



最初に覚えない基本操作

チュートリアル



チュートリアル

最初に覚えない基本操作

2020年1月
株式会社 キアゲン

— Sample to Insight —

QIAGEN Aarhus • Silkeborgvej 2 • Prismet • 8000 Aarhus C • Denmark

Telephone: +45 70 22 32 44 • www.qiagenbioinformatics.com • ts-bioinformatics@qiagen.com

QIAGEN K.K. Forrefront Tower II 3-13-1 Kachidoki Chuo-ku Tokyo 104-0054 Japan

目次

1. 画面構成 1

2. DNA配列の表示 1

- 2-1. サンプルデータのダウンロード 1
- 2-2. ズームアウト 3
- 2-3. 複数のウインドウでの表示 3
- 2-4. 注釈情報のフォントを小さくして配列の表示領域を拡大する 7
- 2-5. 新規フォルダの作成 8

3. 解析ツールの実行 9

- 3-1. Launch による起動 9
- 3-2. 入力配列リストの作成 10
- 3-3. 結果の出力方法の選択 12

4. サイドパネルによる表示方法の設定 15

- 4-1. 配列を改行させない1段による表示 15
- 4-2. 注釈文字の表示形式の変更 17
- 4-3. グラディエントによる保存性の表示 18
- 4-4. 設定の保存 20
- 4-5. 保存された設定の呼び出し 21

最初に覚えない基本操作

1. 画面構成

このチュートリアルでは CLC Workbench の基本的な使い方をひと通り学習します。以下の図 1 に起動時の Workbench の画面構成（ユーザーインターフェース）を示します。

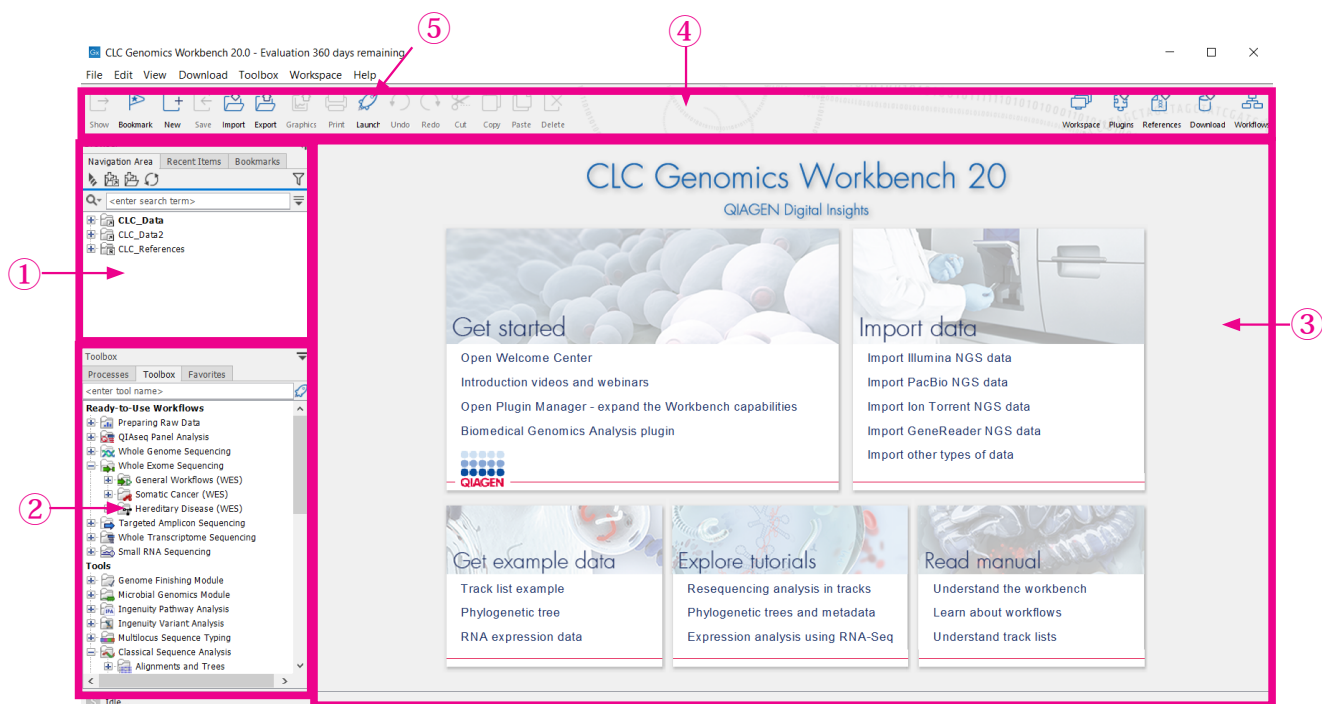


図1 最初の起動時に表示される画面

CLC Genomics Workbench の画面構成において重要なのは、ナビゲーション領域 (Navigation Area ①)、ツールボックス (Toolbox ②)、表示領域 (View Area ③) です。

ナビゲーション領域には使用される全てのデータが置かれます。CLC Genomics Workbench 起動時には CLC_Data というユーザーのデータ保存領域がナビゲーション領域に生成されます。これはロケーションと呼ばれます。ロケーションは Workbench で使用するデータが存在する PC 内のフォルダーに相当し、ロケーション内にフォルダを作成してデータを整理して保管します。ほとんどの解析ツールはツールボックス (図 1 ②) にあります。各ツールを起動するには相当するツールボックスをダブルクリックするか、ツールバー (Toolbar ④) の起動ボタン (Launch button ⑤) からキーワードを入力して目的のツールを検索して起動します。ツールボックス (②) には無い "保存 (Save)", "インポート (Import)", "エクスポート (Export)" 等はツールバー (④) にあります。表示領域 (③) はデータが視覚化され表示される領域です。複数の解析結果がある場合、表示領域をタブで複数のページに分けて表示したり、1 ページを複数に分割して表示することができます。

2. DNA 配列の表示

この章では配列を様々な形式で表示する方法を説明します。配列をズームインする、タブをドラッグする、new view/open selection から表示する方法等です。

2-1. サンプルデータのダウンロード

まず練習用に以下の手順で Cloning フォルダーに pcDNA3-atp8a1 という配列をダウンロードしましょう。
[Help] メニュー → [Import Example Data] を選択し (図 2 ①)、確認画面で Yes をクリックする (図 2 ②) とチュートリアルで使用するサンプルセットのダウンロードが開始します。ダウンロードの進行状況はツールボックスの Process タブに表示されます (図 2 ③)。ダウンロード完了後ナビゲーション領域の Example Data → Cloning フォ

