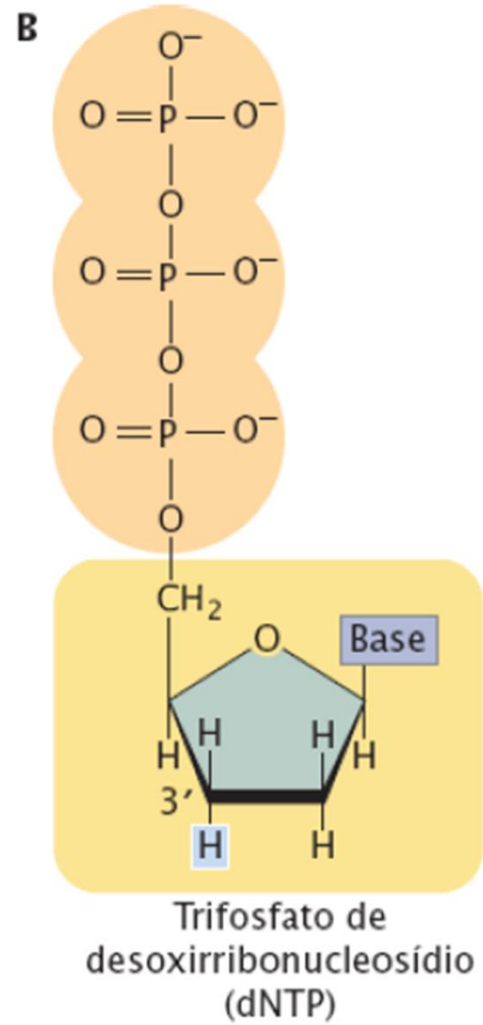
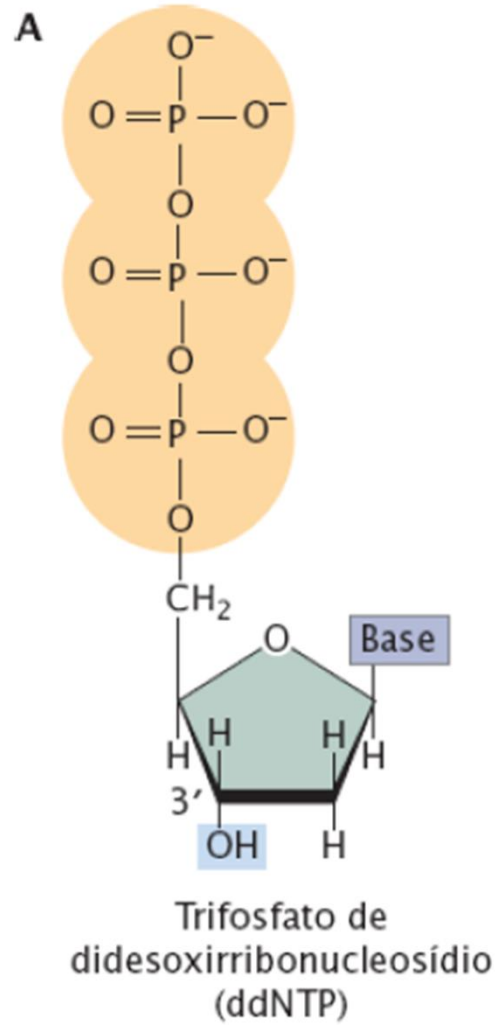
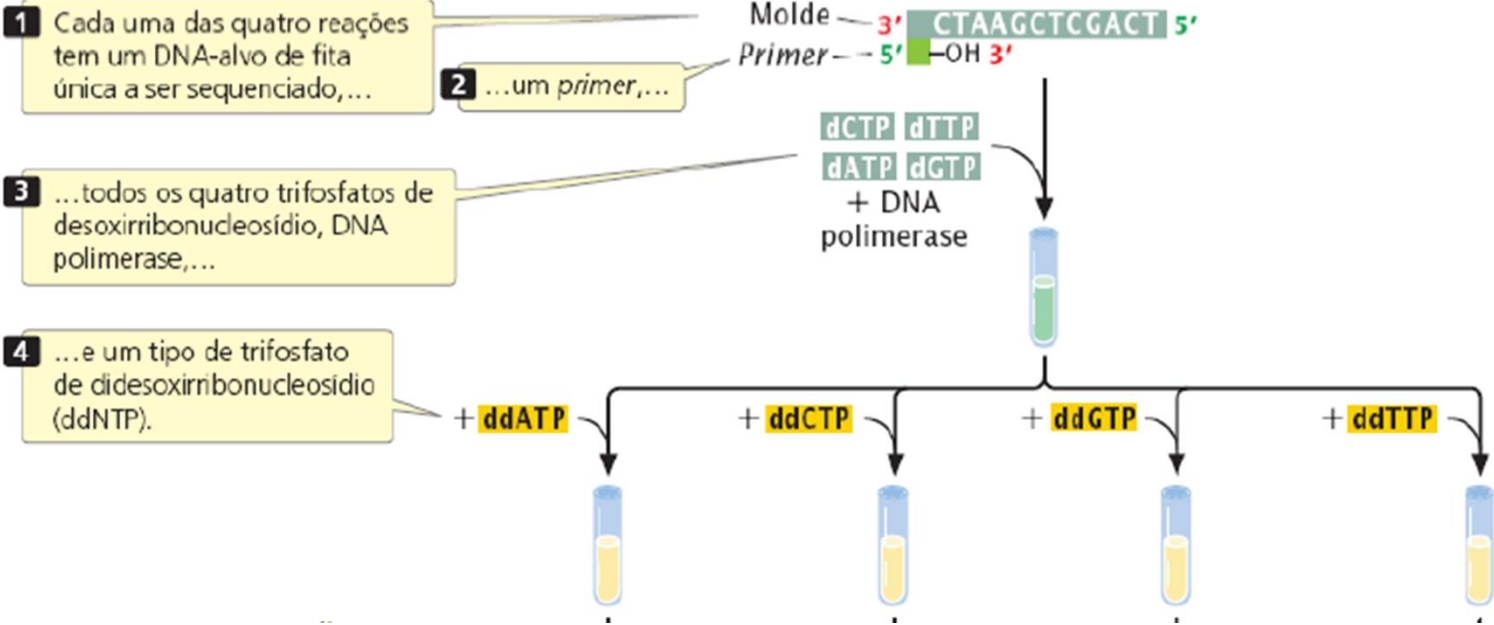
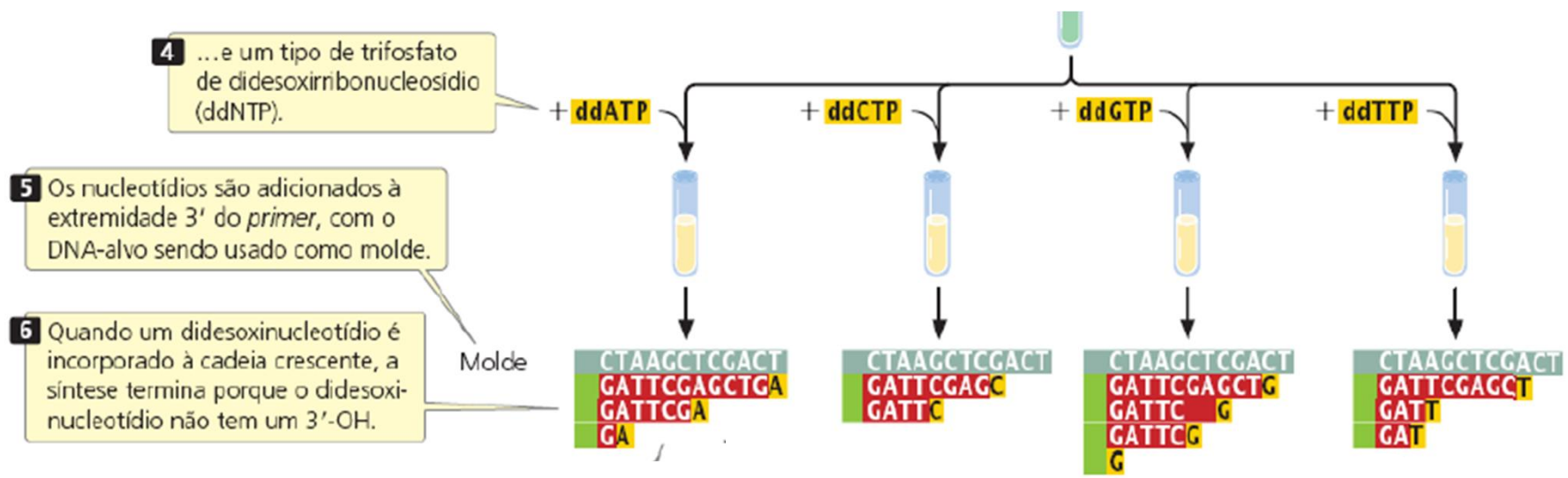


