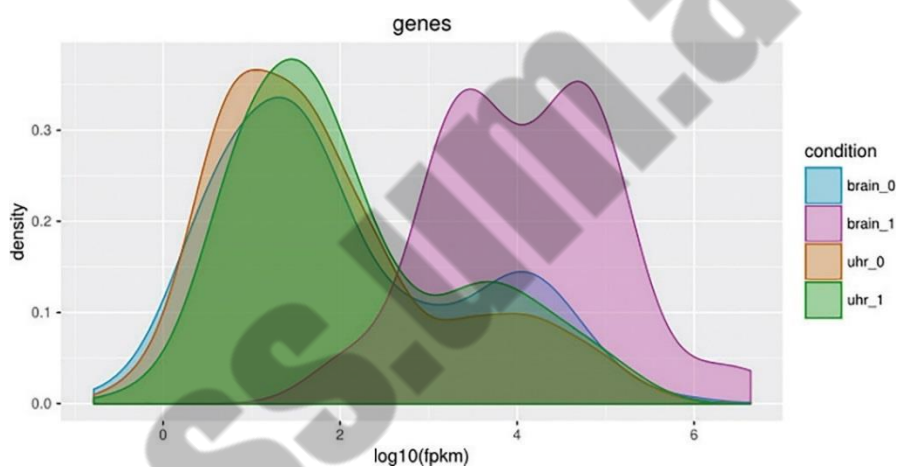
شکل ۸-۴ پلات MA لگاریتم Fold-Change در مقابل لگاریتم CPM؛ پلات رابطه بین غلظت و Fold-change در ژن‌ها را نشان می‌دهد. خط نقطه‌چین افقی نشان‌دهنده مقدار Fold-change بزرگ‌تر و یا مساوی ۲ است. ژن‌های متمایز بیان‌شده (با نرخ یافته کاذب کمتر از ۰/۰۵) به رنگ قرمز و ژن‌هایی که بیان افتراقی^۲ ندارند، با رنگ آبی نمایش داده شده است.

1. raw variances of the counts
2. Non-differentially expressed

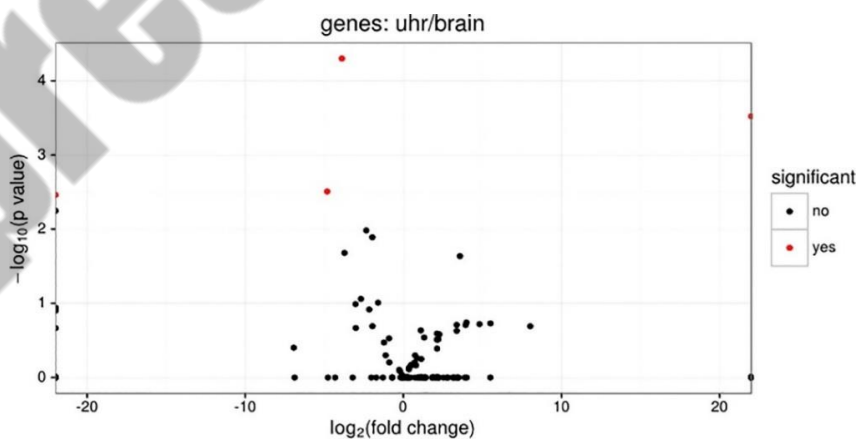
ضمیمه ۱: تصاویر رنگی ۹



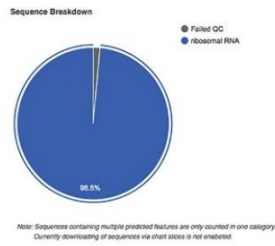
شکل ۵-۸ طرح پراکنش نمونه‌های مغز و uhr



شکل ۶-۸ طرح توزیع ژن‌های FPKM برای هر تکرار نمونه



شکل ۹-۸ طرح Volcano

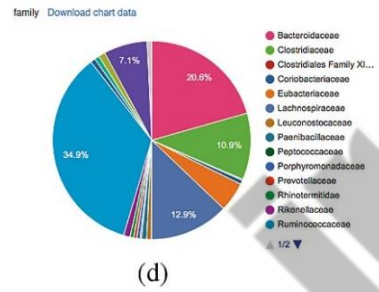


(a)