最初に覚えない基本操作

ルダーにある配列 pcDNA3-atp8a1 (図 2 ④) をダブルクリックして開けます。配列と注釈情報が図 3 のように表示されます。

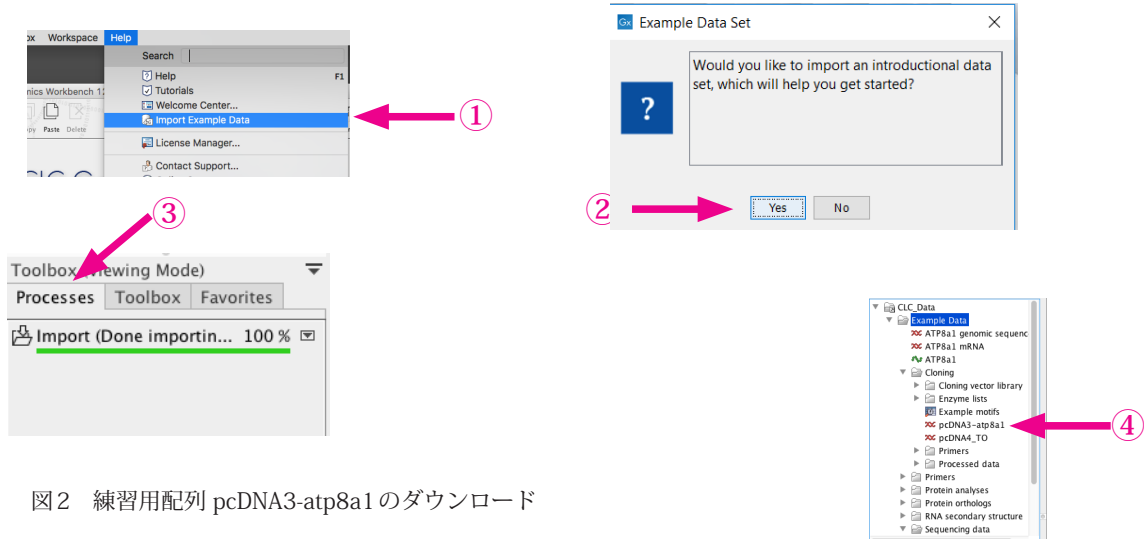


図 2 練習用配列 pcDNA3-atp8a1 のダウンロード

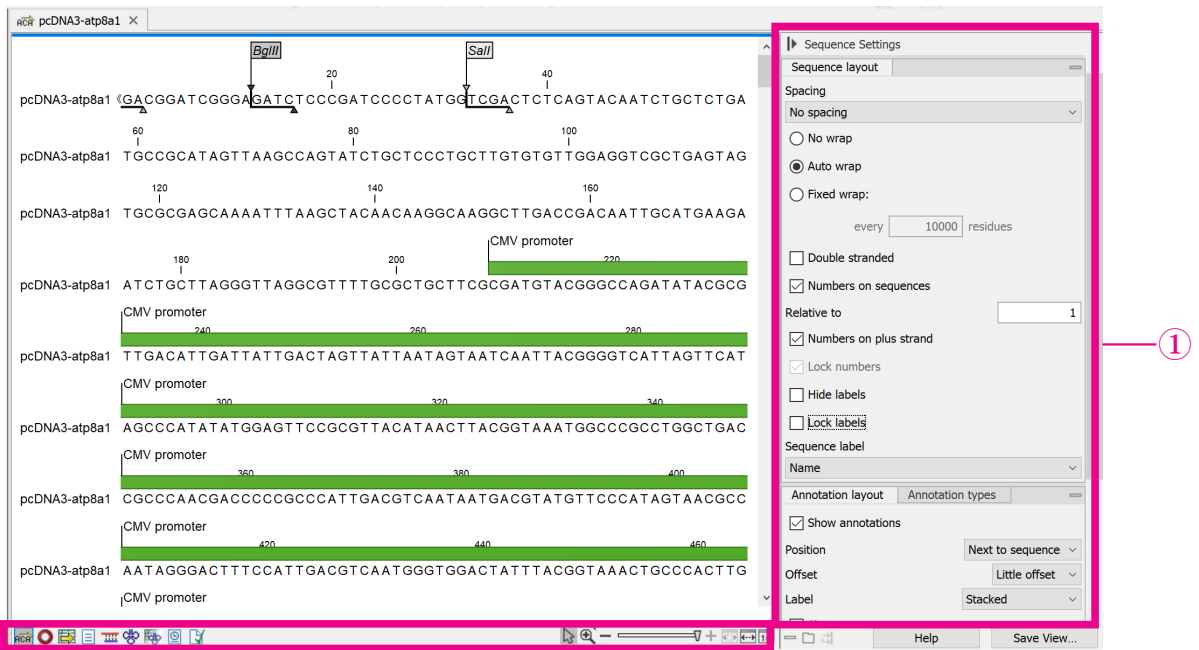


図 3 pcDNA3-atp8a1 を開いて View に表示された状態

デフォルトの設定として、注釈情報の付いた(この例ではCMVプロモーター領域が緑の矢印で表示されている)状態で配列が表示され、1塩基まで区別できるまで最大限に拡大表示(ズームイン)した状態で表示します。右側には配列の表示を変更する Sequence Setting パネル(図 3 ①)があります(詳細は後ほどご学習します)。下側には新たなツールバーが現れます(図 3 ②)。

2-2. ズームアウト

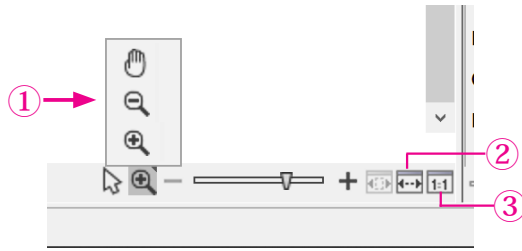



図4 下部のツールバーにあるズーム関連ツール

ここでズームアウトして配列の全体を見てみます。ズームアウトするにはいくつかの方法があります。ツールバーの拡大鏡のアイコンを右クリックし、ズームアウトモード(マイナス)のアイコン(図4 ①)を選択します。

このマイナス拡大鏡で配列全体が見えるまで配列の上をクリックしてクリックし続けます。

また、"選択範囲までズーム"アイコン(図4 ②)により1クリックで同じ操作が完了でき図5の状態になります。

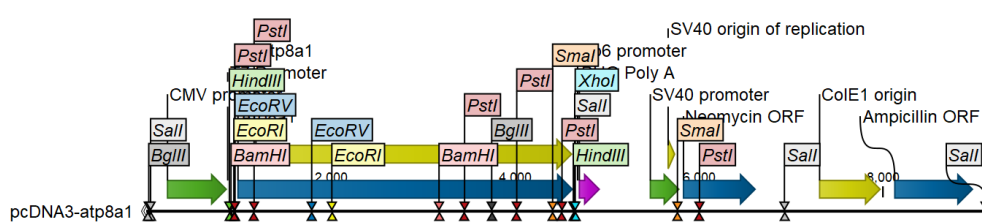
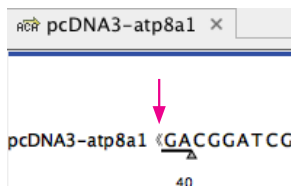


図5 pcDNA3-atp8a1 の全体が表示できるまでズームアウトした状態

反対に"塩基レベルまでズームイン"アイコン(図4 ③)により1塩基まで確認できる最大のズームイン状態に1クリックで戻れます(戻った状態が図3)。

2-3. 複数のウィンドウでの表示

この配列は下図に示すように最初に "<<" 最後に ">>" がありますが、



pcDNA3-atp8a1 の第1塩基の前にある "<<"



pcDNA3-atp8a1 の最終塩基の前にある ">>"

