猫も杓子も

## Geneious Prime でシーケンス解析

### 第 27 回 リファレンスマッピングと SNP 検出 (その 3)



NGS リードをリファレンス配列にマッピングし、SNP を検出するための一般的なワークフローについてご紹介しています。

[第 26 回 リファレンスマッピングと SNP 検出 \(その 1\)](#)

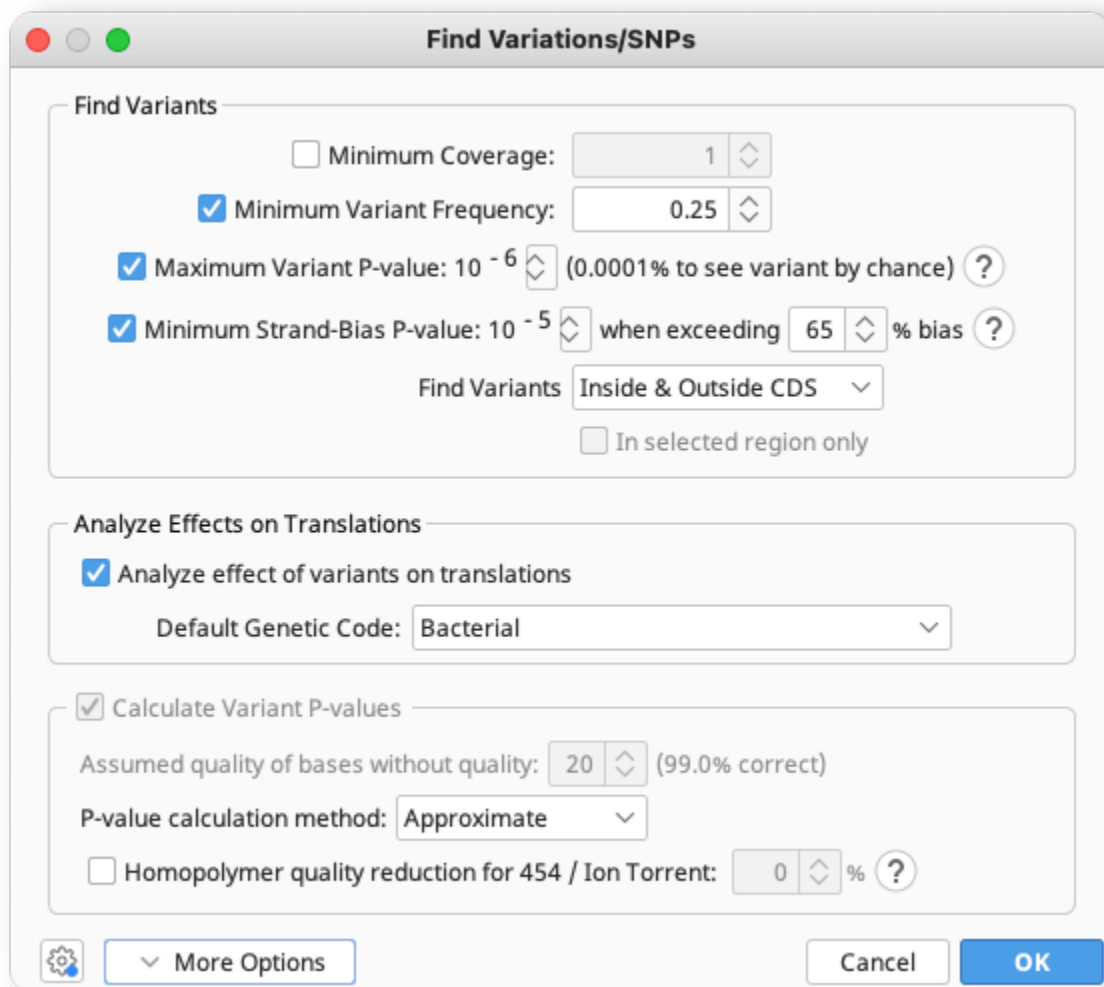
[第 27 回 リファレンスマッピングと SNP 検出 \(その 2\)](#)