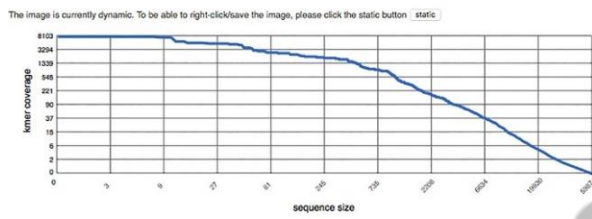
ANALYSIS STATISTICS

Upload: bp Count	1,978,068 bp
Upload: Sequences Count	5,907
Upload: Mean Sequence Length	334 ± 7 bp
Upload: Mean GC percent	53 ± 3 %
Post QC: bp Count	1,929,068 bp
Post QC: Sequences Count	5,756
Post QC: Mean Sequence Length	335 ± 6 bp
Post QC: Mean GC percent	53 ± 2 %
Processed: Predicted rRNA Features	979
Alignment: Identified rRNA Features	923

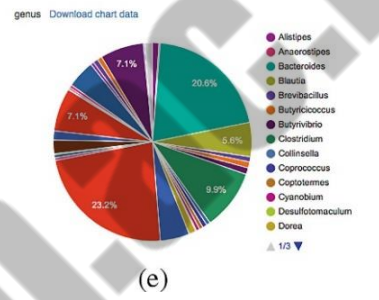
(b)



(d)

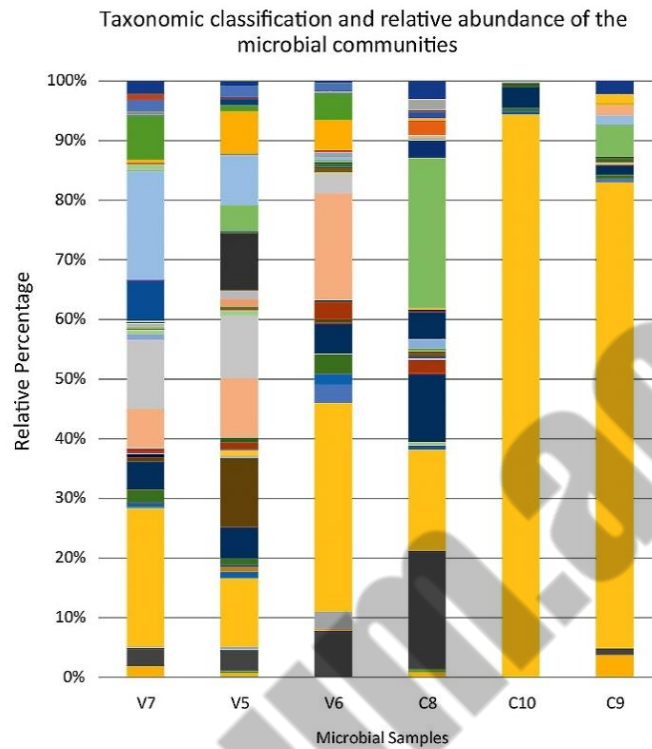


(c)



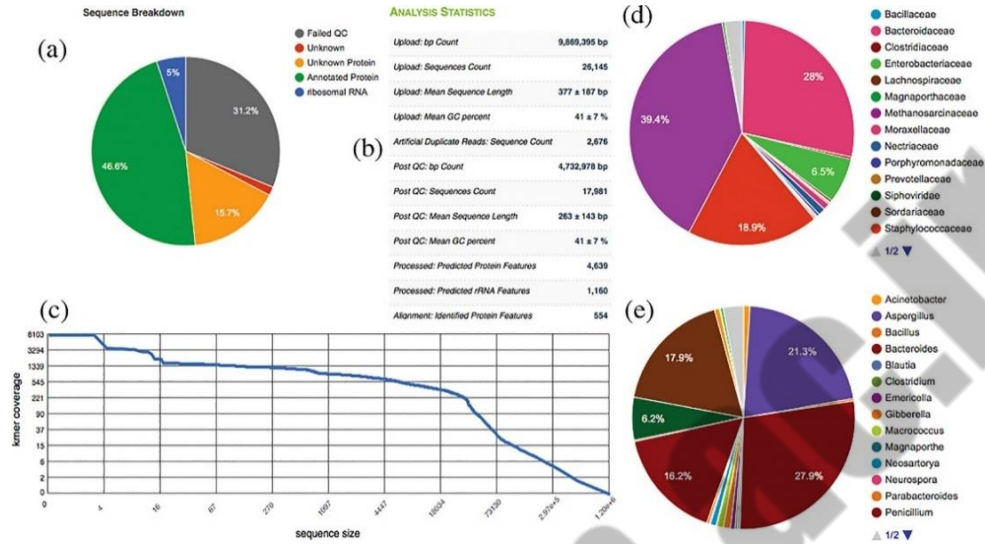
(e)