これはこの配列が環状になることを示します。表示エリアの下部にある環状化ツール (下図①)



をクリックすると配列が環状に表示されます。その左にあるACAアイコン(上図②)をクリックすると直線状の配列に戻る。またコントロール(Mac コマンド ⌘)を押しながらこれらのアイコンをクリックすると表示領域が分割され、直線状と環状双方の状態を別々のウィンドウで上下に並べて見ることができます(図6)。

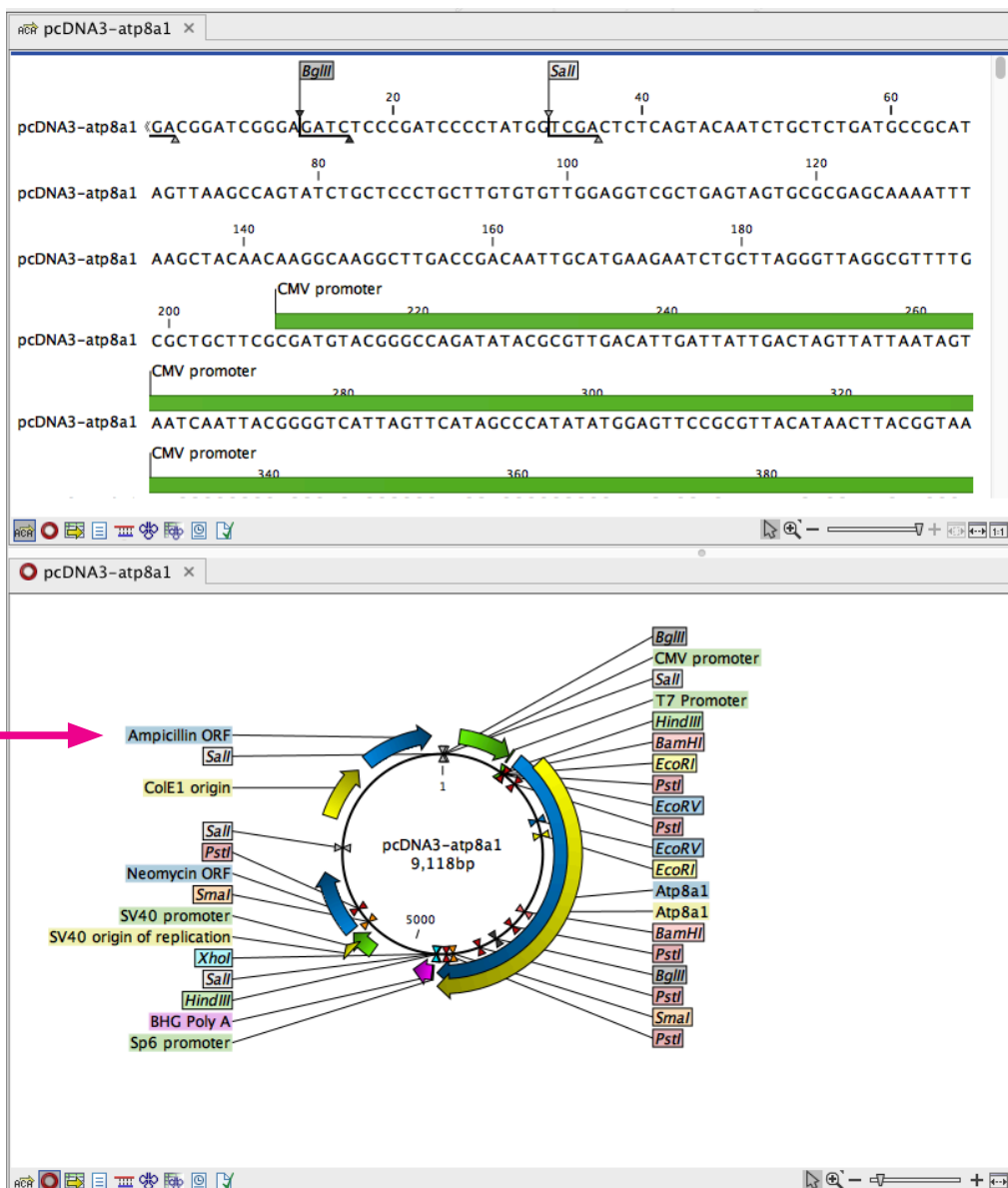
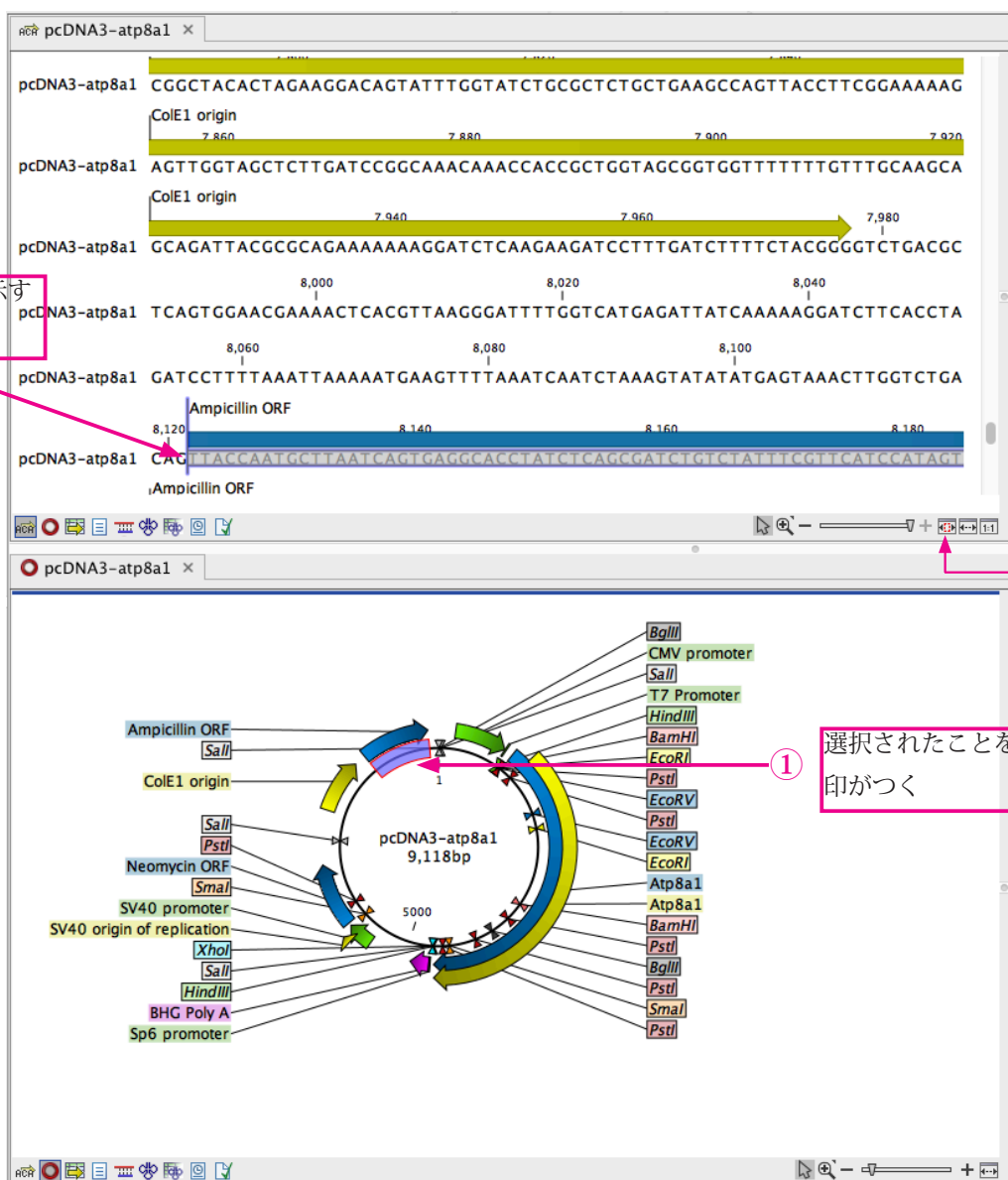