3 回目となる今回は、コンティグから SNP を検出する方法についてです。

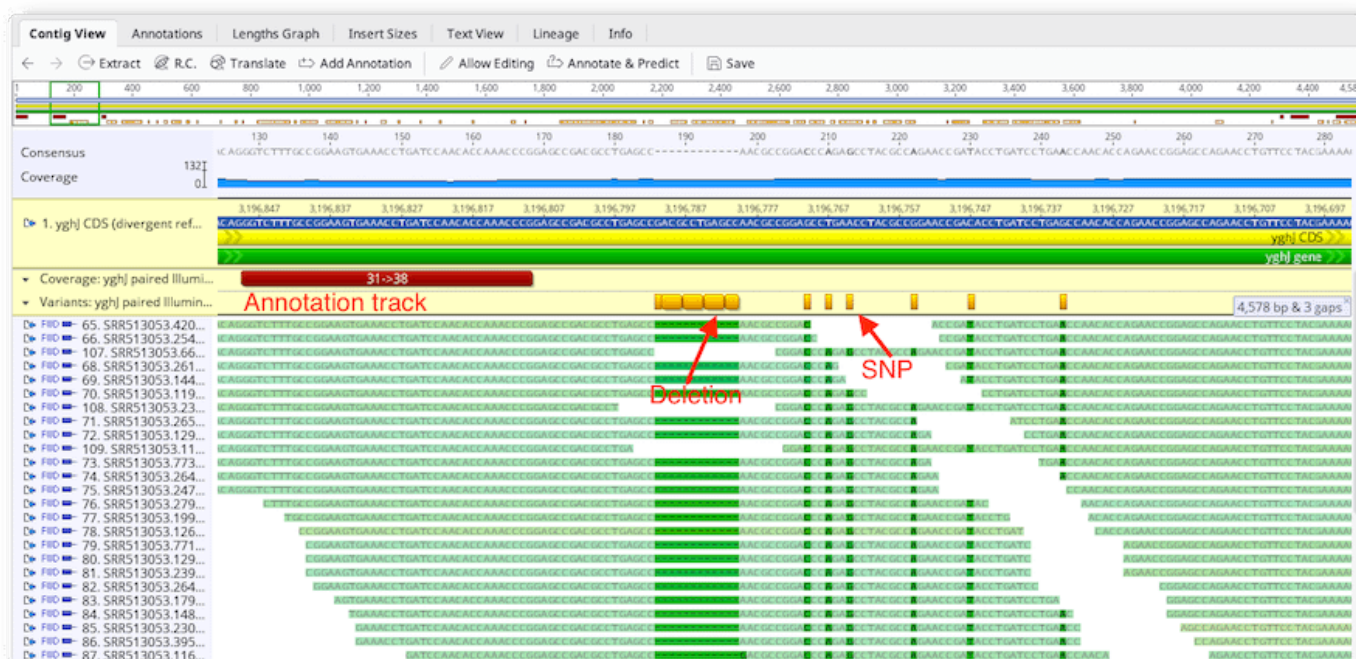
Geneious Prime では Variant Finder 機能を使用することで、マッピングされたデータから SNP を検出することができます。コンティグドキュメントを選択し、Annotate and Predict → Find Variations/SNPs と進みます。

一番上にある Find Variants パネルにあるオプションで、変異の頻度や p 値などをしきい値として SNP をコールする時のパラメータを設定し、シーケンスエラーに起因する不一致をフィルタリングで除外することができます。これらの設定に関する詳細な情報が必要な場合は？ボタンをクリックするか、各オプションにマウスオーバーしてください。

Analyze effect of variants on translations オプションにチェックし、Default Genetic Code を設定することで、リファレンス配列の CDS アノテーションを使用して、マッピングされたリードのコード配列を決定し、検出された SNP がアミノ酸配列に変化をもたらすかどうかを計算することができます。チュートリアルデータの場合は Bacterial に変更し、その他の設定はそのまま OK ボタンをクリックすると解析が開始されます。

