

# Домашнее задание №2: подбор условий для обнаружения SNP методом RFLP

## 1. Найти по rs номеру полиморфизм в базе данных dbSNP NCBI.

Приложения Места Firefox ESR en Воскресенье, 20:45

rs5743810 - SNP - NCBI - Mozilla Firefox

Методы детекции SNP | rs5743810 - SNP - NCBI | Sci-Hub: устраняя прерпа | All: polymorphism detecti | RestrictionMapper Output

https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/?term=rs5743810 Поиск

NCBI Resources How To Sign in to NCBI

dbSNP SNP rs5743810 Search

Create alert Advanced Help

Variation Class snp

Annotation Cited in PubMed PubMed nucleotide protein structure

Function Class missense

Global MAF Custom range...

Validation Status by-1000 Genomes by-cluster by-frequency

Clear all Show additional filters

Display Settings: Summary, Sorted by SNP\_ID

Search results Items: 4

☐ rs5743810 [Homo sapiens]

1. ATTTTATCAGAACTCACCAGAGGT[C/T]CAACCTTACTGAATTTTACCCTCAA

Chromosome: 4:38828729

Gene: TLR6 (GeneView)

Functional Consequence: missense

Validated: by 1000G,by cluster,by frequency

Global MAF: A=0.1152/577

HGVs: CM000666.2:g.38828729A>G, NC\_000004.11:g.38830350A>G, NC\_000004.12:g.38828729A>G, NG\_028087.1:g.33089T>C, NM\_006068.2:c.745T>C, NM\_006068.3:c.745T>C, NM\_006068.4:c.745T>C, NP\_006059.2:p.Ser249Pro, XP\_005262693.1:p.Ser249Pro, XP\_005262694.1:p.Ser249Pro, XP\_011511914.1:p.Ser249Pro, XP\_011511915.1:p.Ser249Pro, XP\_011511916.1:p.Ser249Pro

PubMed

☐ rs17496037 has merged into rs5743810 [Homo sapiens]

2. ATTTTATCAGAACTCACCAGAGGT[C/T]CAACCTTACTGAATTTTACCCTCAA

Chromosome: 4:38828729

Gene: TLR6 (GeneView)

Functional Consequence: missense

Validated: by 1000G,by cluster,by frequency

Global MAF: A=0.1152/577

HGVs: CM000666.2:g.38828729A>G, NC\_000004.11:g.38830350A>G, NC\_000004.12:g.38828729A>G, NG\_028087.1:g.33089T>C, NM\_006068.2:c.745T>C, NM\_006068.3:c.745T>C, NM\_006068.4:c.745T>C, NP\_006059.2:p.Ser249Pro, XP\_005262693.1:p.Ser249Pro, XP\_005262694.1:p.Ser249Pro, XP\_011511914.1:p.Ser249Pro, XP\_011511915.1:p.Ser249Pro, XP\_011511916.1:p.Ser249Pro

☐ rs52796179 has merged into rs5743810 [Homo sapiens]

https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp\_ref.cgi?rs=5743810

Filters: Manage Filters

Find related data Database: Select Find items

Search details rs5743810[All Fields] Search See more...

Recent activity Turn Off Clear

rs5743810 (4) SNP

SNP Links for Gene (Select 18) (8131) SNP

ABAT 4-aminobutyrate aminotransferase [Homo sapiens] Gene

transaminase AND (alive[prop]) (12000) Gene

SNP Links for Nucleotide (Select 568802081) (1811567) SNP See more...

Занятие №5-6 - Методы... Занятие 5-6. - Методы о... rs5743810 - SNP - NCBI ... [Занятие 2. - ПЦР,одр - ... [Без имени 1 - LibreOffic... Занятие №5.odt - LibreO... 1 / 4

## 2. Скопировать последовательность около полиморфизма SNP±250 нуклеотидов (в примере SNP обозначен как Y, т.е. вариация пиримидинов C/T) в текстовый файл.