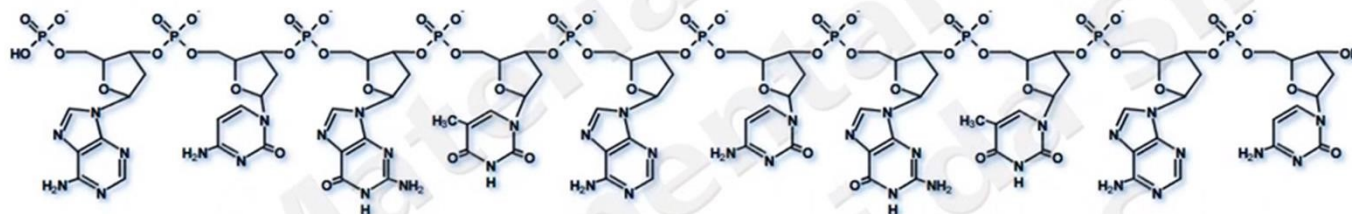
# Sequenciamento de DNA



# Sequenciamento DNA - Método de Sanger







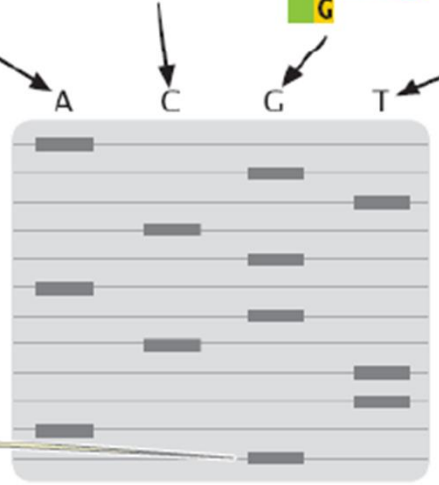
©

**7** A síntese termina em diferentes posições em diferentes fitas, o que gera um conjunto de fragmentos de DNA de vários comprimentos, cada um terminando com um didesoxinucleotídeo com a mesma base.

**8** Os fragmentos produzidos em cada reação são separados por eletroforese em gel.

**9** A sequência pode ser lida diretamente a partir das bandas que surgem na autorradiografia do gel, iniciando a partir da parte inferior.

**10** A sequência obtida é o complemento da fita molde original.



Autorradiografia do gel de eletroforese

3' 5'  
A T  
G C  
T A  
C G  
C C  
G C  
A T  
A C  
C G  
T A  
T A  
A T  
G C  
5' 3'