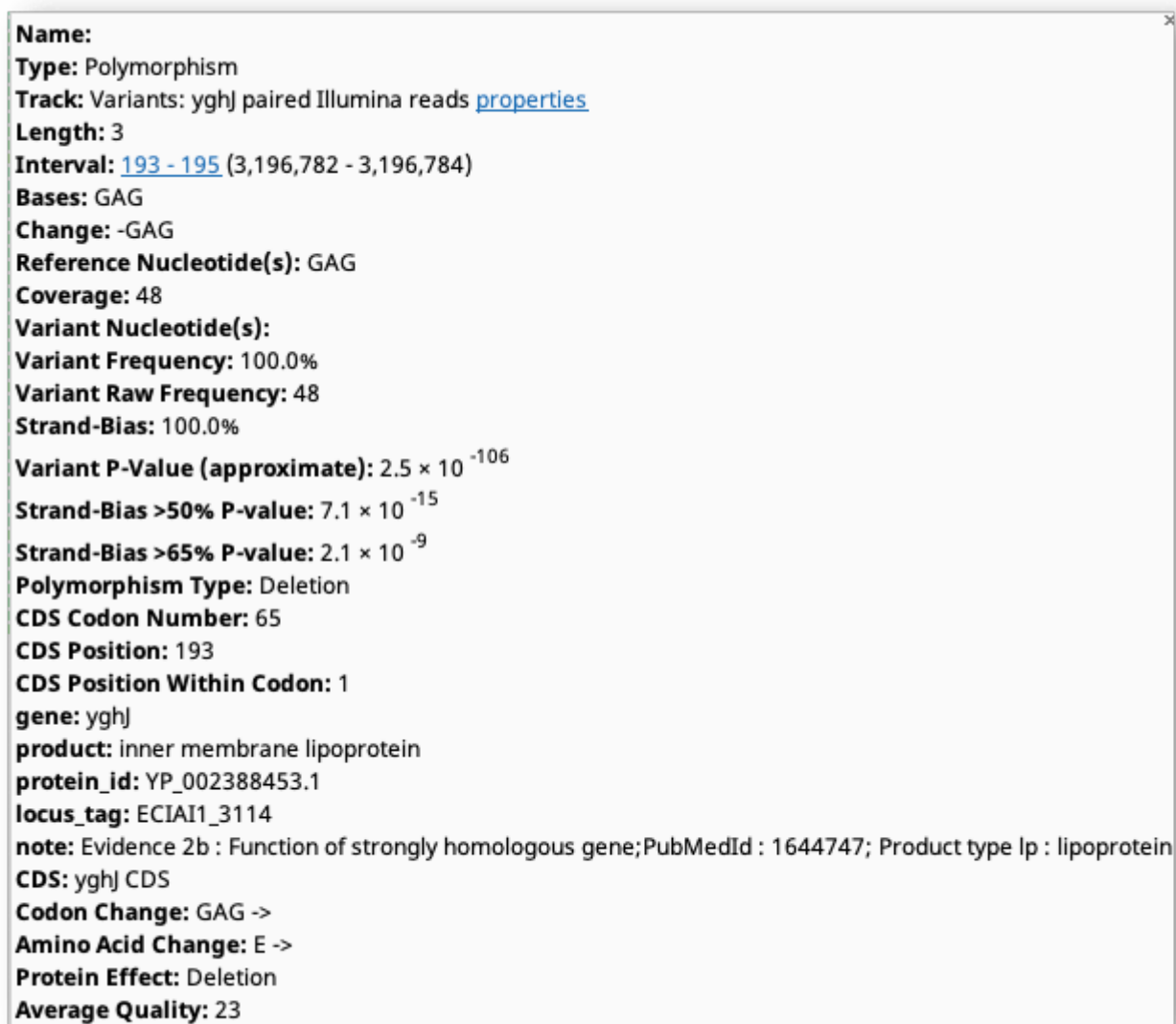


解析が終了すると、コンティグに Variants のアノテーショントラックが追加されます(チュートリアルデータの場合は Variants: yghJ paired Illumina reads (trimmed))。Save をクリックすると、オリジナルの配列に変更を適用するか確認されますので、Yes を選択して、アノテーショントラックを元のリファレンス配列に保存します。