図6 一つの配列を環状、直鎖状の表示を縦に並べて表示。

図6から環状表示の Ampicilin ORF (図6 ①) にカーソルをあわせてダブルクリックし、Ampicilin ORF 全体を選択することができます。すると選択されたことを示すバーが表示されます (図7 ①)。



② 選択されたことを示す印がつく

① 選択されたことを示す印がつく

図7 環状、直鎖状の表示の2つの表示はリンクしていて、例えば環状配列で Ampicillin ORF 領域の配列を選択する①と直鎖状の表示でも相当領域が選択されます②。

環状配列の Ampicillin ORF 領域を選択した状態で直鎖上の選択領域表示アイコン (図7③) をクリックすると選択領域 (Ampicillin ORF 領域) だけが表示されます (図8)。

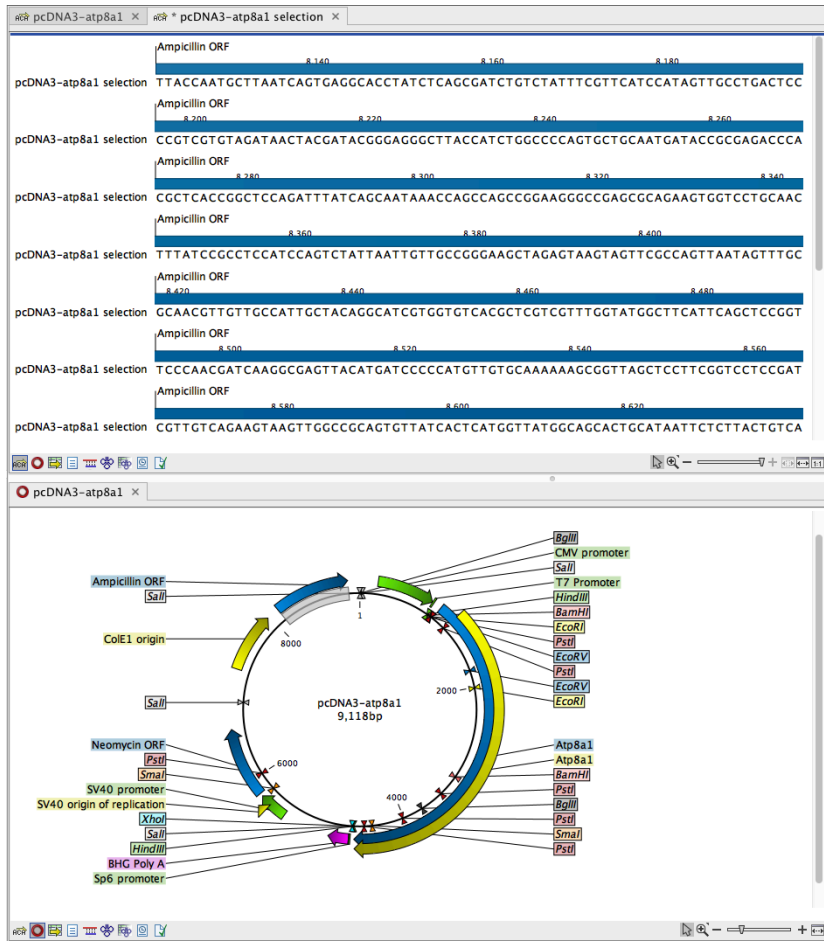


図8 選択された領域(Ampicillin ORF)の配列だけを別ウインドウ(上部)に直鎖状に表示

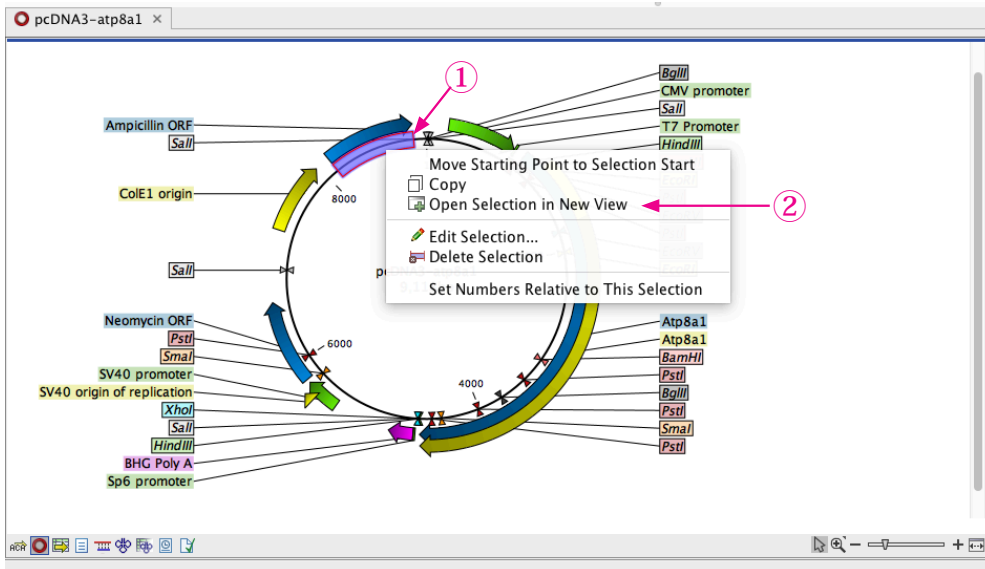


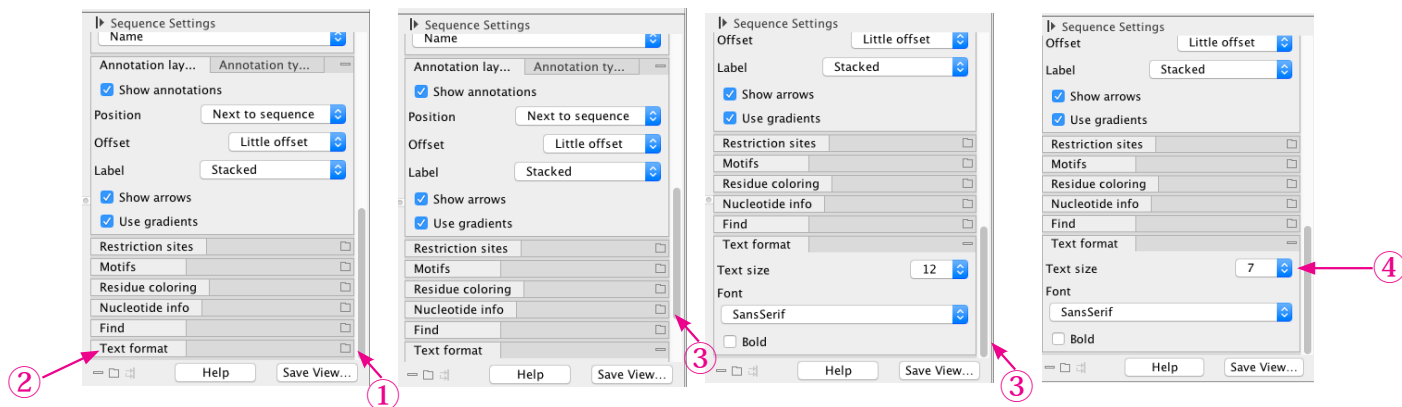
図9 選択された領域の配列の表示のもう一つの方法

同様の操作は選択された領域下にできるバー ①にカーソルを置き、右クリックから "Open Selection in New View" ②を選択することによっても可能で別ウインドウに相当領域の配列が表示される (図9)。

最初に覚えない基本操作

2-4. 注釈情報のフォントを小さくして配列の表示領域を拡大する