شکل ۹-۷ = تفکیک توالی، b = آنالیزهای آماری، c = منحنی Kmer، d = تفکیک خانواده، e = تفکیک جنس

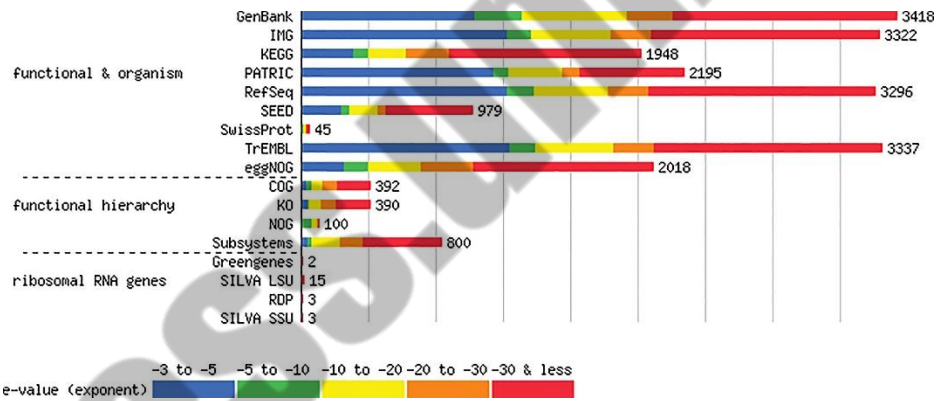


- | | | | | | |
|------------------------|--------------------|----------------------|----------------------|-------------------------|------------------------|
| ■ Abiotrophia | ■ Acetivibrio | ■ Acholeplasma | ■ Jonquetella | ■ Kineococcus | ■ Klebsiella |
| ■ Acidaminococcus | ■ Actinomyces | ■ Akkermansia | ■ Kordia | ■ Lachnospira | ■ Lactobacillus |
| ■ Alcaligenes | ■ Alicyclobacillus | ■ Alistipes | ■ Lactococcus | ■ Leptotrichia | ■ Leuconostoc |
| ■ Alkaliphilus | ■ Anaerostipes | ■ Anaerotruncus | ■ Listeria | ■ Maribacter | ■ Marinifilabilia |
| ■ Anaplasma | ■ Arthrobacter | ■ Bacillus | ■ Megamonas | ■ Megasphaera | ■ Mesoplasma |
| ■ Bacteroides | ■ Barnesiella | ■ Bifidobacterium | ■ Microbacterium | ■ Mitsukella | ■ Moorella |
| ■ Blautia | ■ Brucella | ■ Burkholderia | ■ Morganella | ■ Mycobacterium | ■ Mycoplasma |
| ■ Butyricicoccus | ■ Butyricimonas | ■ Butyrivibrio | ■ Myroides | ■ Neisseria | ■ Odoribacter |
| ■ Caldicellulosiruptor | ■ Candidatus | ■ Capnocytophaga | ■ Oribacterium | ■ Oryza | ■ Oscillatoria |
| ■ Catenibacterium | ■ Chloroherpeton | ■ Citrobacter | ■ Oxalobacter | ■ Paenibacillus | ■ Parabacteroides |
| ■ Clostridium | ■ Collinsella | ■ Coprococcus | ■ Paraprevotella | ■ Paulinella | ■ Peptoniphilus |
| ■ Coptotermes | ■ Corynebacterium | ■ Cyanobium | ■ Peptostreptococcus | ■ Phascolarctobacterium | ■ Porphyromonas |
| ■ Cytophaga | ■ Dehalobacter | ■ Desulfitobacterium | ■ Prevotella | ■ Propionibacterium | ■ Prostheobacter |
| ■ Desulfotomaculum | ■ Desulfonauticus | ■ Desulfosporosinus | ■ Proteus | ■ Pseudobutyrvibrio | ■ Pseudoflavonifractor |
| ■ Desulfotomaculum | ■ Dialister | ■ Dorea | ■ Rhodococcus | ■ Rikenella | ■ Robinsoniella |
| ■ Eggerthella | ■ Erysipelothrix | ■ Escherichia | ■ Roseburia | ■ Rothia | ■ Ruminococcus |
| ■ Ethanoligenens | ■ Eubacterium | ■ Faecalibacterium | ■ Sedimentibacter | ■ Selenomonas | ■ Sinorhizobium |
| ■ Fibrobacter | ■ Finegoldia | ■ Flavobacterium | ■ Slackia | ■ Soehngenia | ■ Sphingobacterium |
| ■ Gemella | ■ Geobacillus | ■ Gordonia | ■ Spiroplasma | ■ Staphylococcus | ■ Streptococcus |
| ■ Gramella | ■ Granulicatella | ■ Heliobacillus | ■ Streptomyces | ■ Subdoligranulum | ■ Synechococcus |
| ■ Heliobacterium | ■ Heliophilum | ■ Heliorestis | ■ Syntrophococcus | ■ Thermincola | ■ Thermobispora |
| ■ Hespellia | ■ Holdemania | ■ Hymenobacter | ■ Tissierella | ■ Veillonella | ■ Weissella |

