



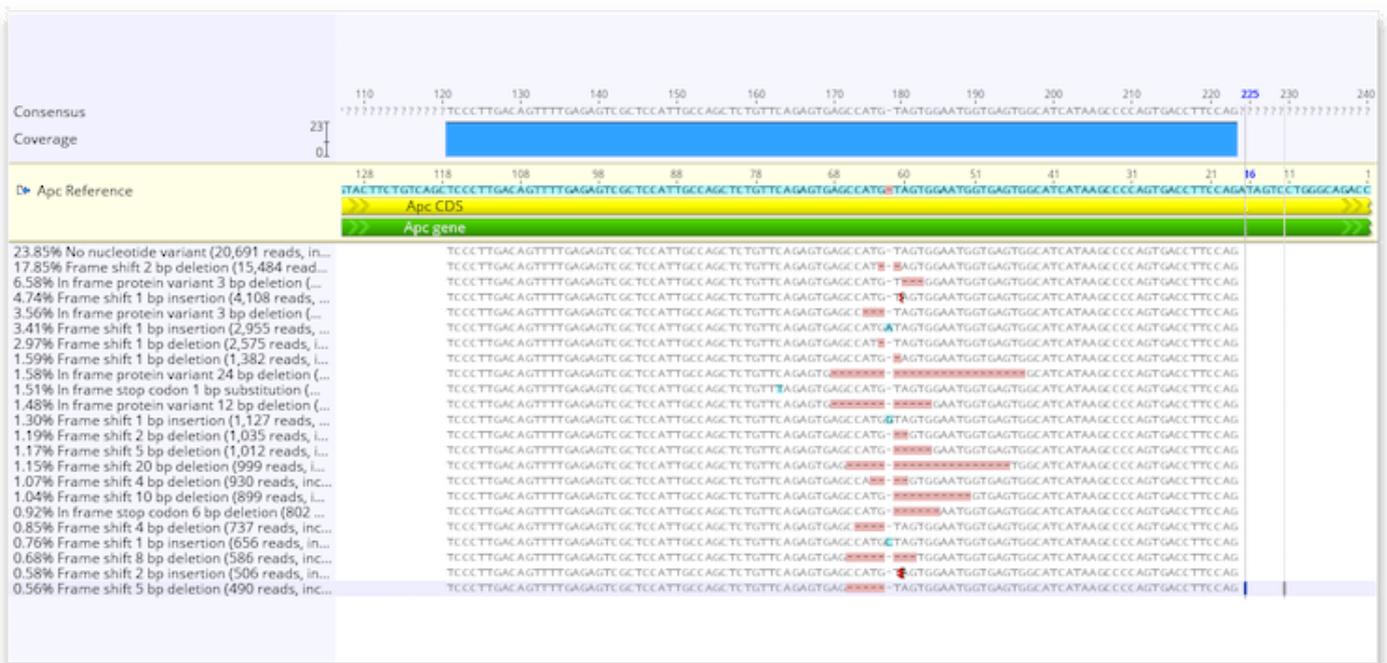
Geneious Prime でシーケンス解析



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。

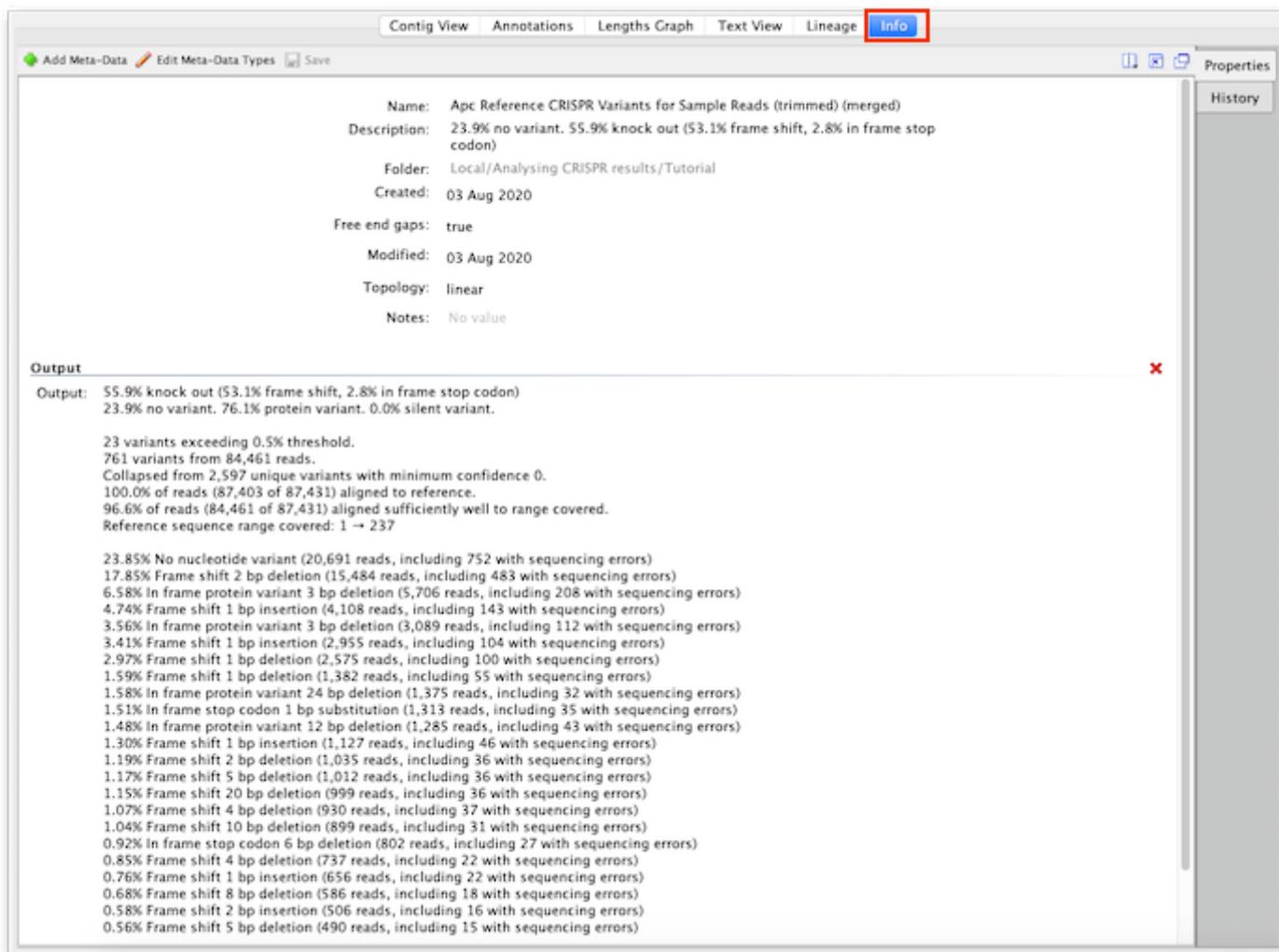


マッピングされた配列の名称は以下のような形式となっています。
バリエーション頻度% バリエーション効果 (クラスター内の総リード数, クラスター内の推定シーケンシングエラーを含むリード数)
例: 17.85% Frame shift 2 bp deletion (15,484 reads, including 483 with sequencing errors)

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、バリエーション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。

バリエーションなしのリードの割合とノックアウトバリエーション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、バリエーション塩基などのバリエーションの統計情報を含むバリエーションのアノテーション(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