猫も杓子も

Geneious Prime でシーケンス解析

第 37 回 自動解析ワークフローの作成 2

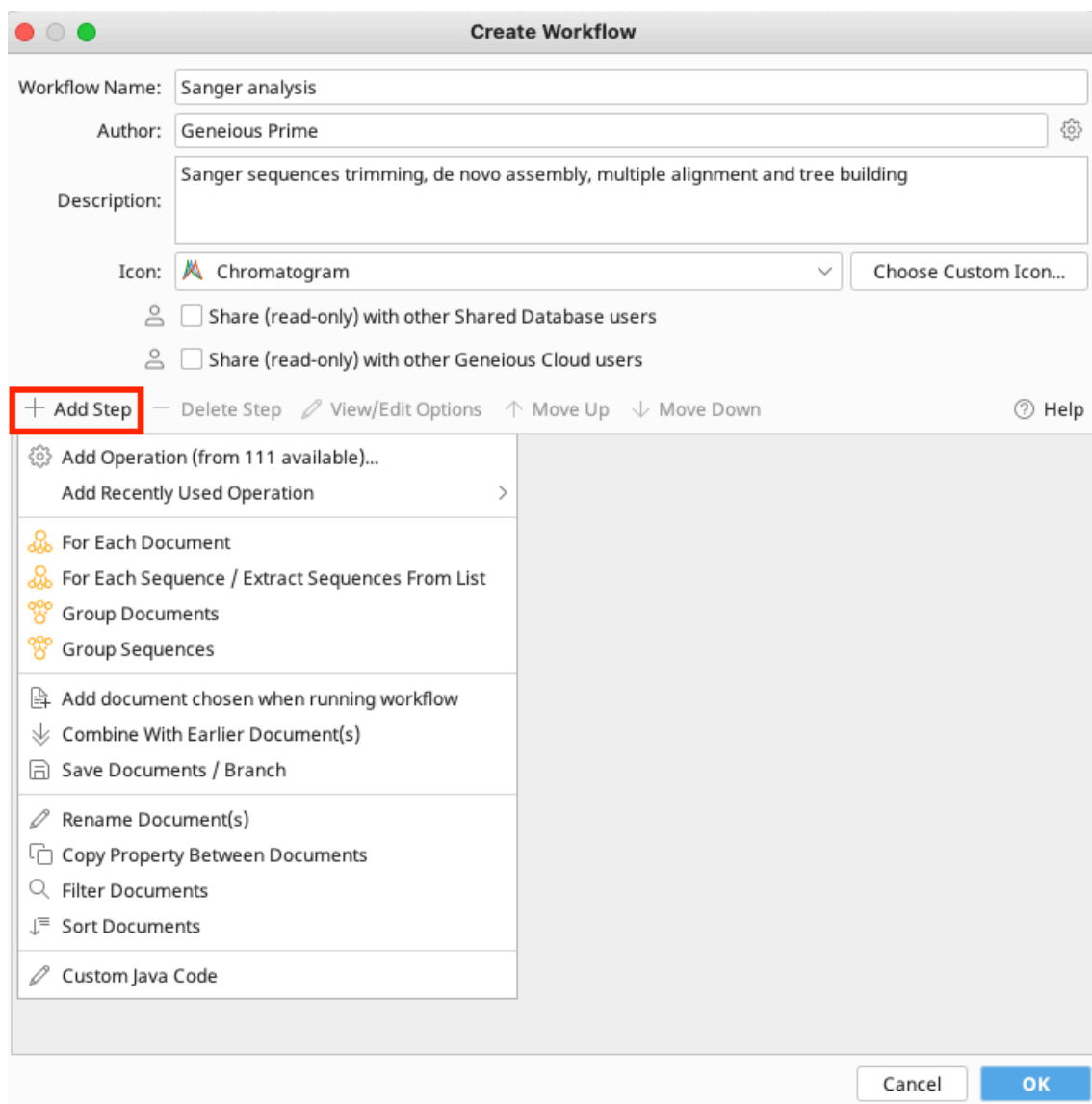


(ステップの追加)