Sequência da fita complementar      Sequência da fita molde original

dATP   dCTP   dGTP   dTTP   ddATP

GATCTCTGACGCATGTCGAGACATAGCAT  
TCGTA

GATCTCTGACGCATGTCGAGACATAGCAT  
TCGTA

GATCTCTGACGCATGTCGAGACATAGCAT  
TCGTA

GATCTCTGACGCATGTCGAGACATAGCAT  
TCGTA

GATCTCTGACGCATGTCGAGACATAGCAT  
TCGTA

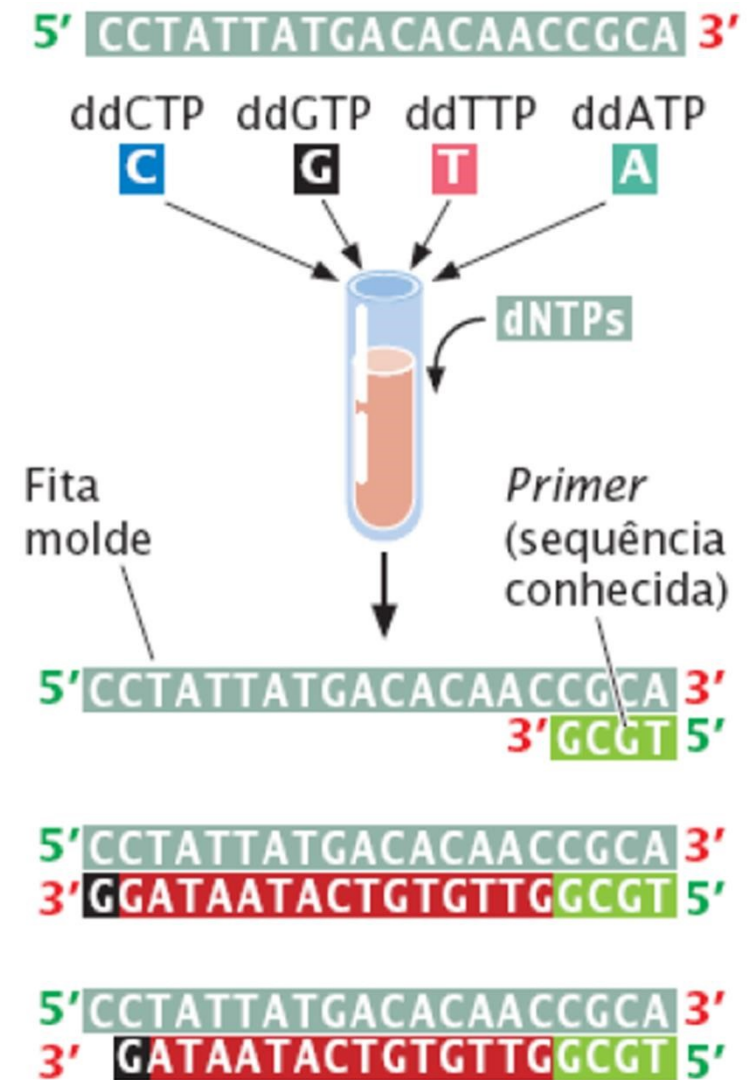
GATCTCTGACGCATGTCGAGACATAGCAT  
TCGTA

Um fragmento de DNA de fita única cuja sequência de bases deve ser determinada (o molde) é isolado.

Cada um dos quatro ddNTPs é marcado com um diferente corante fluorescente e é feita a reação de sequenciamento de Sanger.

Os fragmentos que terminam com a mesma base têm o mesmo corante colorido preso.

Sequenciamento DNA - Método de Sanger  
Corante Fluorescente - Automatizado





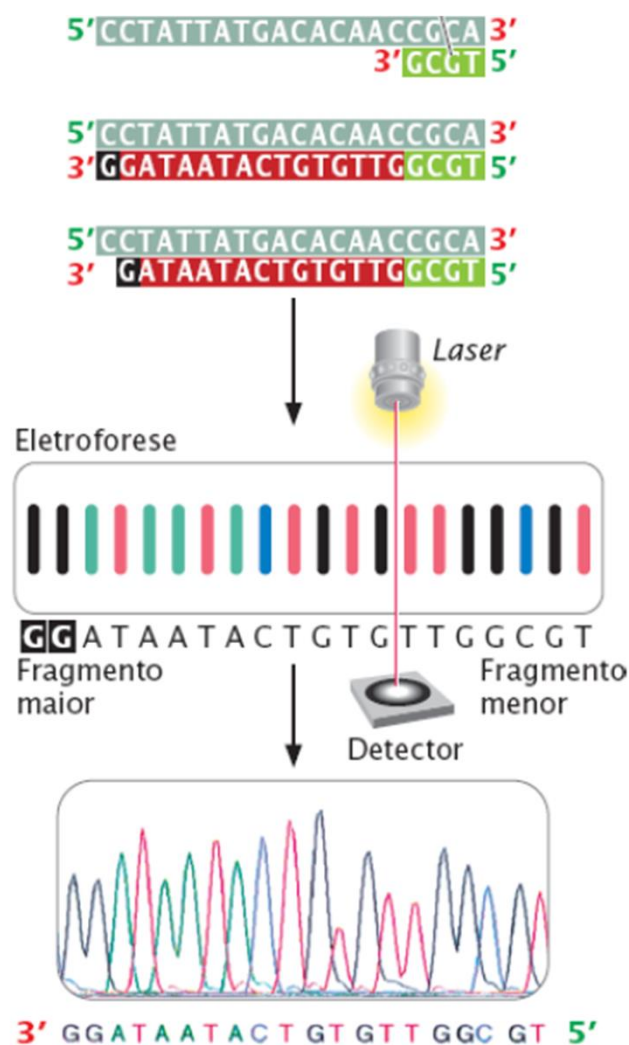
3 Os fragmentos que terminam com a mesma base têm o mesmo corante colorido preso.

4 Os produtos são desnaturados e os fragmentos de DNA produzidos pelas quatro reações são misturados e colocados em um único poço em um gel de eletroforese. Os fragmentos migram pelo gel de acordo com seu tamanho,...

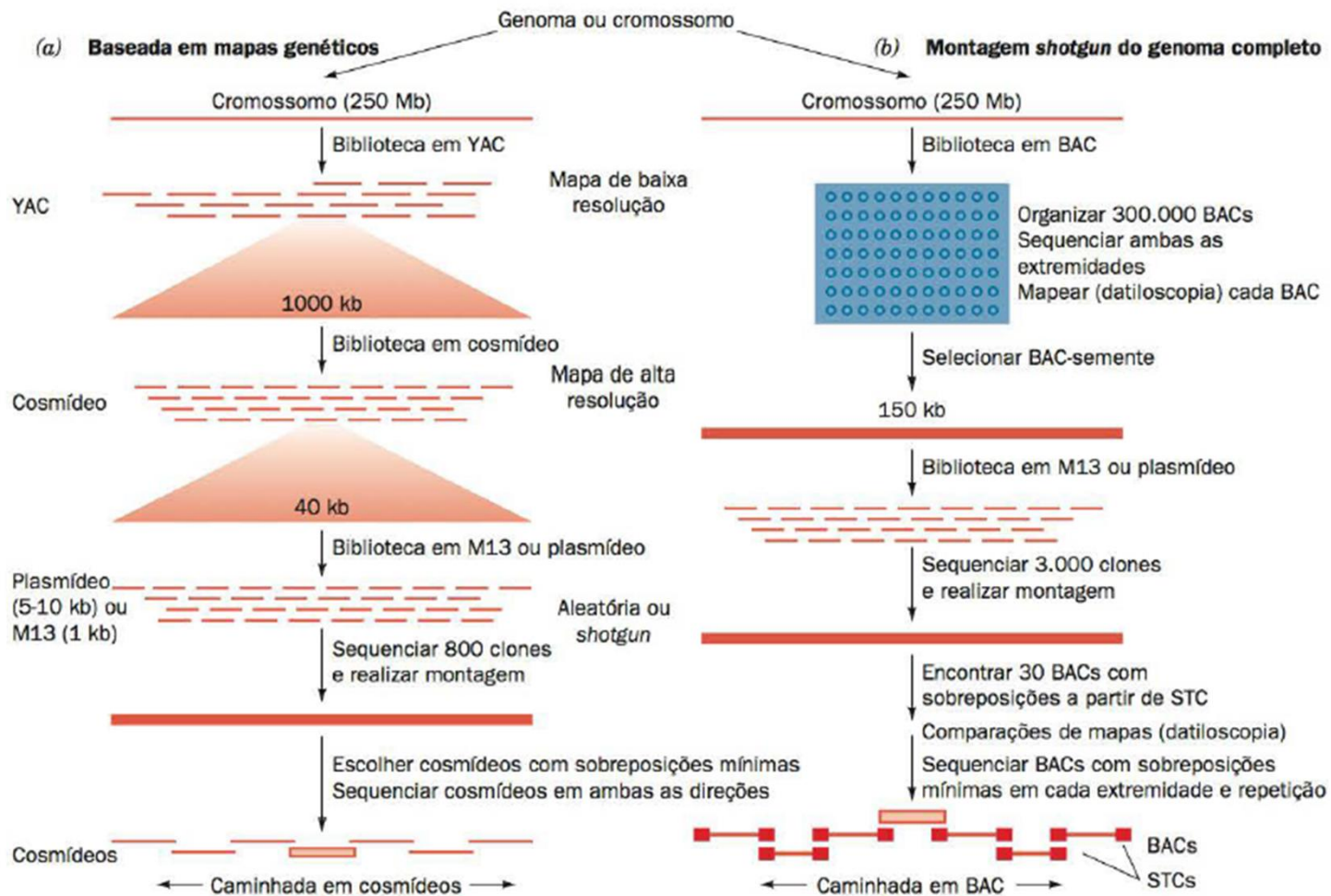
5 ...e o corante fluorescente no DNA é detectado usando um feixe de *laser*.