上段の直鎖状の配列の文字を小さくするともっと広い領域を見ることができます。上段直鎖状配列が表示されている右側の Sequence Settings を下までスクロールし(①)、Text format の設定タブをクリックし(②)、更に一番下までスクロールし(③)、Text size を小さく(例えば 7)します(④)。フォントが小さくなり、広い領域が見られるようになります(図10)。



右側のスクロールバーで下までスクロールし Text format タブをクリック

スクロールバーが上がるので一番下までスクロール

フォントの設定が表示される。

Text size を小さくする。



図10 フォントを小さくして広範囲を表示できるようにする。

最初に覚えない基本操作

2-5. 新規フォルダの作成

このチュートリアルで使用するデータをダウンロードすると CLC_Data の下に Example Data というフォルダが自動的に生成され、その下にダウンロードされるが、実際の解析を行う場合は CLC_Data 下に以下の手順でフォルダを作成してその下にデータ、結果を保存します。

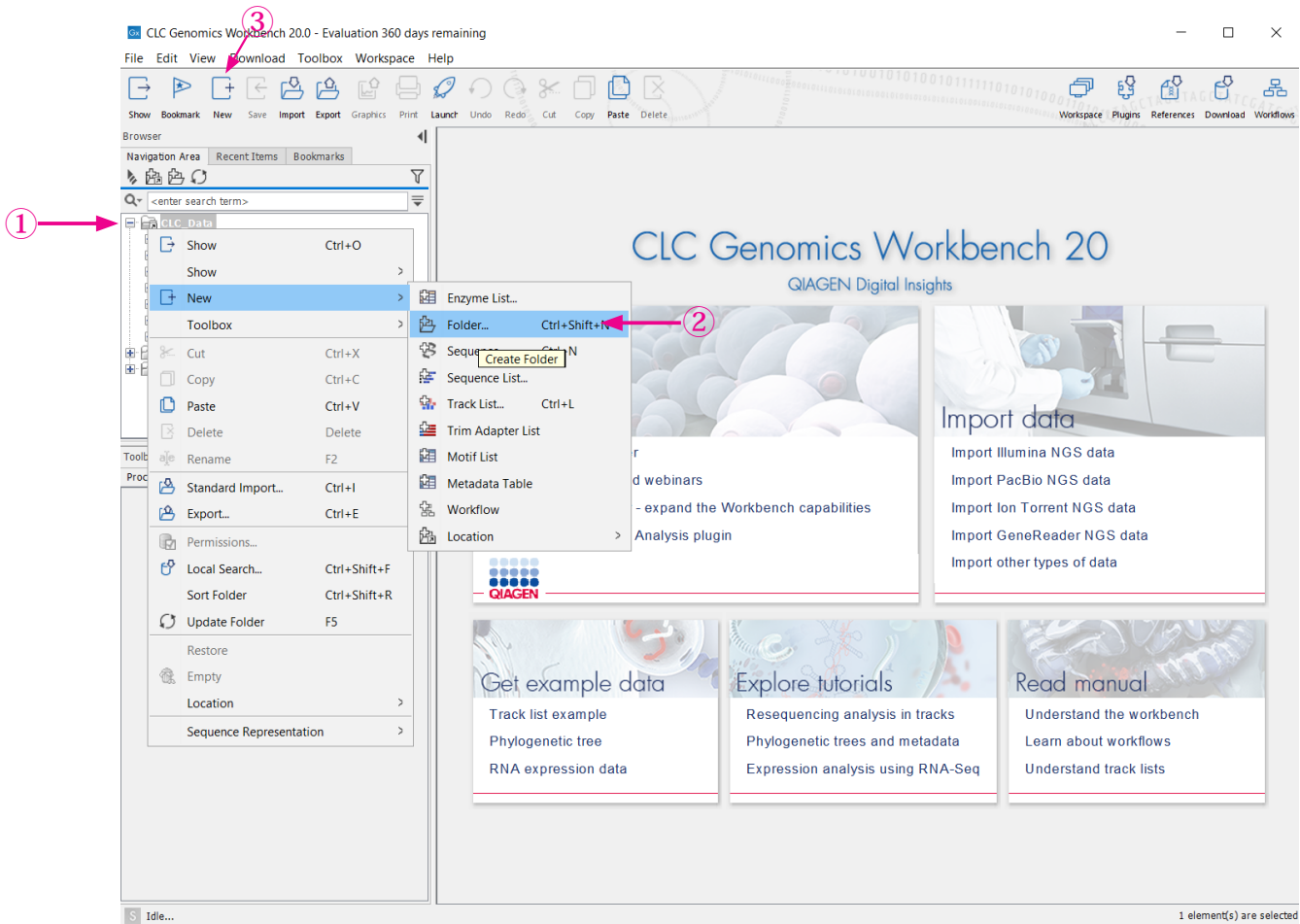


図 11 新規フォルダの作成

CLC_Data ①にカーソルをあわせて右クリックし、New -> Folder ②を選択し、作成するフォルダ名を入力し、OK すると CLC_Data 下に指定した名前のフォルダが作成されます。また、CLC_Data にカーソルをあわせてツールバーの New ③をクリックしても同様にフォルダを作成できます。

3. 解析ツールの実行

チュートリアル

3-1. Launch による起動

この章では解析ツールの使い方を説明します。例としてアライメント作成ツール (Create Alignment tool, 図 12) を実行してみます。ツールバーの Launch をクリックします①。