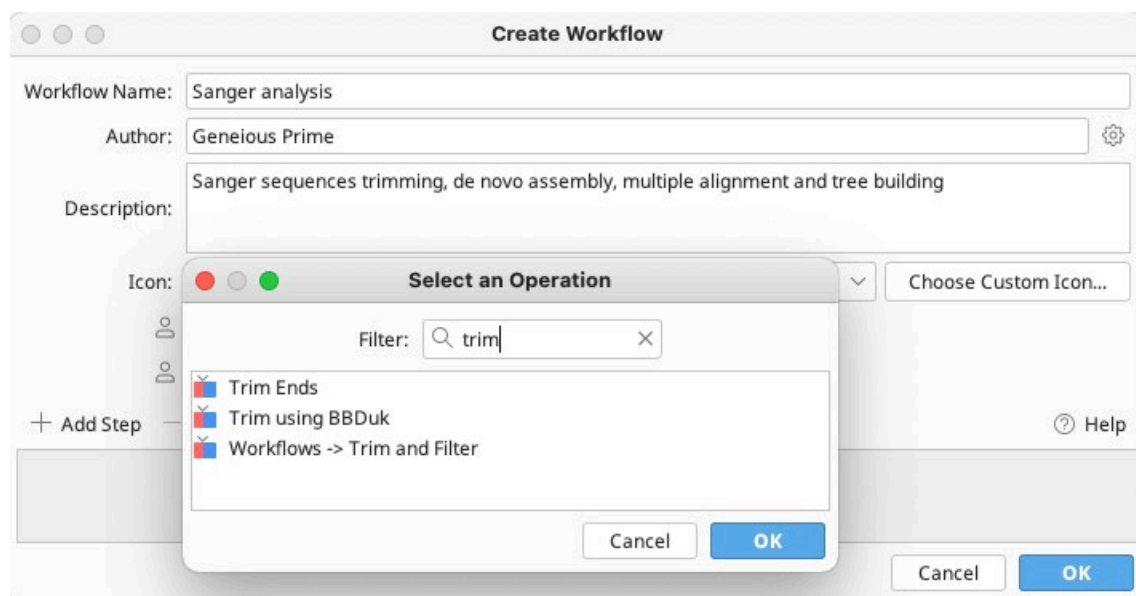
Geneious では、ワークフロー機能を使用することで、よく使用する解析の組み合わせを実行するために必要な別々のステップをグループ化し、解析を自動化することができます。

[チュートリアル用のデータがこちらからダウンロード可能](#)です。ダウンロードした zip ファイルは解凍せずに Geneious Prime にドラッグ&ドロップすることでインストールできます。

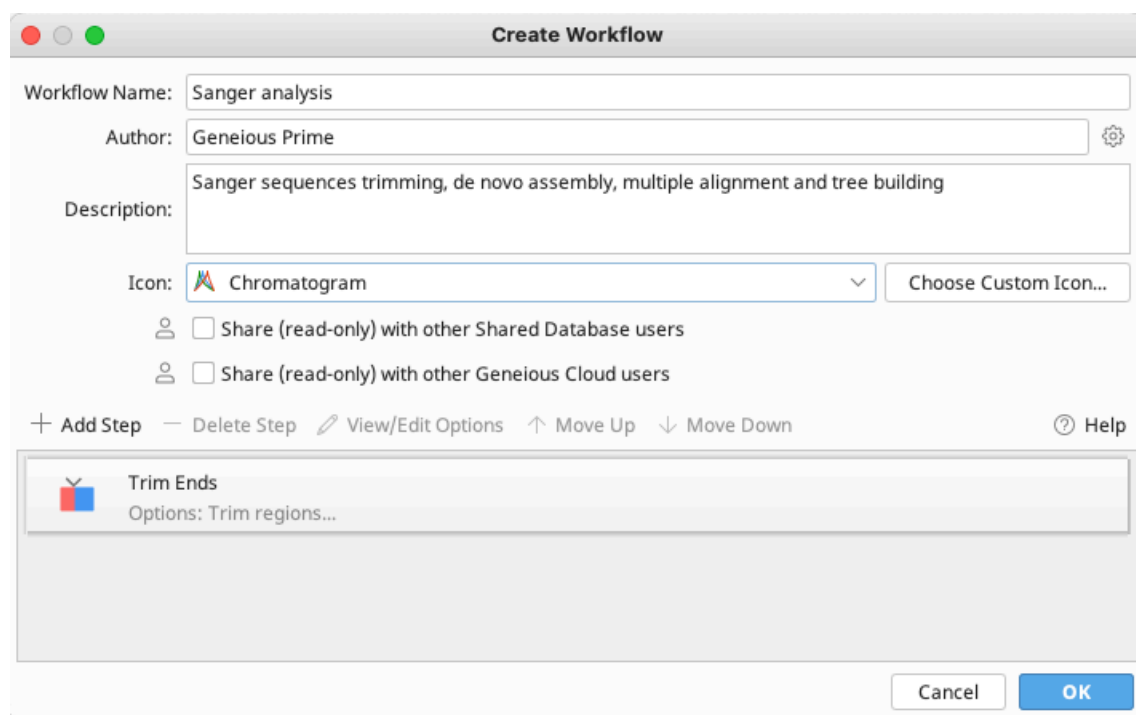
前回の記事で、新しいワークフローにステップを追加する準備ができましたので、Add step → Add operation で操作ステップを追加していきます。