6 Cada fragmento aparece como um pico no impresso do computador; a cor do pico indica qual a base existente.

7 As informações da sequência são lidas diretamente no computador.

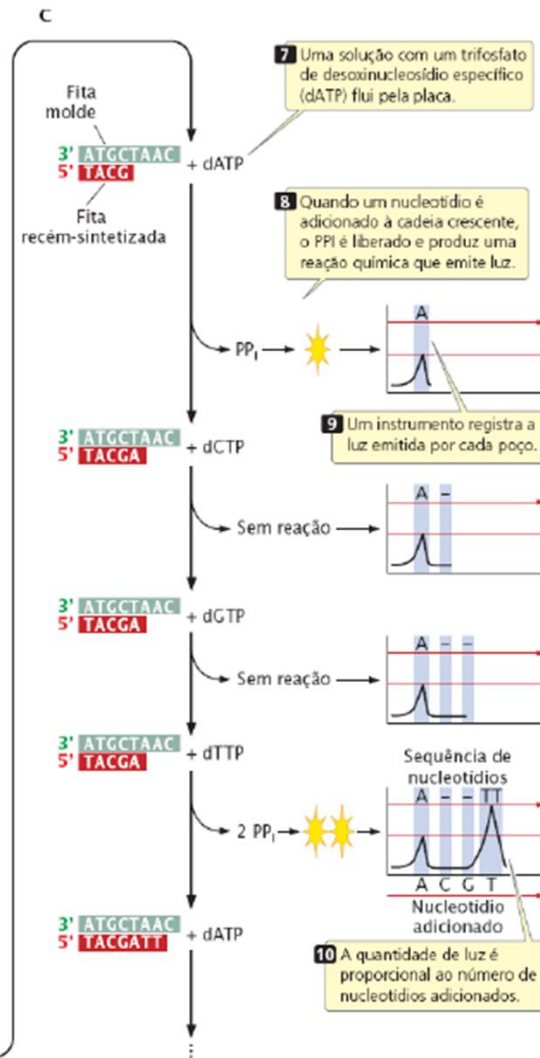
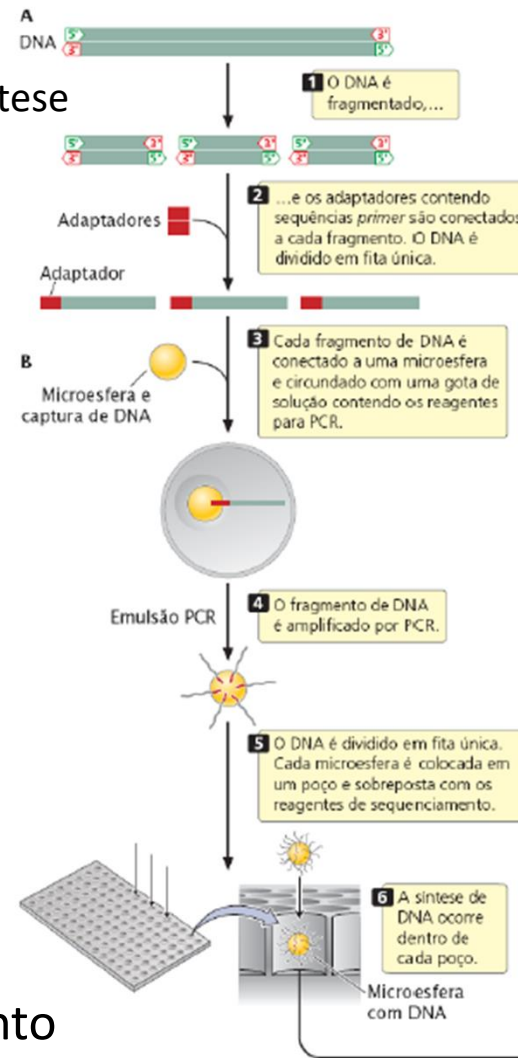




