



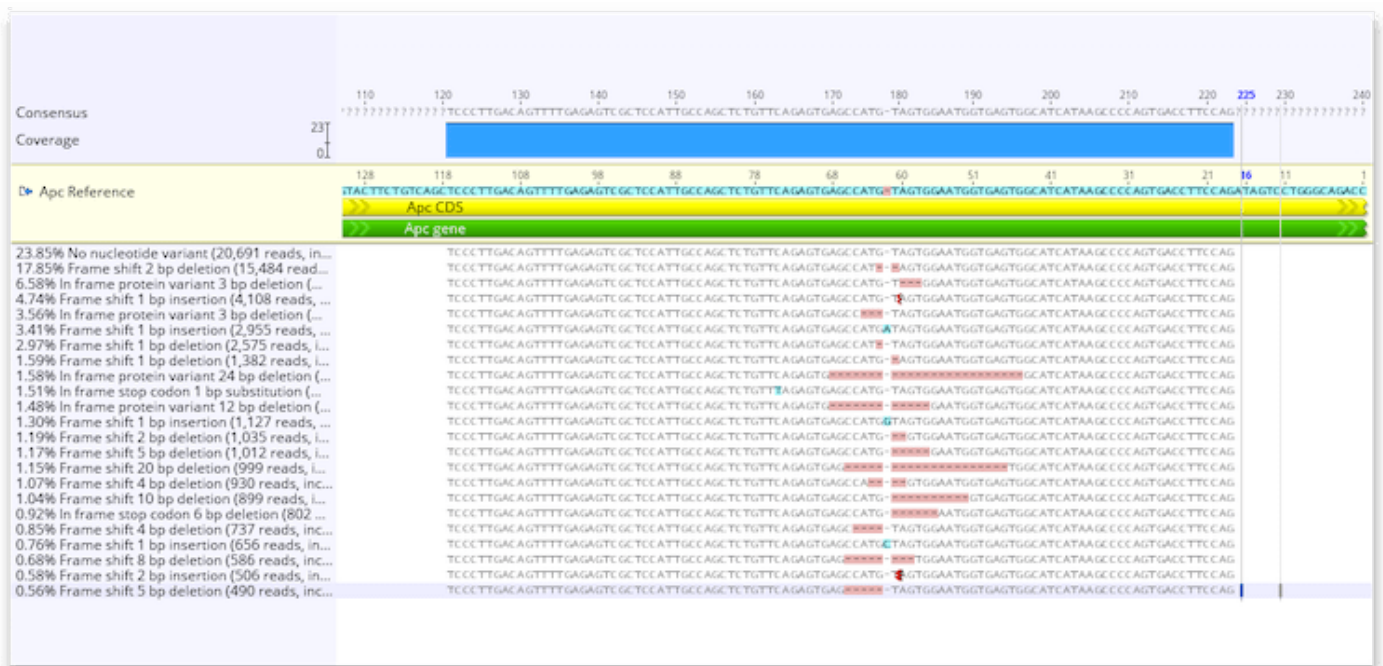
Geneious Prime でシーケンス解析



第 20 回 CRISPR 編集結果の解析(その 3)

Analyze CRISPR Editing Results ツールにより、CRISPR 編集実験から得られた NGS リードをアラインメント、クラスタリング、解析し、バリエーションの頻度やタンパク質への影響を判断することができます。CRISPR 解析(その1、その2) 最後の今回(その 3)は、解析結果の解釈についてご紹介します。

チュートリアルデータでは Analyze CRISPR Editing Results ツールによる解析の終了後、Apc Reference CRISPR Variants for Sample Reads (trimmed) (merged) というコンテイングドキュメントが作成されるはずですが、通常のリファレンスマッピングで用いられる map to reference の出力結果と似ていますが、各リードがリファレンス配列にマッピングされるのではなく、以下のスクリーンショットに示すように、各クラスターの代表 1 つだけがマッピングされています。