最初に実行したいのは、シークエンスの 3' と 5' 末端の低品質な塩基をトリミングすることです。Filter ボックスに trim と入力すると、利用可能な操作の候補が表示されますので、Trim Ends を選択して OK します。



Trim Ends がワークフローに追加されます。



Trim Ends のオプションを確認し、変更するためには、Trim Ends のステップをダブルクリックします。今回の例では、Error Probability Limit を 0.01 に変更して OK します。3' と 5' 末端でエラー率が 1% を超える (QV20 以下の) 低品質な塩基をトリミングする設定です。

Edit Trim Ends

Options to expose to user when workflow is run

- Expose no options
- Expose all options
- Expose some options

Optionally label exposed options as: Access exposed options via button

Expose: With Alternative Label:

All Operation Options (those not exposed to workflow user and default values for options that are exposed)

- Annotate new trimmed regions (regions will be excluded from assembly and consensus)
- Remove new trimmed regions from sequences
- Remove existing trimmed regions from sequences

Trim vectors:

Minimum BLAST alignment score:

Trim primers:

Allow Mismatches:

Minimum Match Length:

Error Probability Limit: (decrease to trim more)
Trim regions with more than a 4.3% chance of an error per base

Maximum low quality bases:

Maximum ambiguities:

Trim 5' End At least bp

Trim 3' End At least bp

Maximum length after trim: (Trim excess from 3' end)

同じ手順で、2 つめのステップとしてデノボアセンブルを追加します。Add step → Add operation で、Align/Assemble → De Novo Assemble を選択します。追加された De Novo Assemble ステップをダブルクリックし、下図のようにオプションを変更します。

Edit Align/Assemble -> De Novo Assemble

Assemble reads (eg. Sanger or NGS) without using a reference

Options to expose to user when workflow is run

Expose no options
 Expose all options
 Expose some options

Optionally label exposed options as: Access exposed options via button

Expose: With Alternative Label:

All Operation Options (those not exposed to workflow user and default values for options that are exposed)

Data

Dissolve contigs and re-assemble

Assemble by: part of name, separated by

Assemble each sequence list separately Assemble each paired read separately

Use % of data. Suitable for genome size between 0 KB and 0 KB.

Method

Assembler:

Not sure which assembler to use? [Let us help!](#)

Sensitivity:

Memory Required: 84 MB of 13 GB

Note: Paired reads can be set up or changed using [Sequence > Set Paired Reads](#)

Trim Before Assembly

Use existing trim regions
 Remove existing trim regions from sequences
 Re-trim sequences
 Do not trim (discard trim annotations)

Results

Assembly Name

Save assembly report
 Save list of unused reads
 Save in sub-folder
 Save contigs (Maximum)
 Save consensus sequences