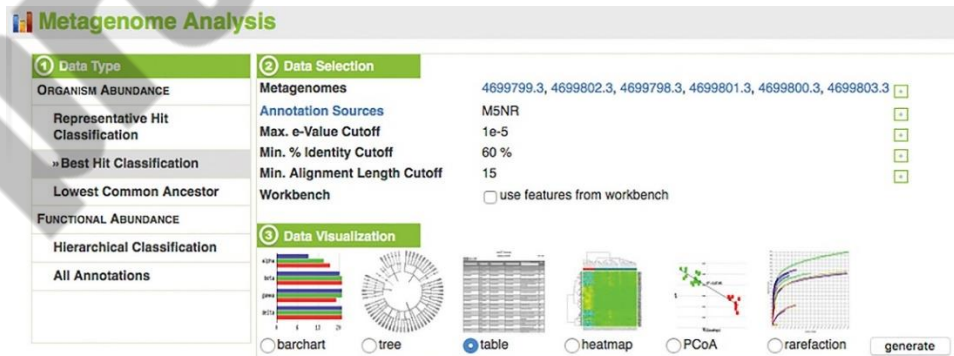
شکل ۸-۹ طبقه‌بندی تاکسونومیک و نمودار فراوانی نسبی جوامع میکروبی از نمونه‌های بیماری کرون (C8، C9 و C10) و نمونه‌های کنترل (V5، V6 و V7). نمونه‌های میکروبی تا سطح جنس طبقه‌بندی شدند.