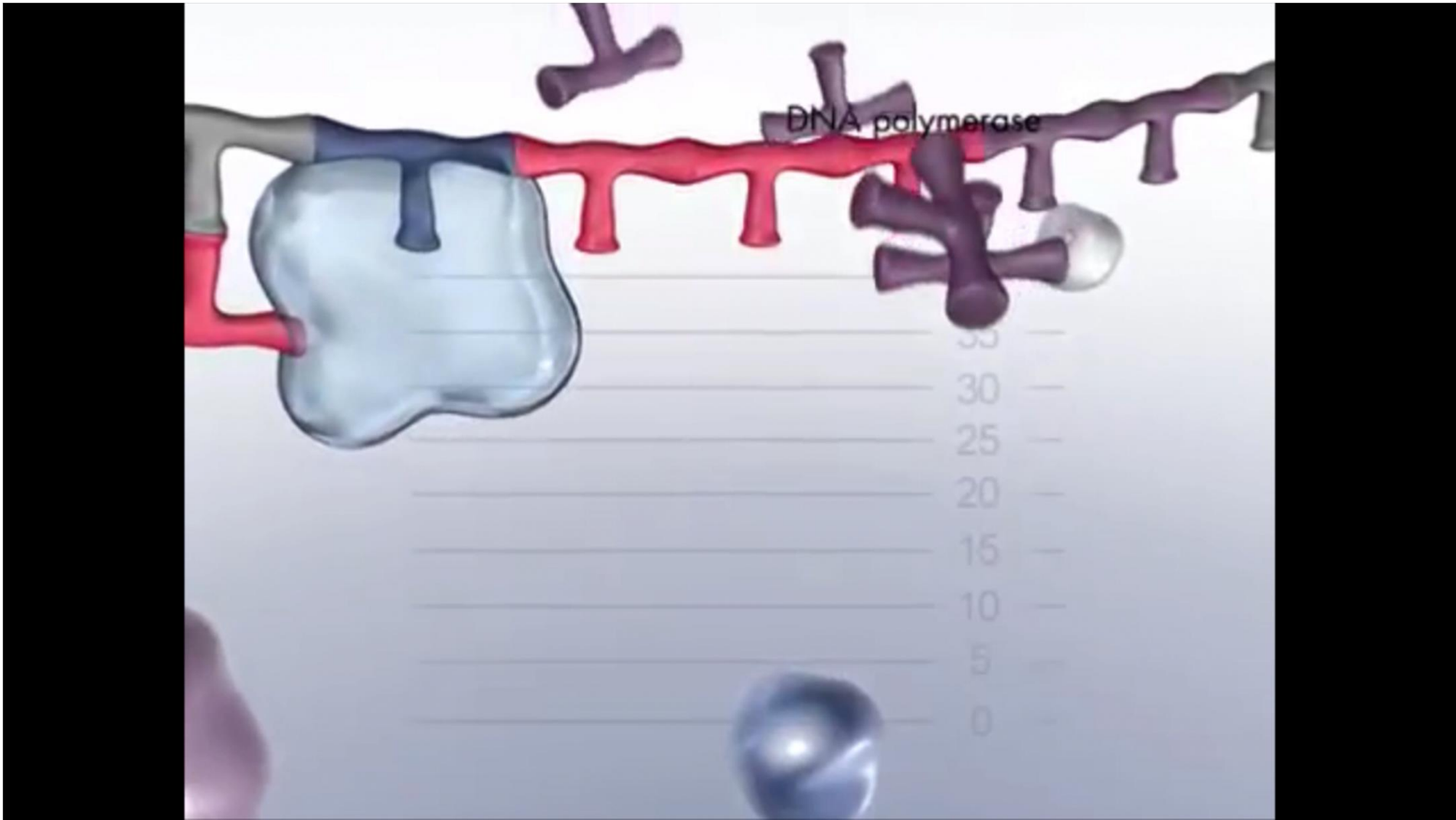


# NGS

## Sequenciamento por síntese

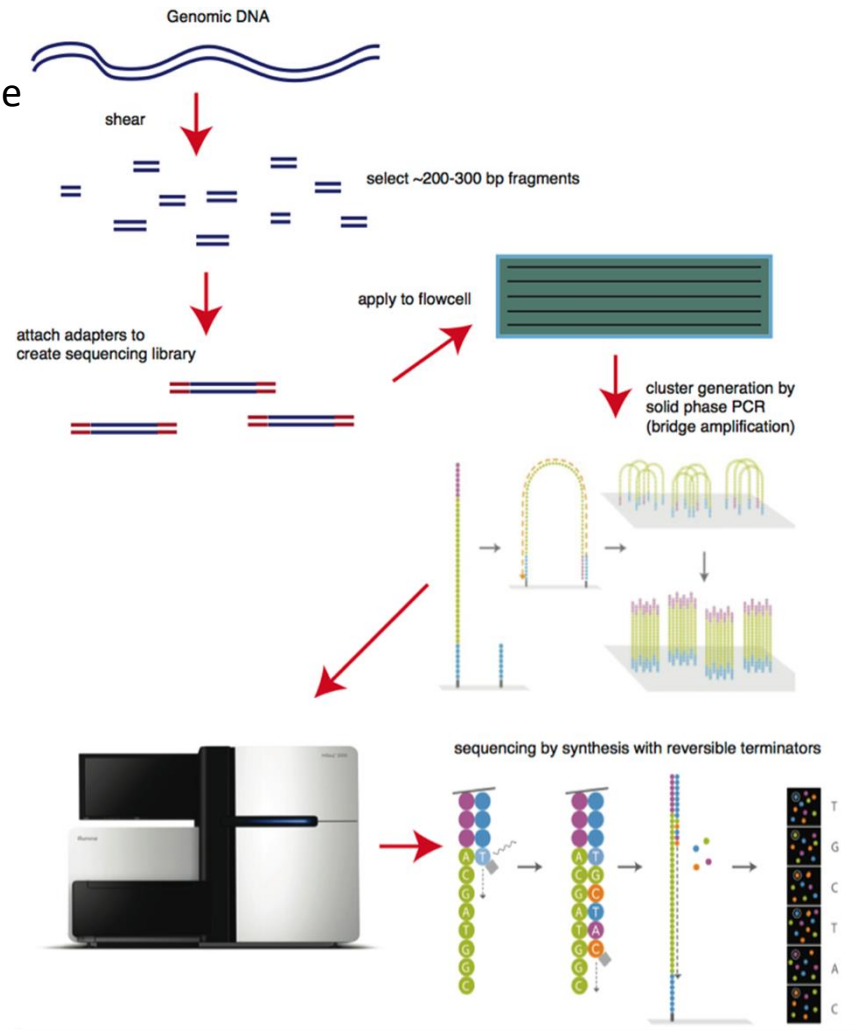


## Pirossequenciamento

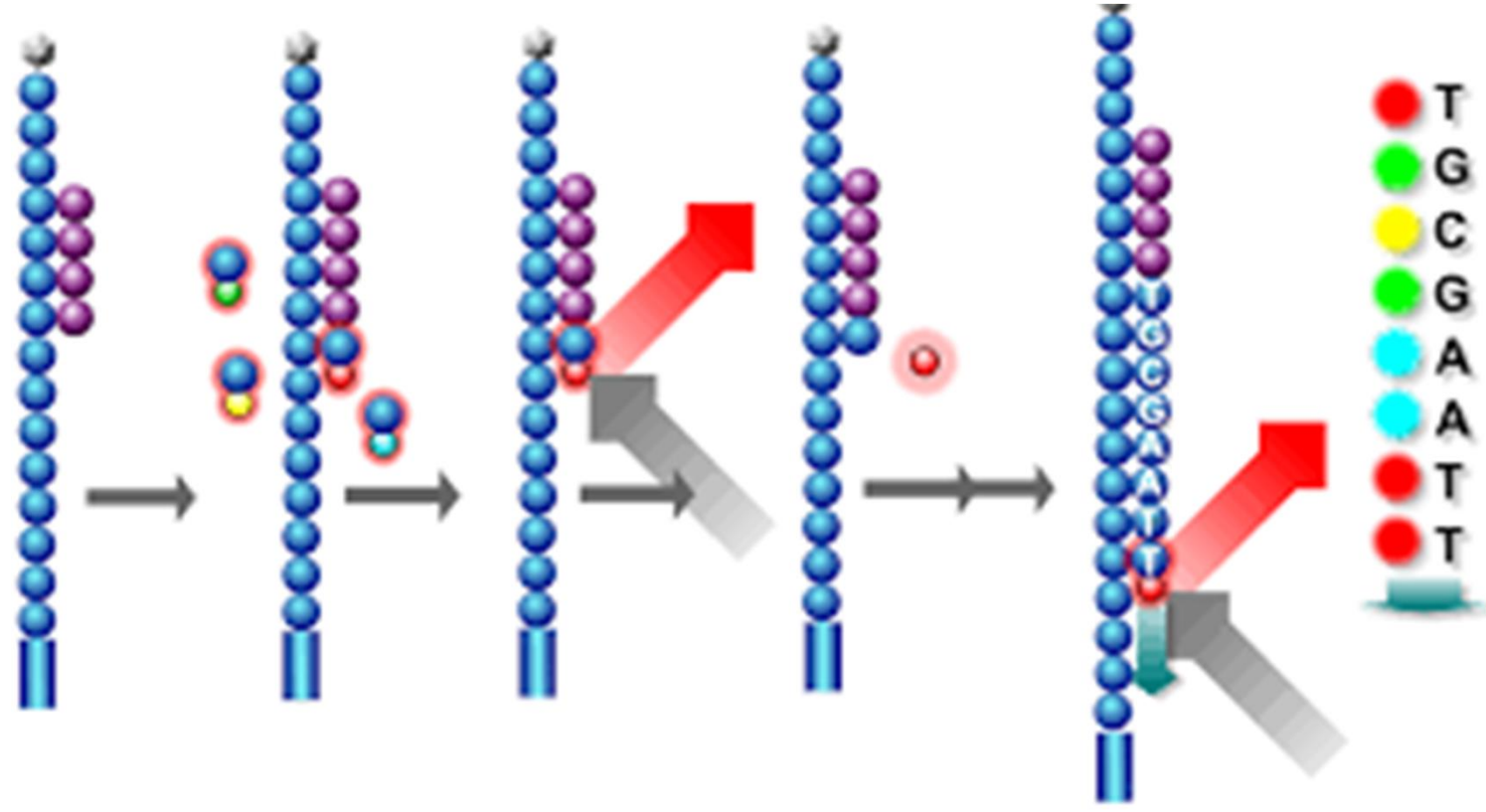


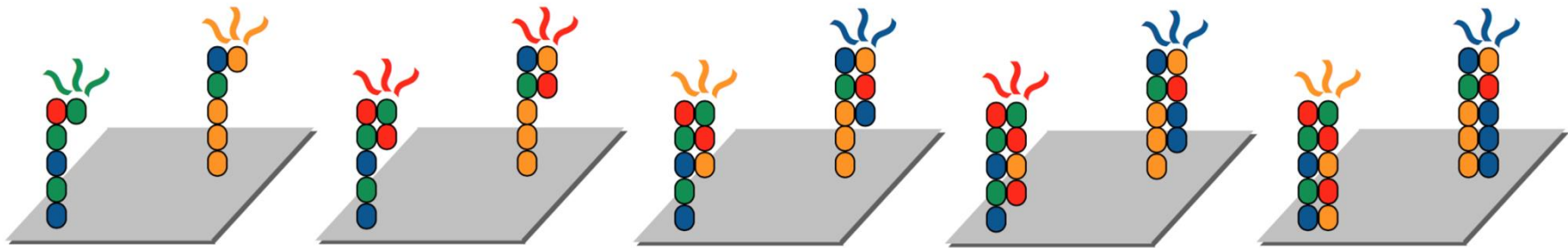
