

猫も杓子も

Geneious Prime でシークエンス解析

第 34 回 シークエンス間のアノテーションの転送 4



(Transfer Annotations ツール)

[第 31 回 シークエンス間のアノテーションの転送 1 \(はじめに\)](#)

[第 32 回 シークエンス間のアノテーションの転送 2 \(Annotate from Database ツール1\)](#)

[第 33 回 シークエンス間のアノテーションの転送 3 \(Annotate from Database ツール2\)](#)

Transfer Annotations ツールは、アラインメントファイルを選択すると、**Live annotate & Predict** タブに表示されます。また、このツールは **Annotate & Predict** メニューからもアクセスできます。

Transfer Annotations ツールは、**Annotate From database** ツールと同様に機能します。ただし、アノテーションされたシークエンスのデータベースを使用する代わりに、このツールではアラインメント内の 1 つまたは複数のシークエンス内で見つかったアノテーション領域を使用し、リファレンスシークエンスまたはコンセンサスシークエンス内の領域と比較してマッチングします。リファレンスシークエンスとなるシークエンスはアラインメント内にあるどのシークエンスでもよく、シークエンス上で右クリック(または Alt/Ctrl+クリック)し、**Set as Reference Sequence** を選択することで指定することができます。

Transfer Annotations ツールでは、CDS アノテーションの末端を検出して、実際の開始コドンや停止コドンと整列するように調整できないことにご注意ください。よって CDS アノテーションを転送する場合は、先にご紹介した **Annotate From Database** ツールを使用することをお勧めします。

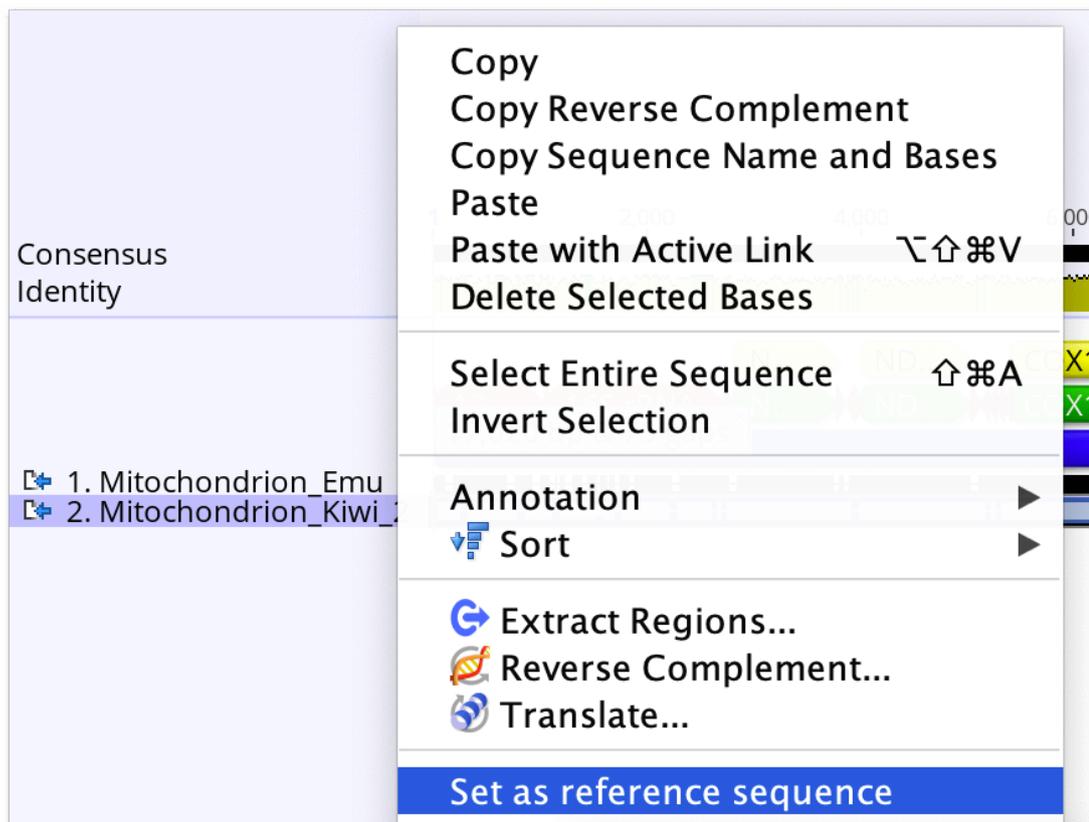
[チュートリアルデータ](#)では、Emu ミトコンドリアゲノムから Kiwi ミトコンドリアゲノムへのアノテーションの転送を実際に試すことができます。同じ操作を再現するためには、**MAFFT** プラグインが必要になりますので、もしまだお持ちでない場合は **Tools** メニュー → **Plugins...** の、**Available Plugins** のリストから、**MAFFT Multiple Alignment** を選択してインストールしてください。