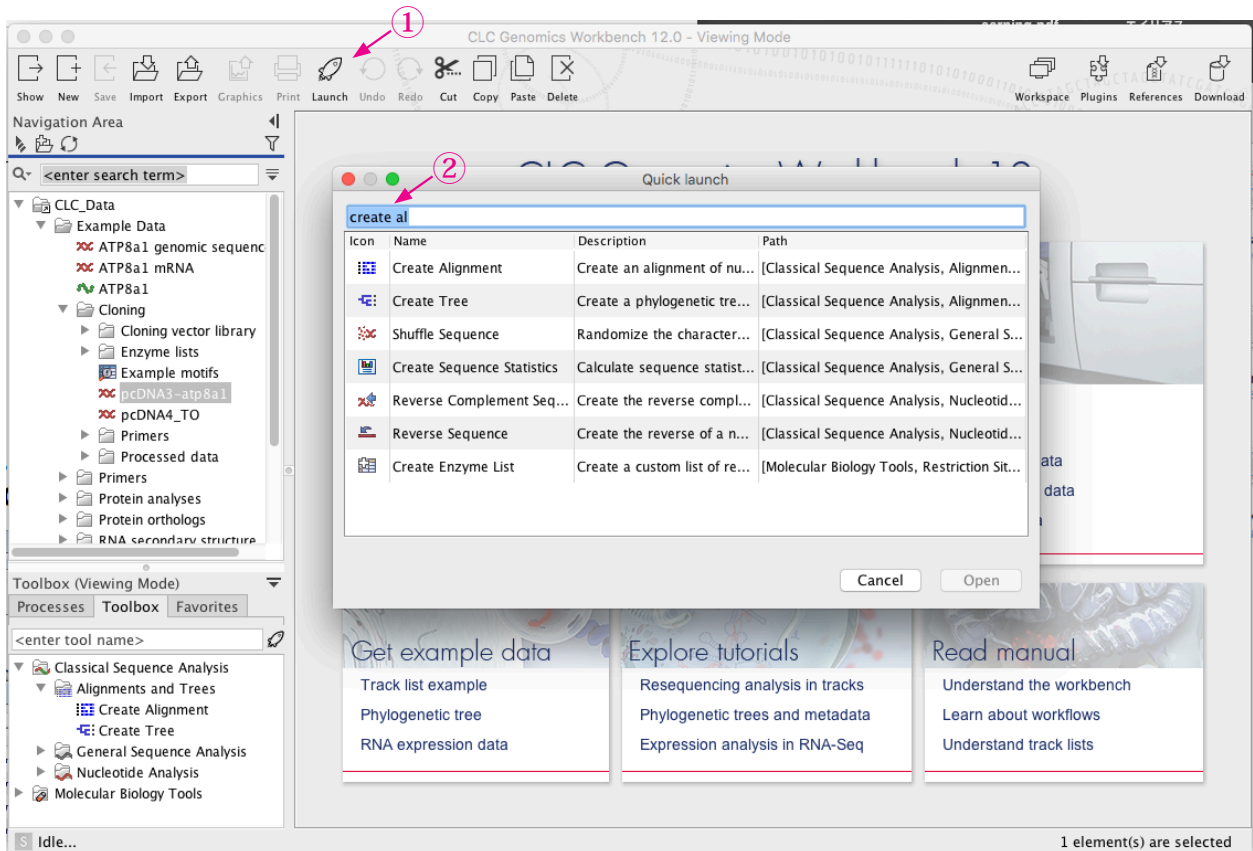


図 12 Create alignment の起動

図 12 のようにポップアップウィンドウが現れたら、上部の検索ウィンドウに create alignment と入力します②。全部入力しなくてもある程度入力すれば目的の Create Alignment がリストに現れます。そして 図 13 のように Create Alignment を選択して③ Open します④。