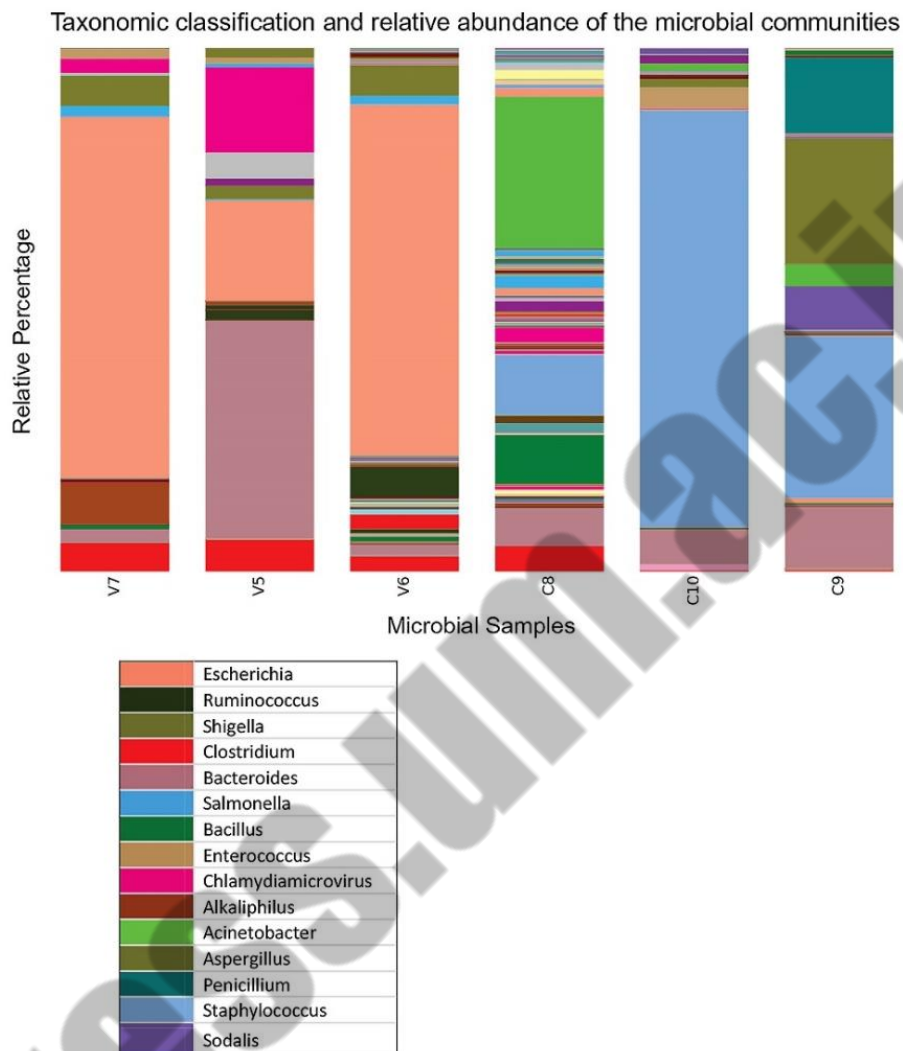
شکل ۹-۹ = تفکیک توالی، b = آنالیز آماری، c = منحنی k-mer، d = تفکیک خانواده، e = تفکیک جنس



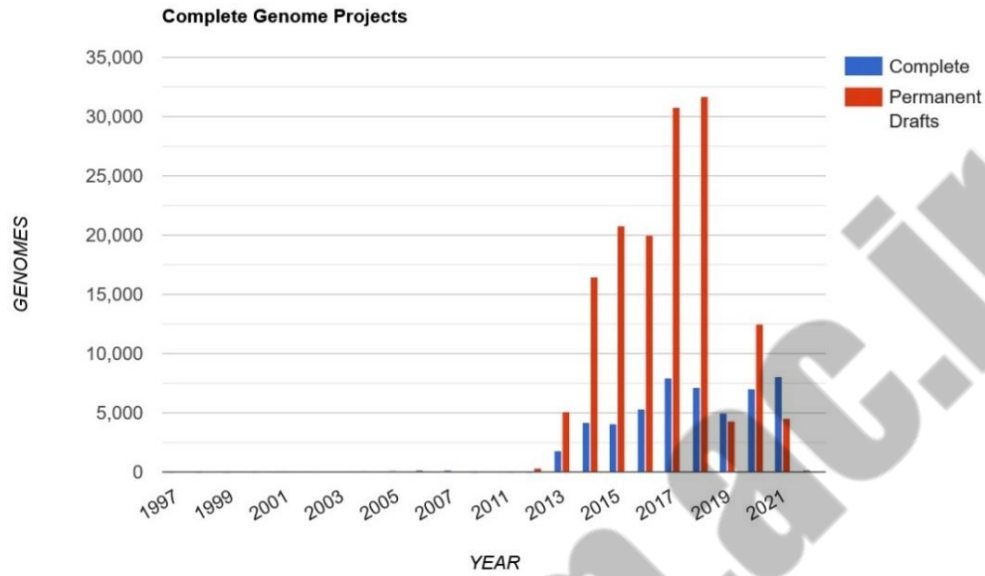
شکل ۹-۱۰ آنالیز عملکردی تفکیک برای پایگاه داده‌های مختلف



