



第3回 新型コロナ関連解析リソース

Geneious で、Illumina 生リードデータから SARS-CoV-2 の配列をアセンブルするための解析 パイプラインをご紹介します。このパイプラインには、クオリティトリミング、アンプリコンプライマーの 除去、リファレンスマッピング、SNP 検出、コンセンサス配列の生成などが含まれています。このパイ プラインの内容の詳細については<u>こちら</u>をご参照ください。

この解析パイプラインは、GeneiousのWorkflow機能により自動化することもできます。

Geneious にワークフローをインポートするには、下記の Workflow ファイルをダウンロードし、 Geneious ウィンドウにドラッグ&ドロップします。 Manage Workflows で、このワークフローを 選択し View/Edit をクリックします。 ワークフローの各ステップを開き、ステップをクリックして View/Edit Options を設定します。 これにより、お使いの Geneious のオプションを更新し、お 使いのデータベースからプライマーやリファレンス配列を選択できるようになります。

Coronavirus assembly protocol.geneiousWorkflow

		2					
Workflow Name:	Coronavirus assembly protocol						
Author:	hilary	<ô					
Description:	<pre><html>Trim primers, filter low quality and short reads, map to reference and call SNPs</html></pre>						
Icon:	∅         ∨         Choose Custom	Icon					
6	Share (read-only) with other Shared Database users						
+ Add Step -	Delete Step $ \mathscr{D}$ View/Edit Options $ \wedge $ Move Up $ \downarrow $ Move Down	⑦ Hel					
Ror Ea	sch Document						
Trim using BBDuk Options: Maximum memory=4000; Custom BBDuk Options='rcomp=f restrictlef'; Trim=Left End; Kmer							
Align/Assemble -> Map to Reference Options: 'No Documents'; Sensitivity=Low Sensitivity; Fine Tuning=Iterate 3 times; Trim regions; 3							
Align/	/Assemble -> Map to Reference ns: 'No Documents'; Sensitivity=Low Sensitivity; Fine Tuning=Iterate 3 times; Trim regions; 3						
Align/ Optior	Assemble -> Map to Reference https://www.inity-lowsensitivity; Fine Tuning=Iterate 3 times; Trim regions; 3 Documents / Branch https://www.org.of.loput_3_steps_Ago} Assembly	_					
Align/ Optior Care of the second sec	Assemble >> Map to Reference ns: 'No Documents'; Sensitivity=Low Sensitivity; Fine Tuning=Iterate 3 times; Trim regions; 3 Documents / Branch ns: Save. Sub-Folder: {Name_Of_Input_3_Steps_Ago} Assembly Documents ns: Document type Contains 'Contig'						
= ↑     Align/ Option       □     Save I Option       □     Filter I Option       ○     Filter I Option       ○     Find V Option	Assemble >> Map to Reference ns: 'No Documents'; Sensitivity=Low Sensitivity; Fine Tuning=Iterate 3 times; Trim regions; 3 Documents / Branch ns: Save. Sub-Folder: {Name_Of_Input_3_Steps_Ago} Assembly Documents ns: Document type Contains 'Contig' Variations/SNPs ns: 100; (99.0% correct)						
→     Align/ Option       →     Save I Option       →     Save I Option       →     Filter I Option       →     Filter I Option       →     Filter I Option       →     Workf	Assemble -> Map to Reference ns: 'No Documents'; Sensitivity=Low Sensitivity; Fine Tuning=Iterate 3 times; Trim regions; 3 Documents / Branch ns: Save. Sub-Folder: {Name_Of_Input_3_Steps_Ago} Assembly Documents ns: Document type Contains 'Contig' Variations/SNPs ns: 100; (99.0% correct) Rows -> Apply Variants to Reference Sequence						

ワークフローを実行するには、Manage Workflows ウィンドウを閉じて、アセンブルしたい Illumina 生リードのファイルを選択します。 次に Workflows ボタンをクリックして、リストからワ ークフローを選択します。 また、NCBI が Betacoronaviruses の BLAST データベースを公開しています。このデータベー スを Geneious NCBI BLAST に追加するには、**Tools → Add/Remove Databases → Set up BLAST Services** と進みます。NCBI タブで **Edit Databases** をクリックし、**Add**+を クリックします。スクリーンショットのように詳細を入力します。(データベース名が正確に入力されて いることをご確認ください)

	Edit BLAST Database
Database Name:	genomic/Viruses/Betacoronavirus
Display Name:	betacoronaviruses
Description:	Betacoronavirus nucleotide sequence data
Protein:	
Nucleotide:	
	Cancel

## SARS-CoV-2 用 Geneious Prime フォーマットファイル

1. SARS-CoV-2 リファレンスゲノム

## MN908947.geneious

1	2,000	4,000	6,000	8,000	10,000	12,000	14,000	16,000	18,000	20,000	22,230	24,000	M ORF8 E ORF7a 3'UTR ORF3a ORF6 ORF10 26000 25,000 29,003
					sou	rce Severe ad	ute respirat	ory syndrome	coronavirus	2			<b></b>
6					orf1a	ab						S	
			orf1a	b								S	
5'l	UTR												ORF3a ORF6 N gene
													É   ORF7a ORF10

2. Artic Network 社の SARS-CoV-2 V3 tiled アンプリコンシークエンス用プライマー

Artic V3 primers.geneious

他のアンプリコンプライマーセットのインポートに関する詳細情報 <u>TSV/CSV ファイルからプライマーセットをインポートするためのクイックガイド</u>

3. SARS-CoV-2 ゲノムに対する WHO プライマーとプローブ (エディンバラ大学 MRC Human Genetics Unit の Martin Reijns が作成したリスト)

SARS-CoV-2 Primers & Probes.Geneious

4. SARS-CoV-2 ゲノム from NCBI Viruses (2020年5月12日現在、NCBI SARS-CoV-2 data hubで利用可能な全ヌクレオチド配列)

SARS-CoV-2 Genbank sequences.geneious

新しい配列が公開された時にこのリストを更新するには、Geneious の Agent 機能を設定すること をお勧めします。 これを行うには、View → Agent を選択し、Create をクリックします。 Search Database で Nucleotide を選択し、"Organism" "contains" "Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 "と設定します。

	Create Agent				
Search Database 🔗 Nucleotide 📀					
Match all ᅌ of the following	r.				
Organism 🗘	contains 📀 Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 🕂 =				
Тп	uncate sequences to (residues):				
Deliver To	SARS-CoV-2 Genbank (0)				
Search every 1	Days 🗘				
	Only get documents created after today				
	Cancel Create Create and Run				

※ NCBI SARS-CoV-2 data hub に配列が表示されてから NCBI Nucleotide で検索できる ようになるまでには数日間の遅延があることがあります。

## Geneious ご利用方法に関するお問合せ先

Email:support@digital-biology.co.jp



**Geneious Prime 2021** 

製品概要

フリートライアル・日本語マニュアルのご希望は

こちら

TDB News 9.2021 トミーデジタルバイオロジー株式会社