NGS

Sequenciamento por síntese

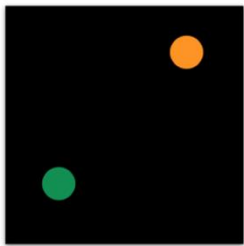


Illumina

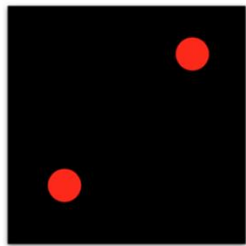




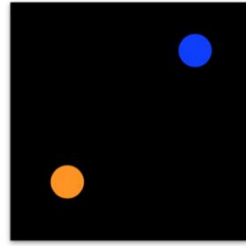
Cycle 1



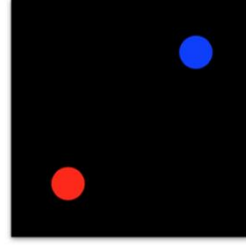
Cycle 2



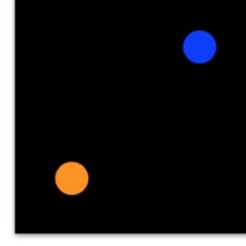
Cycle 3



Cycle 4



Cycle 5





Sequencing

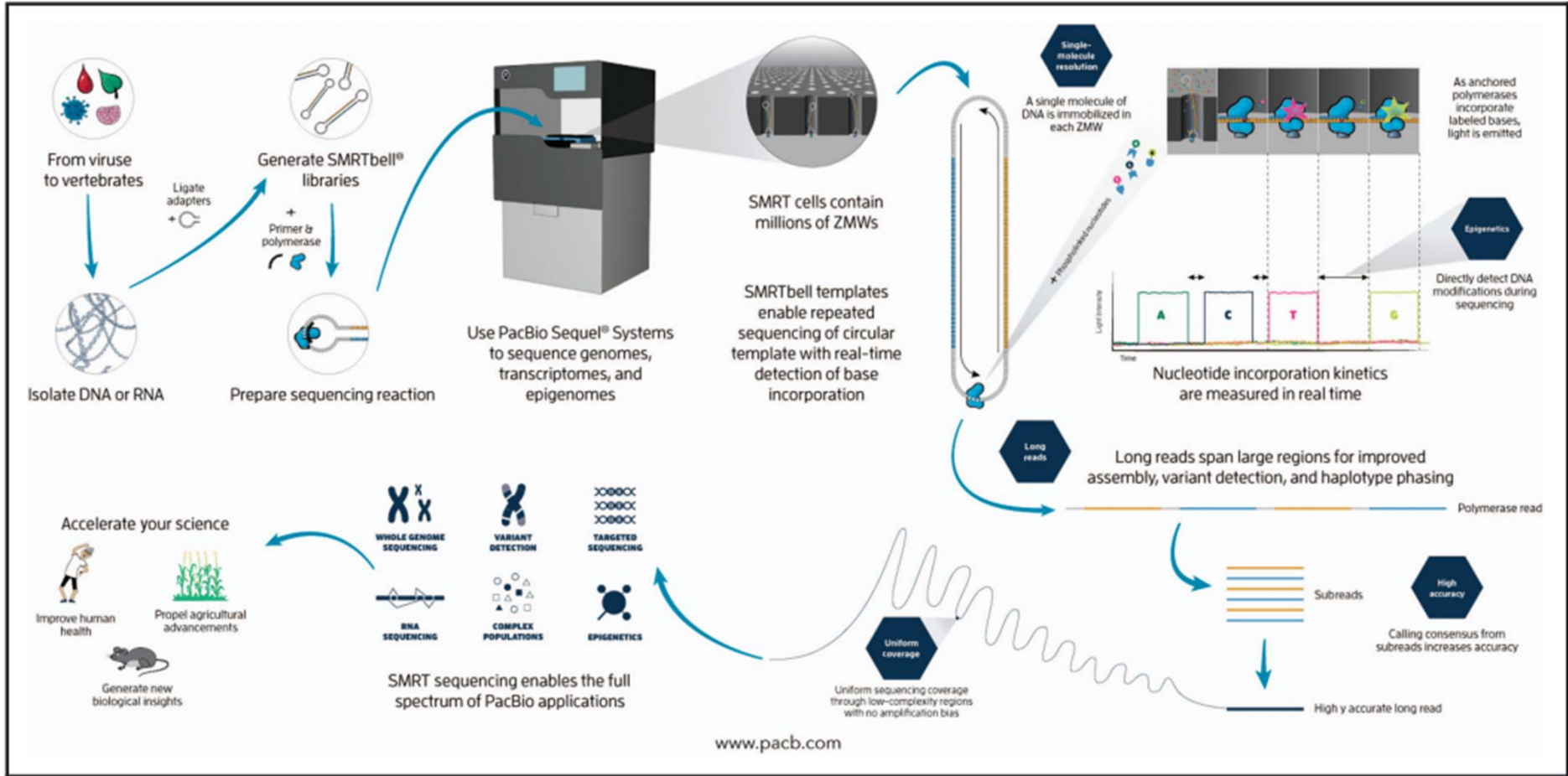


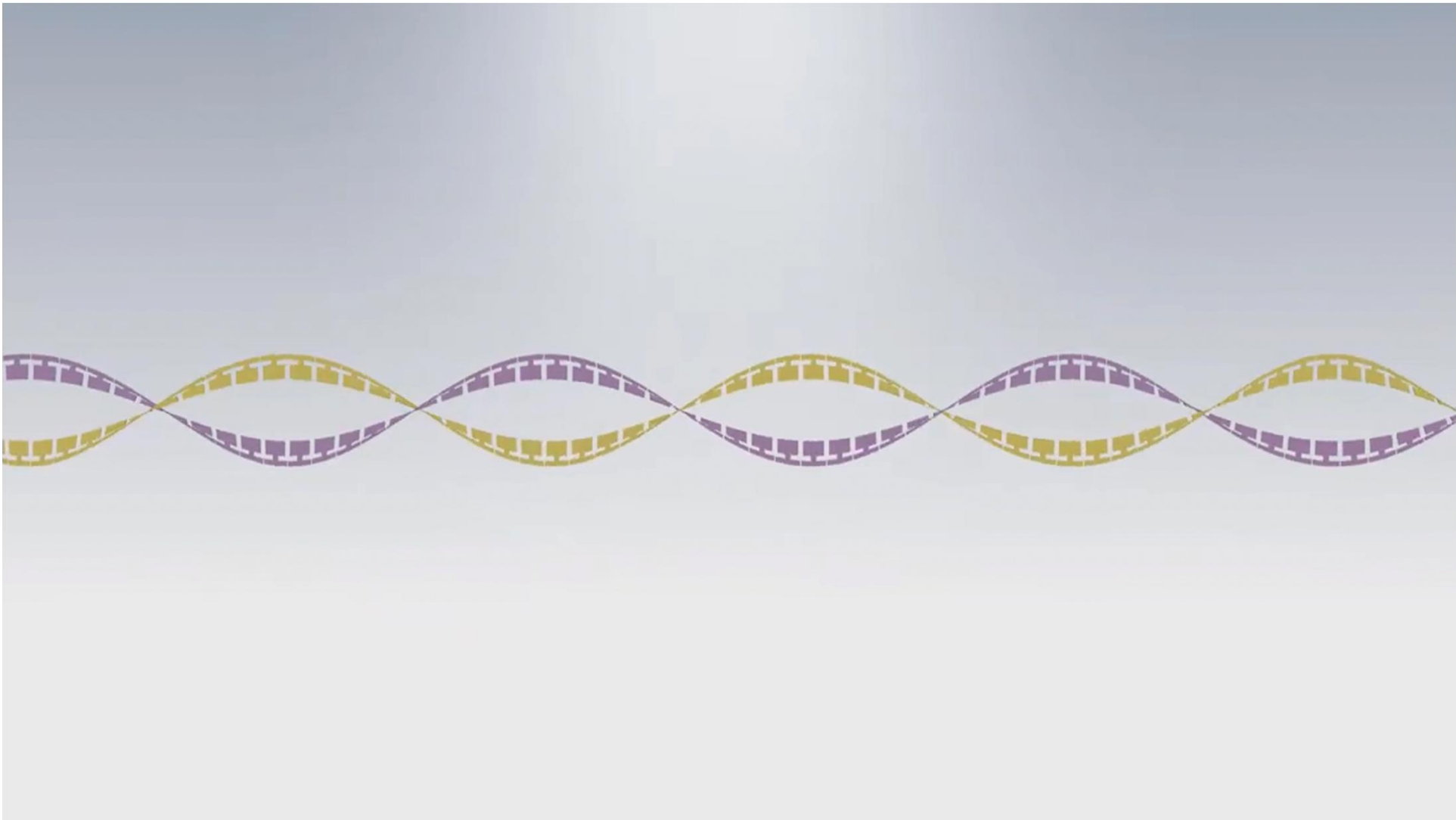
NGS

Sequenciamento por síntese