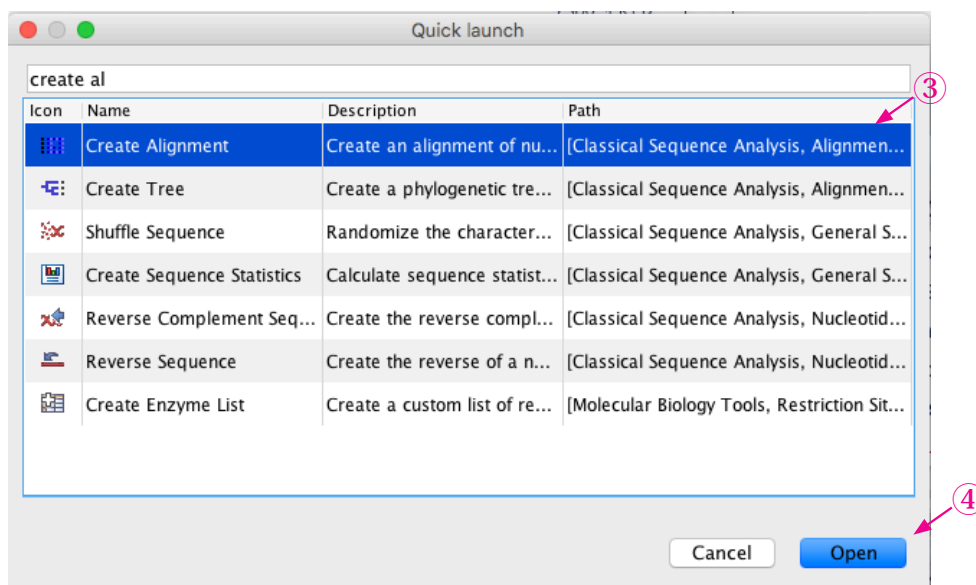


図 13 Create alignment の起動 2

3-2. 入力配列リストの作成

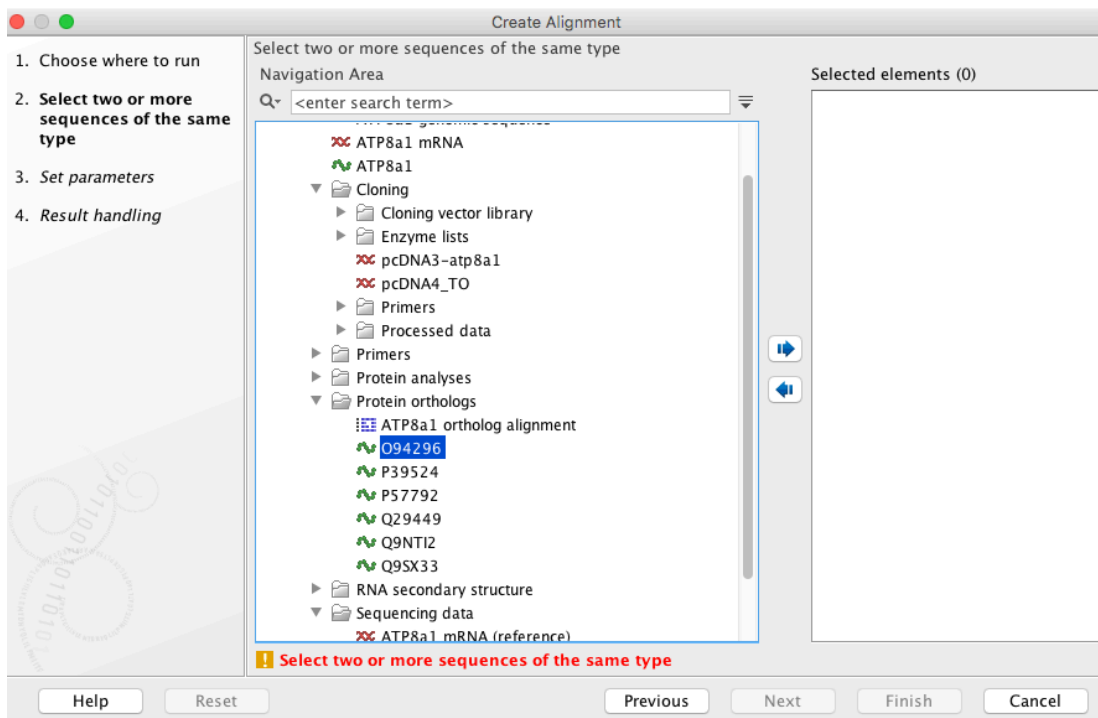


図14 配列の選択1

Protein orthologs フォルダを展開し、一番上の配列 (O94296) を選択します。

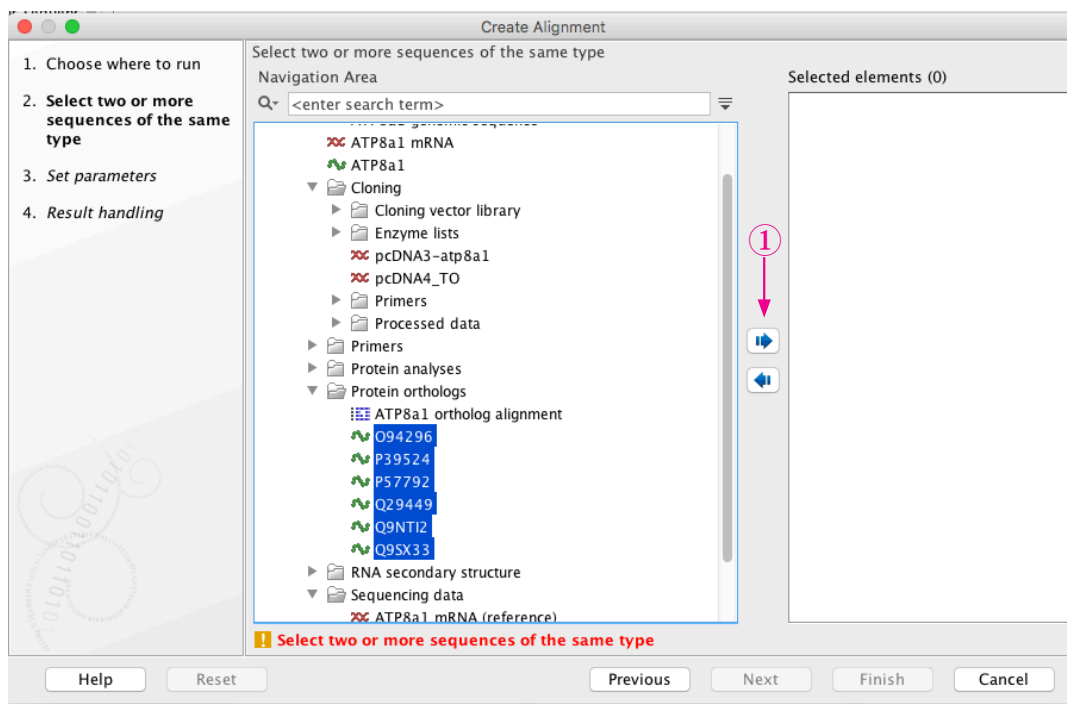


図15 配列の選択2

続いてシフトキーを押しながら一番下の配列 (Q9SX33) を選択すると 6 つの配列が全て選択される。その後右矢印①をクリックして "Selected elements" のリストにこれらの配列を追加します。

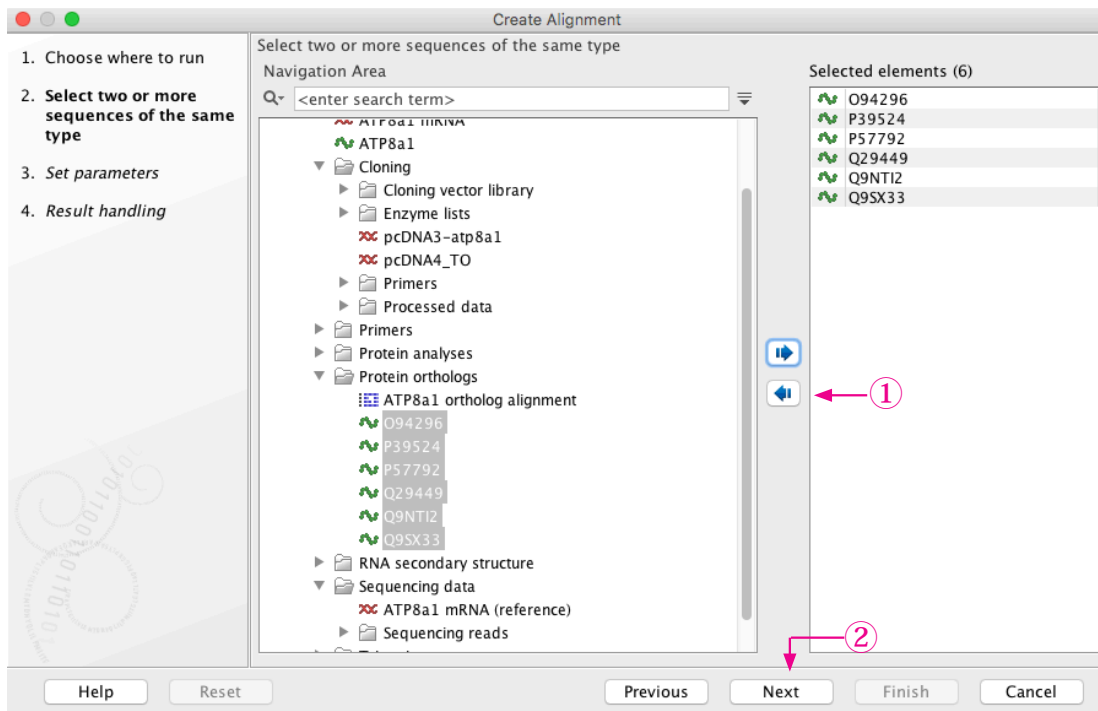


図16 配列の選択3

解析を行う配列の選択が完了。この段階で Selected elements に不要な配列がある時はその配列を選択して左矢印①をクリックして Selected elements のリストから削除する。そして Next ②へ進む。