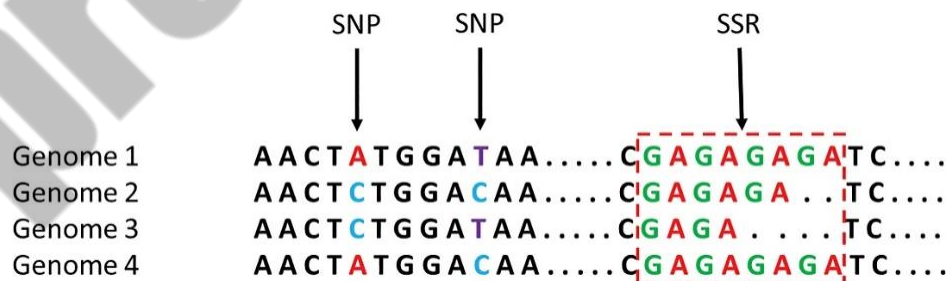
شکل ۹-۱۱ آنالیز متازنوم



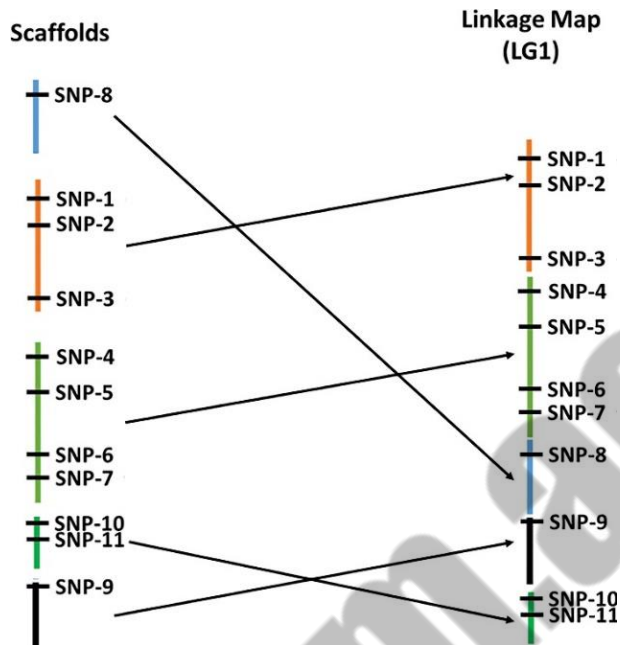
شکل ۹-۱۲ طبقه‌بندی تاکسونومی و نمودار فراوانی نسبی جوامع میکروبی از نمونه‌های بیماری کرون (C8, C9, C10) و نمونه‌های کنترل (V5, V6, V7) تولیدشده در QIIME؛ نمونه‌های میکروبی تا سطح جنس طبقه‌بندی



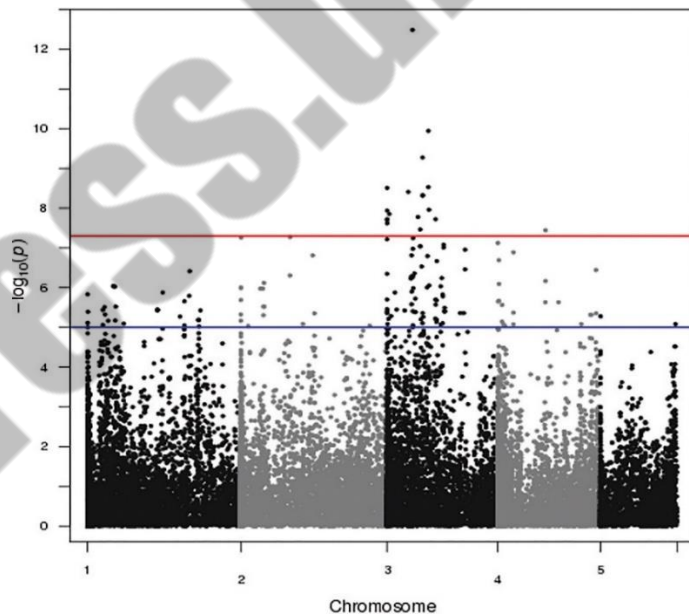
شکل ۱-۱۰ کل تعداد ژنوم کامل و پیش‌نویس دائمی ژنوم در GOLD (براساس سال و وضعیت توالی‌یابی): کامل- ژنوم کامل؛ پیش‌نویس‌های دائمی- پیش‌نویس ژنوم‌ها که به‌روز می‌شوند.