**ご注意！** 変異検出や発現解析結果を Save する時、元の(マッピング時にリファレンスとして用いた)配列に変更内容(解析結果)を保存するかどうかを確認するダイアログが表示されます。ここで No を選択した場合、この解析結果はこれ以降永久に、リファレンス配列に適用できなくなりますのでご注意ください(再度の適用のためにはマッピングからのやり直しが必要になります)。変異をサンプルごとに比較する場合や、発現差解析を行う場合には、変異や発現量のアノテーションが、同じドキュメント(通常は元のリファレンス配列)内に存在する必要があります。

コンティグをスクロールして、SNP のアノテーション(黄色の縦棒)を含む位置まで移動します。アノテーションにマウスオーバーすると、その SNP に関する情報を含むポップアップウィンドウが表示されます。これには塩基変化、バリエーション頻度、SNP タイプ、タンパク質や CDS の変化に関する情報などが含まれています。



**Name:**  
**Type:** Polymorphism  
**Track:** Variants: yghj paired Illumina reads [properties](#)  
**Length:** 3  
**Interval:** [193 - 195](#) (3,196,782 - 3,196,784)  
**Bases:** GAG  
**Change:** -GAG  
**Reference Nucleotide(s):** GAG  
**Coverage:** 48  
**Variant Nucleotide(s):**  
**Variant Frequency:** 100.0%  
**Variant Raw Frequency:** 48  
**Strand-Bias:** 100.0%  
**Variant P-Value (approximate):**  $2.5 \times 10^{-106}$   
**Strand-Bias >50% P-value:**  $7.1 \times 10^{-15}$   
**Strand-Bias >65% P-value:**  $2.1 \times 10^{-9}$   
**Polymorphism Type:** Deletion  
**CDS Codon Number:** 65  
**CDS Position:** 193  
**CDS Position Within Codon:** 1  
**gene:** yghj  
**product:** inner membrane lipoprotein  
**protein\_id:** YP\_002388453.1  
**locus\_tag:** ECIAI1\_3114  
**note:** Evidence 2b : Function of strongly homologous gene;PubMedId : 1644747; Product type lp : lipoprotein  
**CDS:** yghj CDS  
**Codon Change:** GAG ->  
**Amino Acid Change:** E ->  
**Protein Effect:** Deletion  
**Average Quality:** 23

これらの情報をテーブルで表示するには、まずシークエンスビューアの上にある **Annotations** タブをクリックします。すると配列上のすべてのアノテーションがテーブル表示されますので、**Type** をクリックし、Polymorphism を選択すると、多型アノテーションのみが表示されます。多型の種類、変異頻度、アミノ酸/コドン/塩基の変化など、関連するカラムが自動的に表示されます。追加のカラムを表示したり、既存のカラムを削除したりするには、**Columns** をクリックすることで、必要なカラムを追加/削除することができます。