Приложения Места Firefox ESR en Воскресенье, 20:46

Reference SNP (refSNP) Cluster Report: rs5743810 - Mozilla Firefox

Методы детекции SNP | Reference SNP (refSNP) | Sci-Hub: устраняя прерыва... | All: polymorphism detect... | RestrictionMapper Output | +

https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp\_ref.cgi?rs=5743810

ss3022364805 ILLUMINA|MEGA\_Consortium\_v2\_15070954\_A2\_4:38830350-AG-0\_T\_F\_2299716402 rev/ A/G ttgagggtaaaattcagtaagggttg acctctggtgagttctgataaa  
ss3024869313 BIOINF\_KMB\_FNS\_UNIBA|4.38828729A>G rev/ A/G ttgagggtaaaattcagtaagggttg acctctggtgagttctgataaa  
ss3345650200 CSHL|rs5743810 rev/ A/G ttgagggtaaaattcagtaagggttg acctctggtgagttctgataaa  
ss3425757970 TOPMED|TOPMed\_freeze\_5?chr4:38,828,729 rev/ A/G ttgagggtaaaattcagtaagggttg acctctggtgagttctgataaa

**Fasta sequence (Legend)**

>gn1|dbSNP|rs5743810|allelePos=501|totalLen=1001|taxid=9606|snpclass=1|alleles='C/T'|mol=Genomic|build=151

GACTTTCCCA TAACAGAATC CAGCTACTTG ATTTAAGTGT TTTCAAGTTC AACCAGGATT  
TAGAATATTT GGATTTATCT CATAATCAGT TGCAAAAGAT ATCCTGCCAT CCTATTGTGA  
GTTTCAGGCA TTTAGATCTC TCATTCAATG ATTTCAAGGC CCTGCCATC TGAAGGAAT  
TTGGCAACTT ATCACAAC TGATTCTTGG GATTGAGTGC TATGAAGCTG CAAAAATTAG  
ATTTGCTGCC AATTGCTCAC TTGCATCTAA GTTATATCTC TCTGGATTTA AGAAATTATT  
ATATAAAGA AAATGAGACA GAAAGTCTAC AAATTCTGAA TGCAAAACCT CTCACCTTG  
TTTTTACCC AACTAGTTTA TTCGCTATCC AAGTGAACAT ATCAGTTAAT ACTTTAGGGT  
GCTTACAAC GACTAATATT AAATTGAATG ATGACAACCT TCAAGTTTTC ATTAATTTT  
TATCAGAACT CACCAGAGGT

Y

CAACCTTACT GAATTTTACC CTCAACCACA TAGAAACGAC TTGGAATGTC CTGGTCAGAG  
TCTTTCAATT TCTTTGGCCC AAACCTGTGG AATATCTCAA TATTTACAAT TTAACAATAA  
TTGAAAGCAT TCGTGAAGAA GATTTTACTT ATTCTAAAC GACATTGAAA GCATTGACAA  
TAGAACATAT CACGAACCAA GTTTTCTGT TTTACAGAC AGCTTTGTAC ACCGTGTTTT  
CTGAGATGAA CATTATGATG TTAACCATTT CAGATACACC TTTTATACAC ATGCTGTGTC  
CTCATGCACC AAGCACATTC AAGTTTTTGA ACTTTACCCA GAACGTTTTT ACAGATAGTA  
TTTTTGAAAA ATGTTCCACG TTAGTTAAAT TGGAGACACT TATCTTACAA AAGAATGGAT  
TAAAAGACCT TTTCAAAGTA GGTCTCATGA CGAAGGATAT GCCTTCTTTG GAAATACTGG  
ATGTTAGCTG GAATCTTTTG

**NCBI Resource Links**

Submitter-Referenced dbSNP Blast Analysis UniGene Cluster ID 3D structure mapping

