

Sadržaj

Uvod	1
1.1. Istorijat i razvoj sekvenciranja	3
1.1.1. Prva generacija sekvenciranja	4
1.1.2. Druga generacija sekvenciranja	6
1.1.3. Treća generacija sekvenciranja	9
1.1.4. Poređenje performansi sekvencera	10
1.2. NGS tehnologija za sekvenciranje RNK	12
1.2.1. Formati podataka	12
1.2.2. Metode sekvenciranja RNK	17
Problem određivanja kvaliteta RNAseq podataka	20
2.1. Alat FastQC	22
2.1.1. Modul Basic Statistics i opšte mere kvaliteta alata FastQC	23
2.1.2. Uporedne mere kvaliteta FastQC alata	26
2.1.3. Mere kontaminacije FastQC alata	30
2.2. Izvršna datoteka Qreport	31
2.2.1. Modul General information i opšte mere kvaliteta Qreport izvršne datoteke	32
2.2.2. Uporedne mere kvaliteta Qreport izvršne datoteke	34
2.3. AfterQC alat	38
2.3.1. Modul AfterQC summary i opšte mere kvaliteta AfterQC alata	38
2.3.2. Uporedne mere kvaliteta AfterQC alata	41
2.4. Poređenje alata za određivanje kvaliteta RNAseq podataka	44
Studija slučaja određivanja kvaliteta Illumina RNK sekvenci	49
3.1. Modul Basic Statistics i opšte mere kvaliteta RNK sekvenci	50
3.2. Uporedne mere kvaliteta RNK sekvenci	51
3.3. Mere kontaminacije RNK sekvenci	55
Filtriranje Illumina RNAseq podataka	57
4.1. Uklanjanje baza lošeg kvaliteta na lokalnom nivou	58
4.2. Uklanjanje pristrasnosti kod početnih baza	60

4.3.	Uklanjanje kontaminata	60
4.3.1.	Uklanjanje kontaminata u užem smislu	61
4.3.2.	Uklanjanje kontaminata u širem smislu	62
4.4.	Uklanjanje duplikata	64
4.5.	Filtriranje kratkih nukleotidnih sekvenci	65
4.6.	Evaluacija različitih pristupa filtriranju RNAseq podataka	66
4.6.1.	Ulazni podaci	67
4.6.2.	Mapiranje RNK sekvenci	71
Alati za filtriranje RNAseq podataka		86
5.1.	Trimmomatic alat	88
5.1.1.	Uklanjanje adaptera	89
5.1.2.	Skraćivanje sekvenci prema kvalitetu	90
5.1.3.	Skraćivanje sekvenci prema dužini	91
5.1.4.	Konvertovanje kvaliteta sekvenci	91
5.2.	trimFilter(PE) modul alata FastqPuri	92
5.2.1.	Uklanjanje adaptera	93
5.2.2.	Uklanjanje kontaminata u užem smislu	93
5.2.3.	Filtriranje prema kvalitetu	95
5.3.	Alat fastp	96
5.3.1.	Skraćivanje prema kvalitetu	97
5.3.2.	Filtriranje prema dužini	98
5.3.3.	Uklanjanje adaptera	98
Proces rada i arhitektura prepRNA alata		100
6.1.	Arhitektura prepRNA alata	101
6.2.	Upotreba prepRNA alata	103
6.3.	Pseudokod prepRNA alata	105
6.4.	Evaluacija prepRNA alata	109
Zaključak		112
7.1.	Glavni doprinosi doktorske disertacije	112
7.2.	Moguća unapređenja	114
Literatura		115
PRILOG 1		133

PRILOG 2	145
DGE analiza cufflinks skupom alata	145
DGE analiza DESeq2, limma i edgeR alatima	147
Dodaci	151
Spisak slika	151
Spisak tabela	153
Biografija autora	154