PacBio





NGS

Sequenciamento por síntese

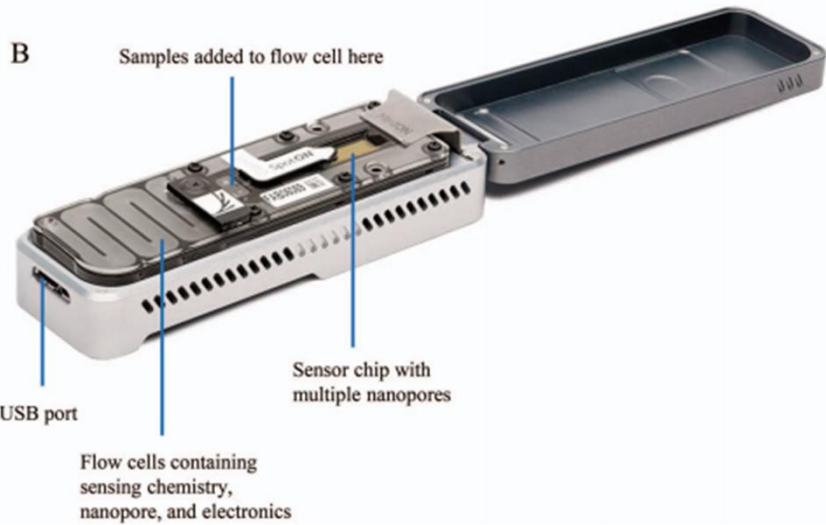


Nanopore - Minlon

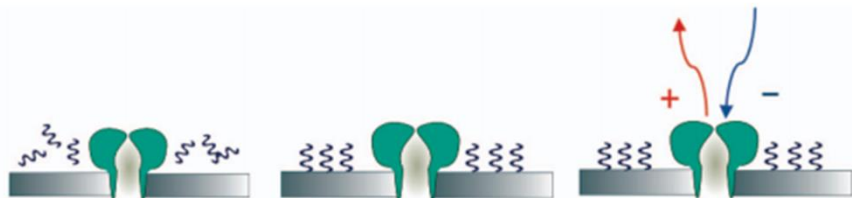
A



B



C

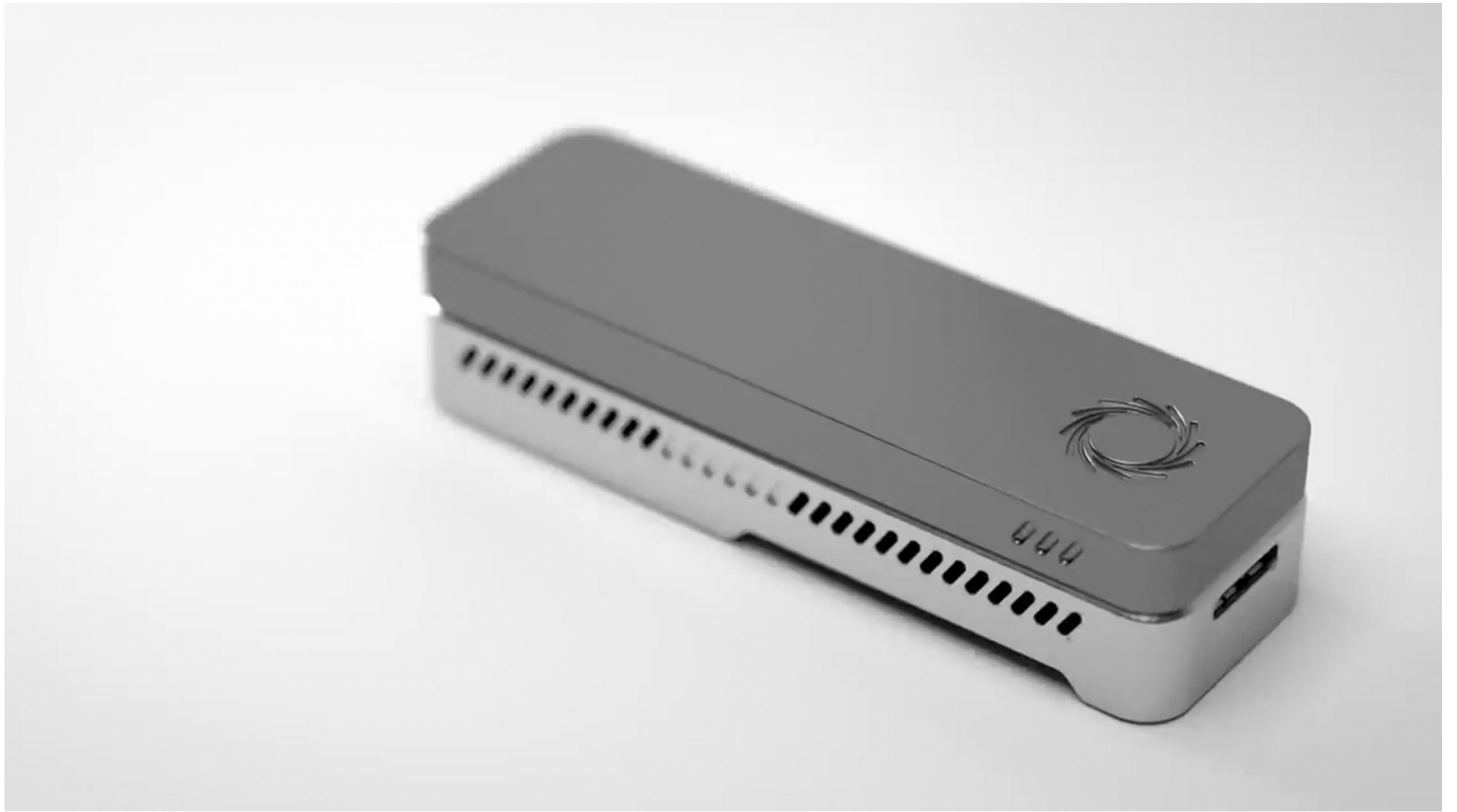


D



E







## Sequencing