GenBank NT\_016297.15 366986 NP\_006059

**Population Diversity (Alleles in RefSNP orientation)** . See additional population frequency from 1000Genome [here] Note: rs5743810 allele is reverse to the genome

ss#	Sample Ascertainment			Source	Genotype Detail				Alleles	
	Population	Individual Group	Chrom. Sample Cnt.		C/C	C/T	T/T	HWP	C	T
ss116958760	YRI		2	IG	1.00000000				1.00000000	
ss1309284606	EAS		1008	AF					1.00000000	
	EUR		1006	AF					0.59149998	0.40849999
	AFR		1322	AF					0.98339999	0.01660000
	AMR		694	AF					0.81699997	0.18300000
	SAS		978	AF					0.98259997	0.01740000

Занятие №5-6 - Методы... Занятие 5-6. - Методы о... Reference SNP (refSNP) ... [Занятие 2. - ПЦР.odp - ... [Без имени 1 - LibreOffic... Занятие №5.odt - LibreO... 1 / 4

### 3. На сайте проекта RestrictionMapper вставить в окно формы последовательность SNP±250 нуклеотидов и нажать Map Sites для поиска сайтов рестрикции (на месте SNP указать какой-то его вариант)

Приложения Места Firefox ESR en Воскресенье, 21:23

RestrictionMapper version 3 - Mozilla Firefox

Методы детекции SNP | Reference SNP (refSNP) | Sci-Hub: устраняя прерыва... | All: polymorphism detecti... | RestrictionMapper version 3

restrictionmapper.org Поиск

**Welcome to RestrictionMapper - on line restriction mapping the easy way.**

Maps sites for restriction enzymes, a.k.a. restriction endonucleases, in DNA sequences. Also does virtual digestion.

- Help
- FAQ
- What's New?
- Code
- Contact
- Automate RestrictionMapper
- Other Free Molecular Biology Resources
- Dilution Calculator

Conformation	Include	Sequence Info	Menu
<p>Circular <input type="radio"/></p> <p>Linear <input checked="" type="radio"/></p>	<p>Select Individual Enzymes</p> <p>All Enzymes</p> <p>AarI</p> <p>AasI</p> <p>AatI</p> <p>AatII</p> <p>AccI</p> <p>AccII</p>	<p>No non-base letters. Numbers and spaces OK.</p> <p>Paste Sequence Here</p> <pre>GACAGAAAGTCTACAAATTCG AATGCAAAAACCCCTTCACCTTG TTTTTCACCAACTAGTTTATT CGCTATCCAAGTGAACATATCA GTTAATACTTTAGGGTGCTTAC AACTGACTAATATTAATTGAA TGATGACAACGTCAAGTTTTC ATTAAATTTTATCAGAACTCA CCAGAGGT T CAACCTTACTGAATTTTACCCT CAACCACATAGAAACGACTTGG AAATGCCCTGGTCAGAGCTTTTC AATTTCCTTTGGCCCAACCTGT</pre>	<p>Map Sites</p> <p>Virtual Digest</p> <p>Reset Form</p>
<p><b>Sort By</b></p> <p>1. frequency</p> <p>2. overhang</p> <p>3. name</p>	<p>All Commercial <input checked="" type="radio"/></p> <p>NEB only <input type="radio"/></p> <p>5' overhang <input checked="" type="checkbox"/></p> <p>3' overhang <input checked="" type="checkbox"/></p> <p>blunt <input checked="" type="checkbox"/></p> <p>Prototypes Only <input type="radio"/></p> <p>All Isoschizomers <input type="radio"/></p>	<p>Name your sequence</p> <p>Untitled</p>	
<p>Maximum Cuts all</p> <p>Minimum Site Length 4</p>			

Занятие №5-6 - Методы обнаружения... Занятие 5-6. - Методы обнаружения... RestrictionMapper version 3 - M... Без имени 1 - LibreOffice Writer Занятие №5.odt - LibreOffice ... 1 / 4



4. В появившемся отчёте выбрать рестриктазы с единичным сайтом разрезания (Cut Position) недалеко от позиции SNP (251). Выполнить пп.3-4 с альтернативным вариантом SNP и выбрать рестриктазу, у которой сайт узнавания есть только для одного из вариантов.