マッピングされた配列の名称は以下のような形式となっています。

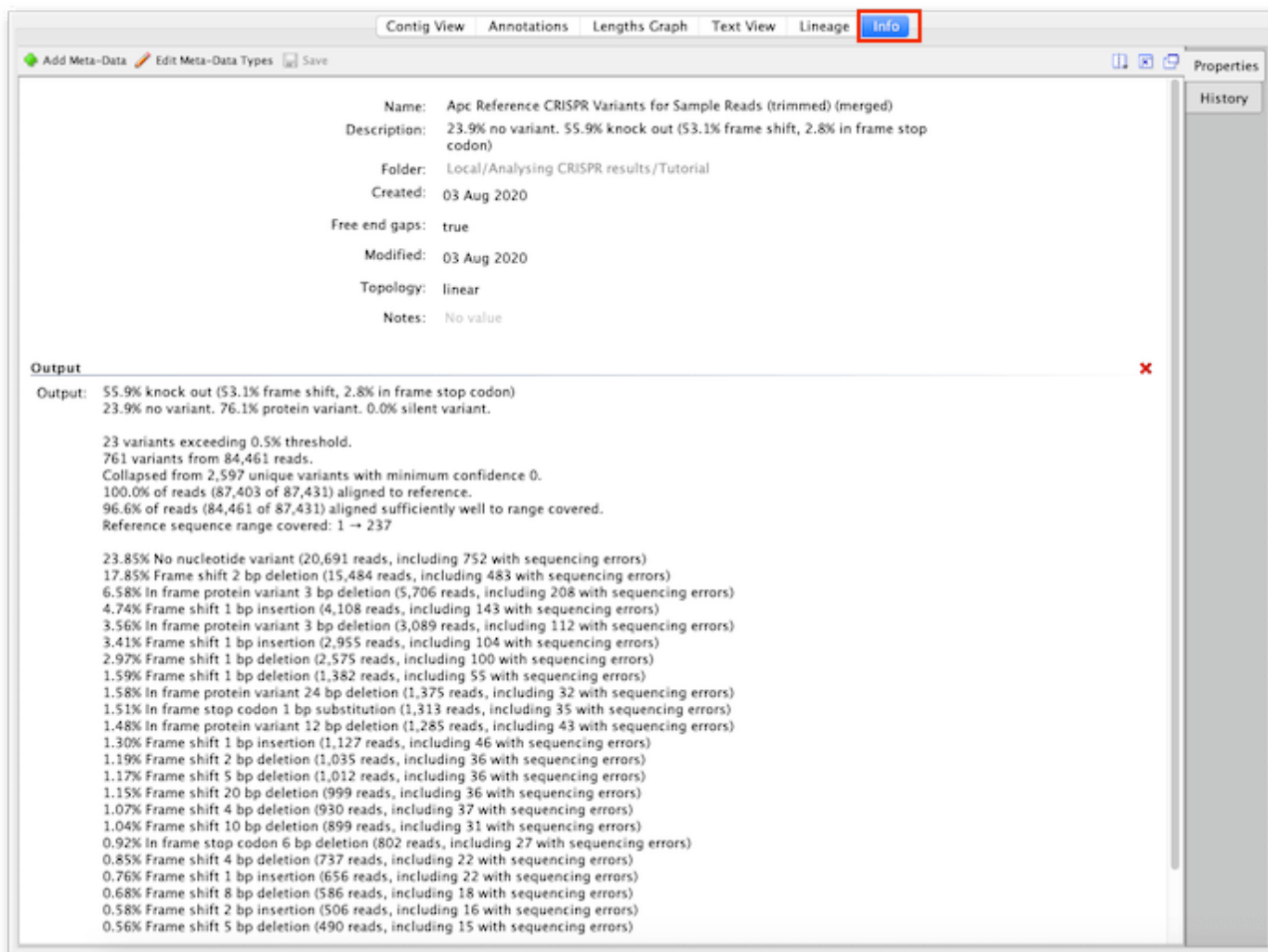
バリエーション頻度% バリエーション効果 (クラスター内の総リード数, クラスター内の推定シーケンシングエラーを含むリード数)

例: 17.85% Frame shift 2 bp deletion (15,484 reads, including 483 with sequencing errors)