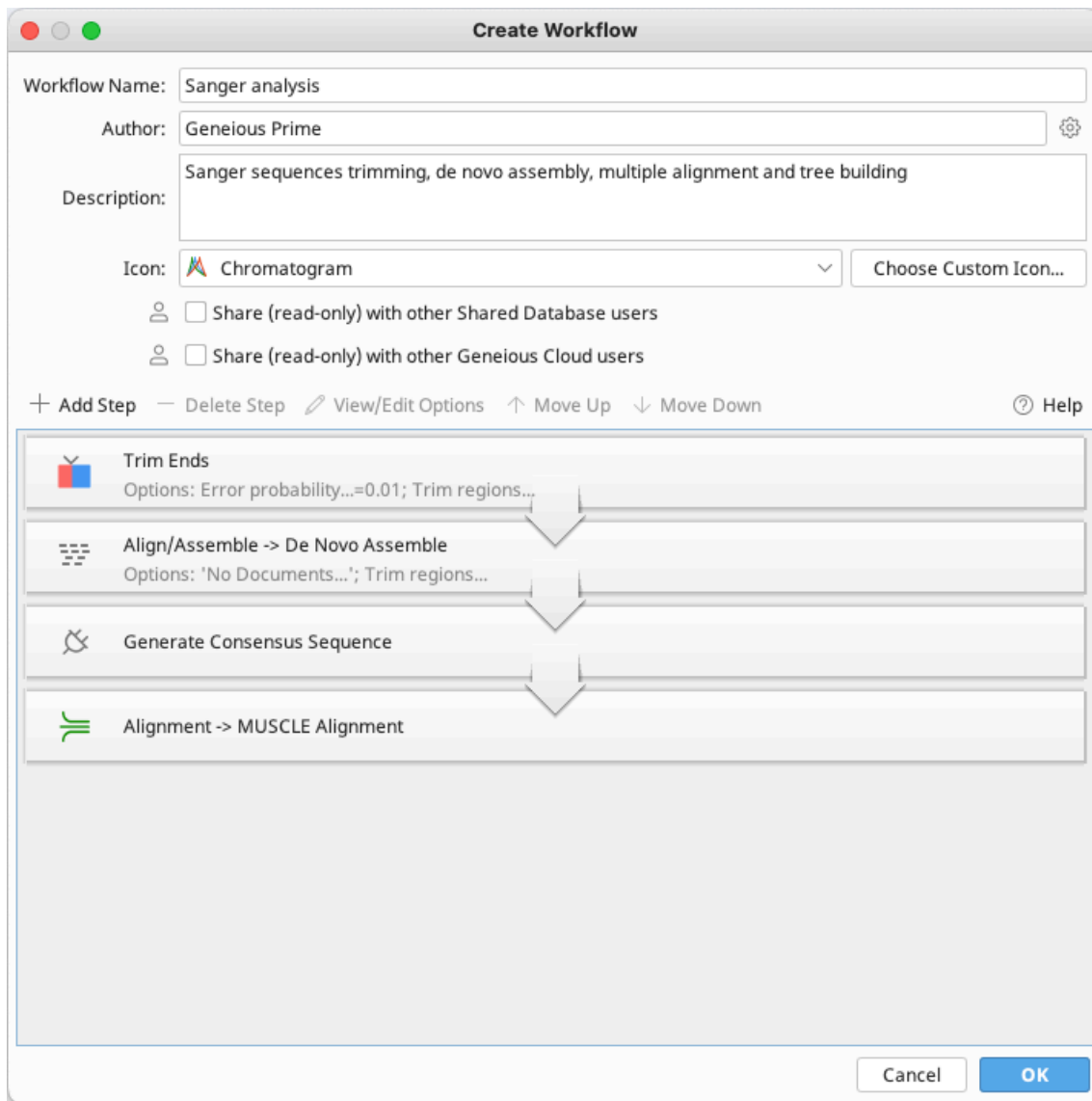
この設定では、ファイル名のダッシュ(ハイフン)の前に同じ文字列を持つクロマトグラムを 1 つのコンティグにアセンブルしますので、今回の例では、トリミングされた領域を除く各サンプルのフォワードリードとリバースリードをそれぞれアセンブルしてコンティグをアウトプットします。

もし、この段階で複数のアウトプット(例えばコンティグとコンセンサスシーケンスなど)を設定した場合には、次の解析ステップには、フィルタリングオプション(Add step → Filter documents)などを使用して、解析に使用するアウトプットを指定する必要がありますのでご注意ください。

同様に、

- Generate Consensus Sequence
- Alignment → MUSCLE Alignment

の 2 つの操作を追加します。この例ではオプションはデフォルトのままです。



最後のステップとして、ワークフローに以下を追加します。

– TreeBuilding → Geneious Tree Builder (nucleotide)

ワークフローの動作時に、系統樹の構築方法(Neighbor-Joining または UPGMA)を変更するオプションを変更できるようにするため、Expose some options を選択し、Tree building Method オプションを設定します。

次回はワークフローを完成させ、動作を確認する流れについてご紹介します。

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 で猫も杓子もシークエンス解析』過去の記事は[こちらでチェック!](#)