Приложения Места Firefox ESR en Воскресенье, 21:24

RestrictionMapper Output - Mozilla Firefox

Методы детекции SNP | Reference SNP (refSNP) | Sci-Hub: устраняя переплату | All: polymorphism detect | RestrictionMapper Output

restrictionmapper.org/cgi-bin/sitefind3.pl Поиск

**Name:** Untitled

**Conformation:** linear

**Overhang:** five\_prime, three\_prime, blunt

**Minimum Site Length:** 4 bases

**Maximum Number of Cuts:** all

**Included:** all commercial, prototypes only

**Noncutters:** AarI, AatII, AbsI, AclI, AcyI, AflII, AflIII, AgeI, AjuI, AlfI, AloI, AlwNI, ApaI, ApaLI, ArsI, AscI, AsuII, AvaI, AvaII, AvrII, BaeI, Ball, BamHI, BarI, BbvI, BbvCI, BccI, BcgI, BciVI, BclI, BfiI, BglI, BglII, BsiI, BplI, Bpu10I, BsaAI, BsaBI, BsaXI, BsePI, BseRI, BseSI, BseYI, BsgI, BspHI, BspMI, BsrI, BsrBI, BsrDI, BstEII, BtgZI, BtrI, BtsI, Cac8I, CfrI, Cfr10I, ClaI, CspCI, DpnI, DraII, DraIII, DrdI, EciI, Eco31I, Eco47III, Eco57I, Eco57MI, EcoNI, EcoP15I, EcoRI, EcoRV, Esp3I, Fall, Faul, Fnu4HI, FokI, FseI, FspAI, Glal, Gsul, HaeII, HgaI, HhaI, HindII, HindIII, HpaI, HpaII, Hpy99I, KpnI, MaeII, MaeIII, MauBI, MboI, MfeI, MluI, MmeI, MslI, MwoI, NaeI, NarI, NcoI, NdeI, NheI, NlaIII, NlaIV, NmeAIII, NotI, NruI, NspI, OliI, PacI, Pasi, PfiMI, PfoI, PmaCI, PmeI, PpiI, PpuMI, PsiI, PI-PspI, PspXI, PsrI, PstI, PvuI, PvuII, RsrII, SacI, SacII, SalI, SanDI, SapI, ScaI, PI-SceI, SduI, SexAI, SfiI, Sgfi, SgrAI, SgrDI, SmaI, SmlI, SnaBI, SphI, SrfI, Sse8387I, StuI, StyI, SwaI, TaqI, TaqII, Taul, TfiI, TseI, TsoI, Tsp45I, TspGWI, TspRI, TstI, Tth111I, VspI, XbaI, XcmI, XhoI, XhoII

Name	Sequence	Site Length	Overhang	Frequency	Cut Positions
<a href="#">AluI</a>	AGCT	4	blunt	1	473
<a href="#">HaeIII</a>	GGCC	4	blunt	1	328
<a href="#">PshAI</a>	GACNNNGTC	6	blunt	1	207
<a href="#">RsaI</a>	GTAC	4	blunt	1	479
<a href="#">XmnI</a>	GAANNNTTC	6	blunt	1	378
<a href="#">AccI</a>	GTMKAC	6	five_prime	1	76
<a href="#">BsmAI</a>	GTCTC	5	five_prime	1	59
<a href="#">Bsp1407I</a>	TGTACA	6	five_prime	1	477
<a href="#">EcoRII</a>	CCWGG	5	five_prime	1	300
<a href="#">HinfI</a>	GANTC	4	five_prime	1	309
<a href="#">MaeI</a>	CTAG	4	five_prime	1	123
<a href="#">PleI</a>	GAGTC	5	five_prime	1	317
<a href="#">ScrFI</a>	CCNGG	4	five_prime	1	302
<a href="#">SfaNI</a>	GCATC	5	five_prime	1	22
<a href="#">SneI</a>	ACTAGT	6	five_prime	1	122