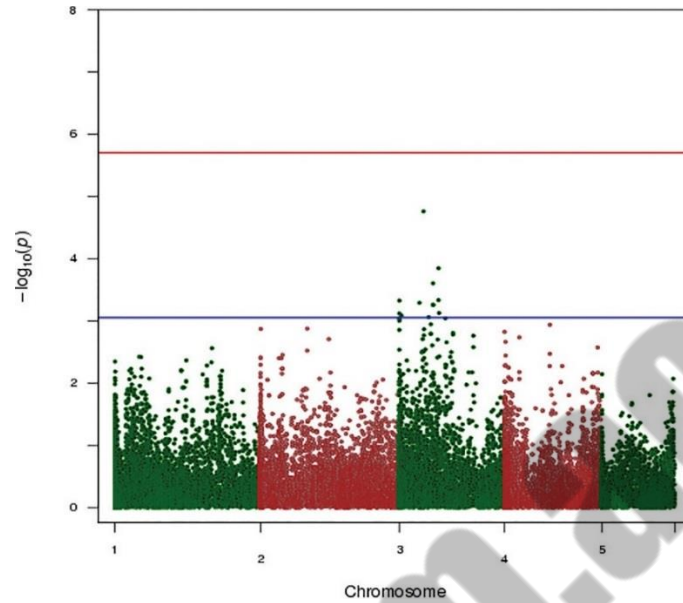
شکل ۱-۱۰ پلی‌مورفیسم تکنوکلوئیدی (SNP) و توالی تکراری ساده (SSR): کادر قرمز



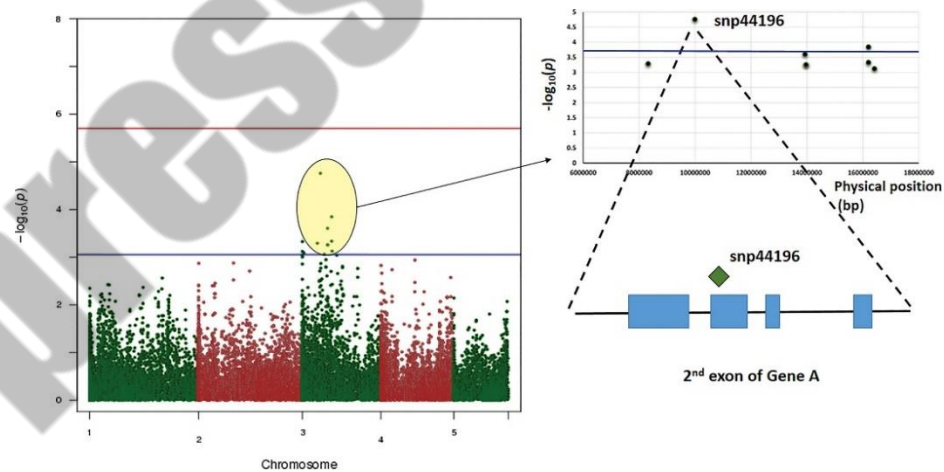
شکل ۱۰-۱۱ تثبیت اسکافولدها بر اساس نقشه پیوستگی LG1: «نقشه پیوستگی» در اینجا پس از بازآرایی اسکافولد به عنوان مولکول کاذب/کروموزوم گفته می‌شود.



شکل ۱۰-۱۷ پلات Manhattan از GWAS تصحیح‌نشده: خط پیشنهادی پیش‌فرض (آبی) $-\log_{10}(1e^{-5})$ خط پیش‌فرض ژنوم گسترده (قرمز) $-\log_{10}(1e^{-8})$



شکل ۱۰-۱۸ یک پلات منتهن رنگی از کنترل ژنومی (GC) تصحیح شده GWAS. آستانه بونفرونی (Bonf) تعدیل شده (قرمز)، آستانه تعدیل شده GC (آبی).



شکل ۱۰-۱۹ ژن بالقوه (ژن A) در GWAS برای صفات باینری مشخص شده است. SNP های مشخص شده با رنگ زرد در ناحیه پیک در GWAS شناسایی شده‌اند. نشانگر snp44196 (لوزی سبز تیره) در اگزون دوم ژن A قرار دارد.