Name	Minimum	Maximum	Length	# Intervals	Amino Acid Change	CDS Position	Change	Codon Change	Coverage	Polymorphism Type	Protein Effect	Variant Frequency	Variant P-Value (approxim...
ACA	1,942	1,944	3	1	L → T	1,942	CTG → ACA	CTG → ACA	110 → 113	Substitution	Substitution	100.0%	0.0
T	1,941	1,941	1	1		1,941	G → T	GTG → GTT	109	SNP (transversion)	None	100.0%	0.0
T	1,935	1,935	1	1		1,935	G → T	GGG → GGT	114	SNP (transversion)	None	100.0%	0.0
CGT	1,927	1,929	3	1	K → R	1,927	AAA → CGT	AAA → CGT	108 → 109	Substitution	Substitution	100.0%	0.0
T	1,923	1,923	1	1		1,923	C → T	TTC → TTT	110	SNP (transition)	None	100.0%	0.0
C	1,917	1,917	1	1		1,917	G → C	GTG → GTC	100	SNP (transversion)	None	100.0%	0.0
T	1,914	1,914	1	1		1,914	G → T	ACG → ACT	101	SNP (transversion)	None	100.0%	0.0
T	1,911	1,911	1	1	E → D	1,911	G → T	GAG → GAT	103	SNP (transversion)	Substitution	100.0%	0.0
C	1,902	1,902	1	1		1,902	T → C	ACT → ACC	100	SNP (transition)	None	100.0%	0.0
C	1,899	1,899	1	1		1,899	T → C	GGT → GGC	97	SNP (transition)	None	100.0%	7.9E-321
A	1,896	1,896	1	1		1,896	G → A	GTG → GTA	102	SNP (transition)	None	100.0%	0.0
C	1,887	1,887	1	1		1,887	T → C	AGT → AGC	105	SNP (transition)	None	99.0%	0.0
G	1,882	1,882	1	1	S → A	1,882	T → G	TCC → GCC	103	SNP (transversion)	Substitution	100.0%	0.0
G	1,878	1,878	1	1		1,878	A → G	GCA → GCG	102	SNP (transition)	None	100.0%	0.0
C	1,875	1,875	1	1		1,875	T → C	GAT → GAC	104	SNP (transition)	None	100.0%	0.0
AA	1,867	1,868	2	1	L → K	1,867	TT → AA	TTG → AAG	98 → 99	Substitution	Substitution	100.0%	0.0
AAA	1,861	1,863	3	1	R → K	1,861	CGC → AAA	CGC → AAA	98 → 99	Substitution	Substitution	100.0%	0.0
GAC	1,855	1,857	2	2	N → D	1,855	AAT → GAC	AAT → GAC	100 → 102	Substitution	Substitution	100.0%	0.0
C	1,854	1,854	1	1		1,854	A → C	TCA → TCC	102	SNP (transversion)	None	100.0%	0.0
T	1,735	1,735	1	1		1,735	C → T	CTG → TTG	95	SNP (transition)	None	98.9%	2.4E-318
T	1,734	1,734	1	1		1,734	C → T	ATC → ATT	95	SNP (transition)	None	100.0%	1.0E-323
A	1,698	1,698	1	1		1,698	G → A	AAG → AAA	101	SNP (transition)	None	100.0%	0.0
G	1,692	1,692	1	1	D → E	1,692	T → G	GAT → GAG	99	SNP (transversion)	Substitution	100.0%	0.0
T	1,689	1,689	1	1		1,689	C → T	GGC → GGT	100	SNP (transition)	None	100.0%	0.0
C	1,686	1,686	1	1		1,686	G → C	GTG → GTC	101	SNP (transversion)	None	100.0%	0.0
C	1,557	1,557	1	1		1,557	T → C	TTT → TTC	102	SNP (transition)	None	100.0%	0.0
C	1,554	1,554	1	1		1,554	G → C	GCG → GCC	102	SNP (transversion)	None	100.0%	0.0
C	1,446	1,446	1	1		1,446	T → C	ACT → ACC	98	SNP (transition)	None	100.0%	4.9E-324
C	1,443	1,443	1	1		1,443	T → C	TCT → TCC	93	SNP (transition)	None	100.0%	6.3E-317
C	1,377	1,377	1	1		1,377	T → C	ATT → ATC	96	SNP (transition)	None	100.0%	0.0
T	1,305	1,305	1	1		1,305	C → T	GAC → GAT	92	SNP (transition)	None	100.0%	2.5E-304
C	1,301	1,301	1	1	N → T	1,301	A → C	AAC → ACC	89	SNP (transversion)	Substitution	100.0%	2.5E-303
T	1,257	1,257	1	1	K → N	1,257	G → T	AAG → AAT	93	SNP (transversion)	Substitution	100.0%	0.0
T	1,245	1,245	1	1		1,245	C → T	ATC → ATT	103	SNP (transition)	None	100.0%	0.0
C	1,191	1,191	1	1		1,191	T → C	AAT → AAC	109	SNP (transition)	None	100.0%	0.0

Export table をクリックすると、テーブルをタブ区切り(.tsv)またはカンマ区切り(.csv)形式でエクスポートすることができます。

今回はアノテーションの比較機能を使用して、より確度の高い SNP を検出する手法をご紹介します予定です。

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 で猫も杓子もシークエンス解析』過去の記事は[こちらでチェック!](#)