Transfer Annotations ツールによるアノテーション転送の大まかな流れは以下の通りです。

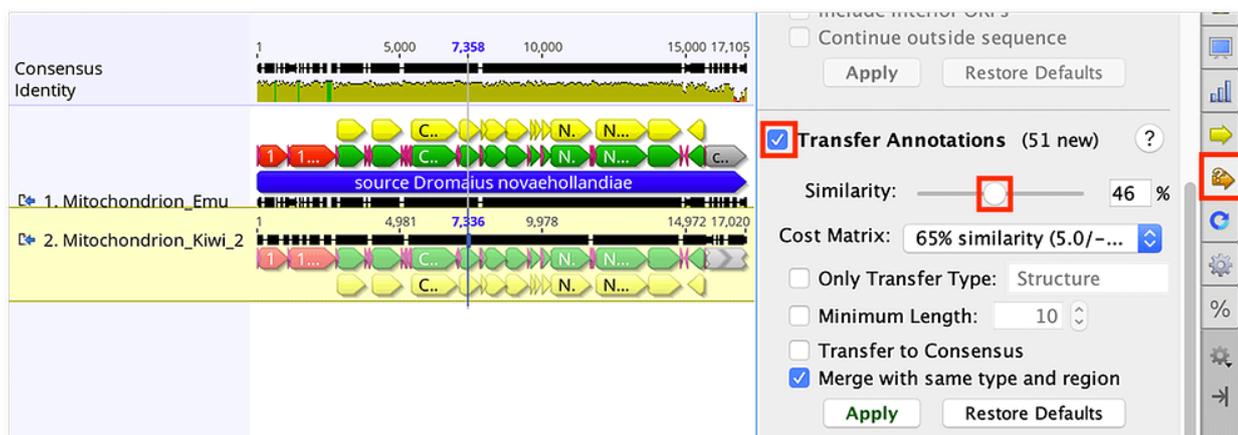
1. マルチプルアラインメントを実行して、アノテーションを付与したいシークエンスと、転送したいアノテーションを含む相同シークエンスをアラインメントします。
2. **Set as reference sequence** により、アノテーションを転送したいシークエンスを指定します。
3. **Transfer Annotations** ツールを使用し、**Apply** して **Save** します。

チュートリアルデータの場合、Mitochondrion_Emu と Mitochondrion_Kiwi_3 のファイルを選択します。Sequence View パネルで General タブ(小屋マーク)を選択し、Annotations にチェックが入っていることを確認します。

アノテーションを転送する前に行うステップはシーケンスのアラインメントです。2 つのファイルを選択した状態で、ツールバーの **Align/Assemble** ボタン → **Pairwise align** をクリックし、**MAFFT** アライナーを選択して **OK** をクリックすると、2 つのゲノムシーケンスがアラインメントされ、**Nucleotide Alignment** というアラインメントファイルが作成されます。このファイルを選択して表示し、Mitochondrion_Kiwi_3 のシーケンスを右クリックして **Set as Reference sequence** を選択して **Save** します。