今回は解析設定時の Variants of Interest の設定により、カットサイトと思われる位置の上/下流 50 bp のみを表示するようにトリミングされています。この領域はリードを同一のクラスターにまとめるために使用され、この領域外のバリエーションは考慮されていません。

Geneious は、バリエントの多い位置をもとにカットサイトを自動的に決定します。アルゴリズムの詳細については、[Geneious Prime User Manual\(英語版\)](#)をご参照ください。

バリエントなしのリードの割合とノックアウトバリエントのリードの割合など、データセット全体の結果は、Description of the Contig document に表示されています。より詳細な結果については、ドキュメントの **Info** タブで確認することができます。



結果はビューアーの上の **Annotations** タブを表示することにより、表形式で出力することもできます。各代表配列には、効果、頻度、バリエント塩基などのバリエントの統計情報を含むバリエントのアノテーション(シークエンスビューアーのデフォルトではオフになっています)が表示されます。この情報は、Annotations テーブルで表示することができ、.csv フォーマットでエクスポートすることができます。

Sequence Name	Name	Length	Variant Effect	Variant Frequency %	Reference Nucleotide(s)	Variant Nucleotide(s)	Variant Raw Frequency
17.85% Fram...	Frame shift 2 bp deletion	0	Frame shift	17.85%	GT		15,484
6.58% In fra...	In frame protein variant 3 bp ...	0	In frame protein variant	6.58%	AGT		5,706
4.74% Frame ...	Frame shift 1 bp insertion	1	Frame shift	4.74%		T	4,108
3.56% In fra...	In frame protein variant 3 bp ...	0	In frame protein variant	3.56%	ATG		3,089
3.41% Frame ...	Frame shift 1 bp insertion	1	Frame shift	3.41%		A	2,955
2.97% Frame ...	Frame shift 1 bp deletion	0	Frame shift	2.97%	G		2,575
1.59% Frame ...	Frame shift 1 bp deletion	0	Frame shift	1.59%	T		1,382
1.58% In fra...	In frame protein variant 24 bp...	0	In frame protein variant	1.58%	AGCCATGTAGTGGAAAT		1,375
1.51% In fra...	In frame stop codon 1 bp sub...	1	In frame stop codon	1.51%	C	T	1,313
1.48% In fra...	In frame protein variant 12 bp...	0	In frame protein variant	1.48%	AGCCATGTAGTG		1,285
1.30% Frame ...	Frame shift 1 bp insertion	1	Frame shift	1.30%		G	1,127
1.19% Frame ...	Frame shift 2 bp deletion	0	Frame shift	1.19%	TA		1,035
1.17% Frame ...	Frame shift 5 bp deletion	0	Frame shift	1.17%	TAGTG		1,012
1.15% Frame ...	Frame shift 20 bp deletion	0	Frame shift	1.15%	CCATGTAGTGGAAATGG		999
1.07% Frame ...	Frame shift 4 bp deletion	0	Frame shift	1.07%	TGTA		930
1.04% Frame ...	Frame shift 10 bp deletion	0	Frame shift	1.04%	TAGTGGAAATG		899
0.92% In fra...	In frame stop codon 6 bp dele...	0	In frame stop codon	0.92%	TAGTGG		802
0.85% Frame ...	Frame shift 4 bp deletion	0	Frame shift	0.85%	CATG		737
0.76% Frame ...	Frame shift 1 bp insertion	1	Frame shift	0.76%		C	656
0.68% Frame ...	Frame shift 8 bp deletion	0	Frame shift	0.68%	CCATGTAG		586
0.58% Frame ...	Frame shift 2 bp insertion	2	Frame shift	0.58%		GT	506
0.56% Frame ...	Frame shift 5 bp deletion	0	Frame shift	0.56%	CCATG		490

Geneious 製品概要・フリートライアルリクエストについては[こちら](#)

『Geneious Prime でシーケンス解析』の過去の記事は[こちらでチェック!](#)



TDB News 6. 2023
 トミーデジタルバイオロジー株式会社
 Phone 03-6240-0843 Fax 03-6240-0461