Занятие №5-6 - Методы обнаружения... Занятие 5-6. - Методы обнаружения... RestrictionMapper Output - Mozilla Firefox Без имени 1 - LibreOffice Writer Занятие №5.odt - LibreOffice ... 1 / 4

## 5. Записать в файл название рестриктазы и место разрезания для неё (информация доступна, если нажать на название рестриктазы на предыдущем этапе).

Приложения Места Firefox ESR en Воскресенье, 20:50

RJR REBASE Enz 166 - AvaII - Mozilla Firefox

Методы детекции SNP | Reference SNP (refSNP) | Sci-Hub: устраняя прерыва... | All: polymorphism detecti... | RJR REBASE Enz 166 - Av... +

← → ↻ ↵ rebase.neb.com/rebase/enz/AvaII.html ... Поиск

**REBASE®**  
home page...  
rebase.neb.com

**AvaII**

Type II restriction enzyme  
subtype: P

Different enzyme:  
 Go

Recognition Sequence: [help?](#)

G<sup>↓</sup>GWCC

5' .. G G W C C .. 3'  
3' .. C C W G G .. 5'

**REBASE Enz Num 166** entered Jan 1 1976 ... modified Oct 17 2016

Acronym: [Ava](#)  
Prototyp: AvaII  
Org #: [155](#)  
Organism: [Anabaena variabilis ATCC 27893](#)  
DNA name: chromosome  
Organism type: [bacteria](#)  
Complete genome  
Organism source: [ATCC 27893](#) [\(ATCC LINK\)](#)  
Growth Temperature: 26 °  
Experimental Evidence: [biochemistry](#)  
Exhibits star activity  
Single-stranded cleavage: y  
Enzyme gene cloned  
Enzyme gene sequenced  
Molecular Weight: 26127

# sites on  
Adeno2: 73  
Lambda: 35  
pBR322: 8  
PhiX174: 1  
SV40: 6

Status of methylation sensitivity testing...  
[Site frequency in sequenced genomes...](#)  
[View Genome for AvaII...](#)  
[DNA RNA hybrids...](#)  
[RNA duplexes...](#)  
[Single stranded DNA...](#)  
[Combined report...](#)

Related Enzymes:  
[M.AvaII](#)

Related References  
[sorted by date](#) [in new window](#)  
[sorted by authors](#) [in new window](#)  
[Commercially Available...](#)  
[Similar enzymes...](#)  
Sequence Data:  
[AvaII](#)  
[Methylation Sensitivity...](#)

REBASE Enzymes

REBASE Lists

10/13/2018  
Dr. Richard I. Roberts and Dana Macelis  
<http://rebase.neb.com/rebase/enz/AvaII.html>

HELP  
REBASE ?  
Tools

Занятие №5-6 - Методы... Занятие 5-6. - Методы о... RJR REBASE Enz 166 - Av... [Занятие 2. - ПЦР.odp - ...] [Без имени 1 - LibreOffic... Занятие №5.odt - LibreO... 1 / 4

6. Подобрать к данной последовательности (501 нуклеотид) праймеры (см. Предыдущую работу) с таким расчётом, чтобы ампликон составил 300-400 нуклеотидов, а рестрикция давала два куска с соотношением 2:3 (приблизительно). Записать в файл последовательность ампликона, праймеры, их температуру плавления, температуру отжига для ПЦР (см. соответствующее занятие) и фрагменты после рестрикции

- SNP для ДЗ:
- 1). rs4833095
- 2). rs5744168
- 3). rs11096955
- 4). rs11096956
- 5). rs4129009