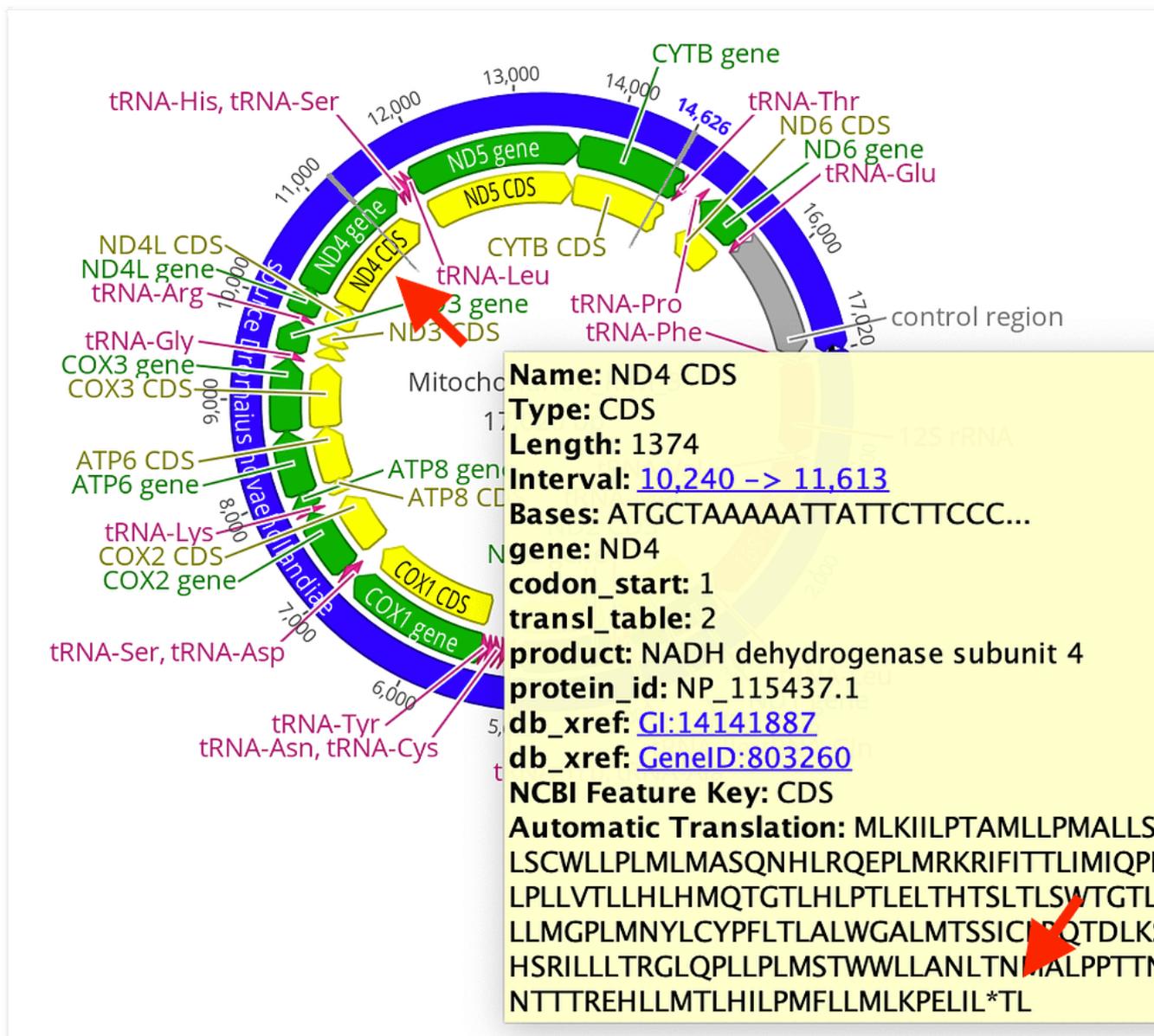


つぎに、**Live Annotate & Predict** タブを選択し、**Transfer Annotations** のボックスをクリックしてチェックしてツールを起動します。すべての機能が見つかるまで、スライダーを調節または%を入力して **Similarity** を下げます。**Apply** をクリックしてアノテーションをリファレンスシーケンスに転送し、**Save** をクリックしてアラインメントを保存し、元のシーケンスにもアノテーションを適用します。



前述のように、**Transfer Annotations** ツールを使用して CDS アノテーションを転送する場合は、転送された CDS アノテーションの境界を常に手動でチェックし、翻訳フレームが正しいこと、CDS が適切な開始コドンと停止コドンで開始および終了することを確認する必要があります。

今回のチュートリアルデータの場合、Kiwi シークエンスの **ND4 CDS アノテーション**(10,240-11,613)にカーソルを合わせると、自動翻訳では停止コドンの後に 2 つの余分なアミノ酸が含まれていることがわかります。これは、Kiwi ND4 CDS が Emu ND4 CDS より 3 コドン(9bp)短いことを示しています。



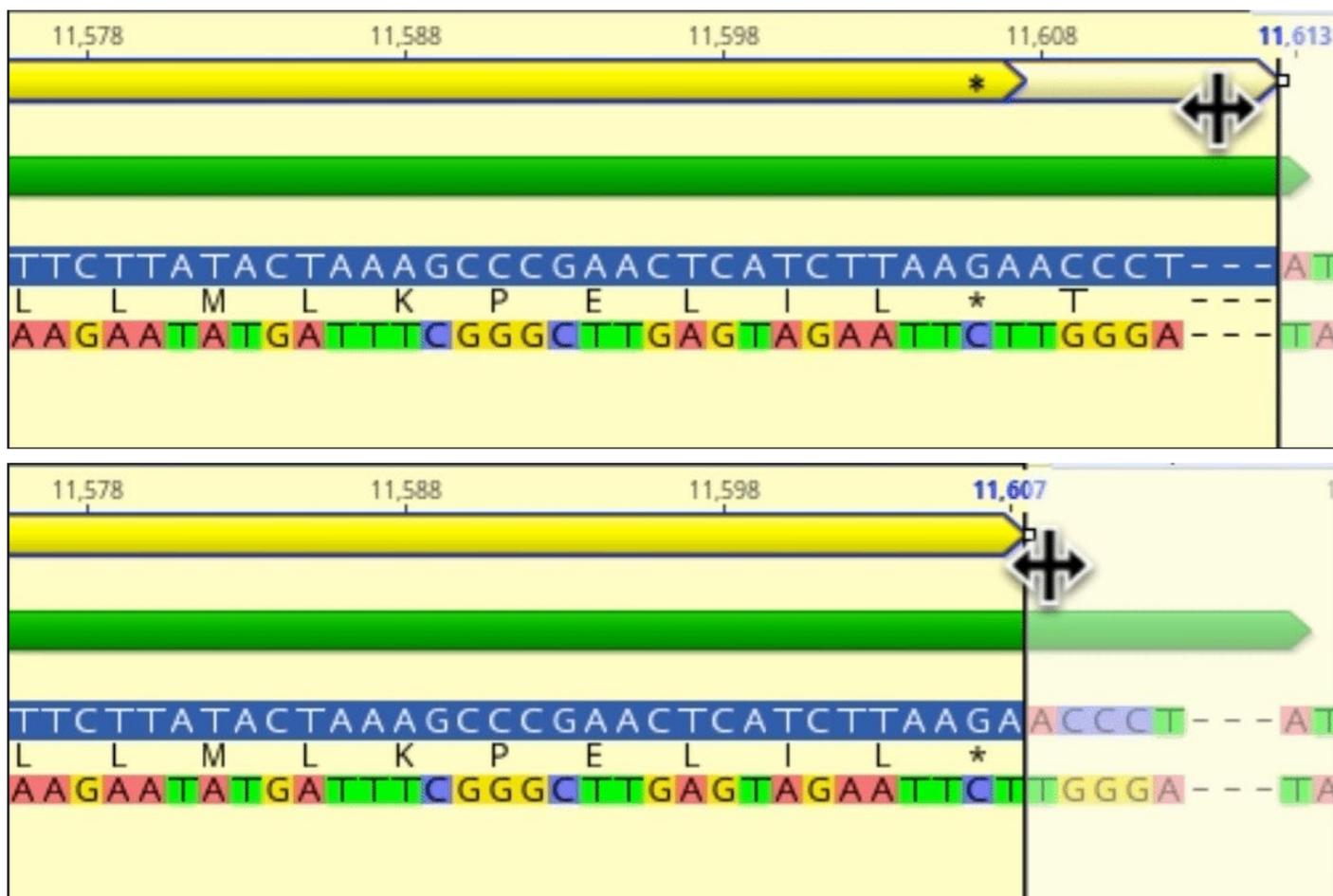
Kiwi ND4 CDS の境界を手動で修正するには、**Display** タブで **Translation** がオンになっていることを確認し、**Frame:** の表示が **By selection or annotation** に設定されていることを確認します。

ND4 CDS の 3' 末端を選択し、**Zoom to 100%** ボタン(虫眼鏡に A のマーク)を使ってズームインすると、Kiwi CDS が Emu ホモログよりも 2 コドン早く終結していることが確認できます。また、

停止コドンが非標準の AGA になっていることにも気づかれるでしょうか。これは、転送された ND4 アノテーションが、コドンを指定する情報を含んでおり、脊椎動物のミトコンドリアゲノムの翻訳表 2 を使用してコールされているためです。

(詳細は <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Uutils/wprintgc.cgi> をご参照下さい)

自動翻訳と予測翻訳との間の不一致を修正するには、CDS アノテーションの終端を選択し、AGA 停止コドンで正しく終了するようにドラッグします。同様に対応する ND4 遺伝子アノテーションもドラッグして調整します。



次回は Copy to...機能について、具体的な使用例をご紹介します。

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 で猫も杓子もシーケンス解析』過去の記事は[こちらでチェック!](#)