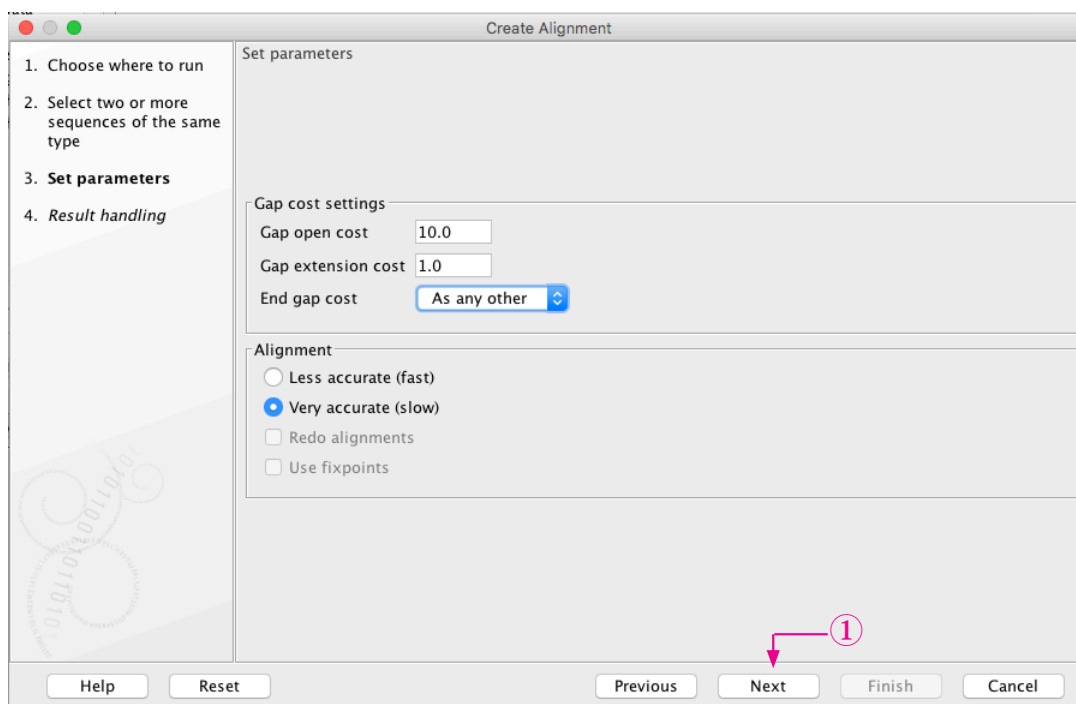


図17 パラメータの設定

ここでパラメーターは全てデフォルトとするのでそのまま Next ①へ。パラメータの詳細は User Manual をご覧ください。

3-3. 結果の出力方法の選択

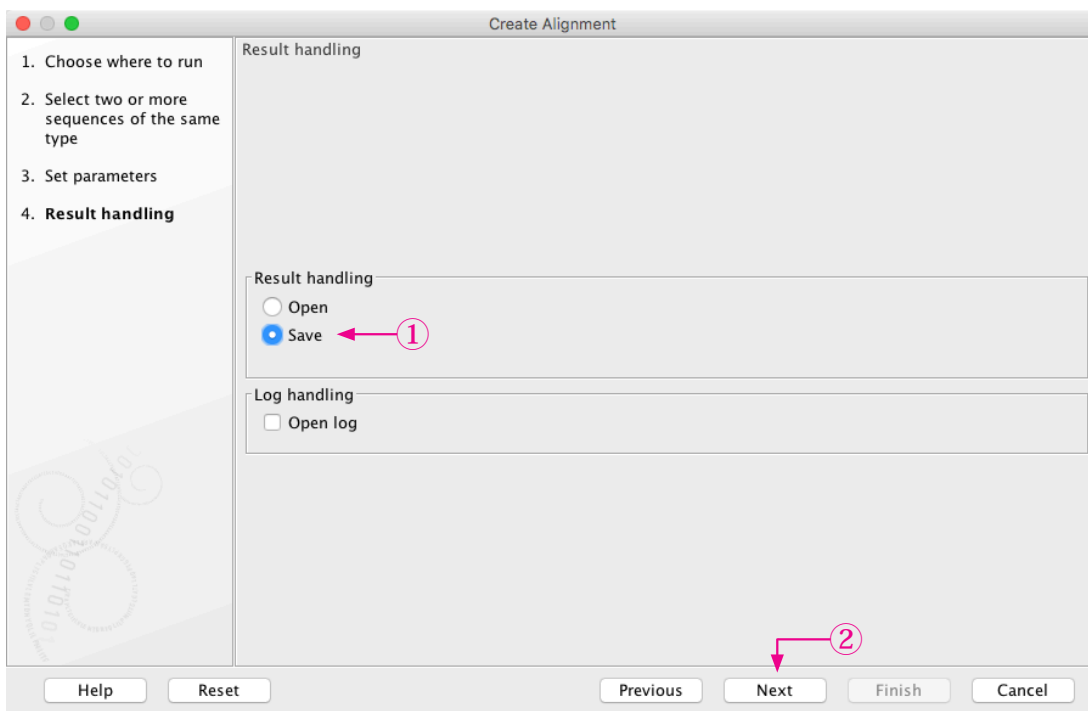


図18 結果の出力方法の選択

解析結果を保存してから見るか (save を選択)、保存する前に表示させて、その後保存するか (open を選択) の選択。ここではまず保存を選択する①。そして Next ②。

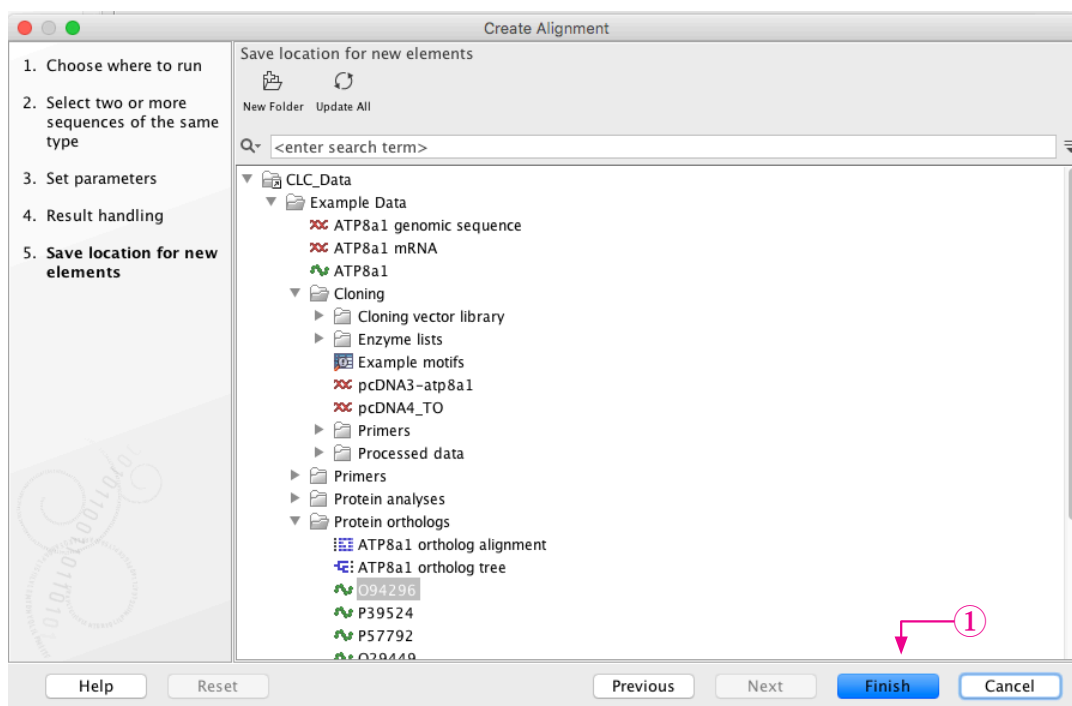


図19 結果の保存

結果を保存するフォルダーを選択し (ここでは選択されている入力の配列と同じフォルダー)、Finish ①で解析が開始する。

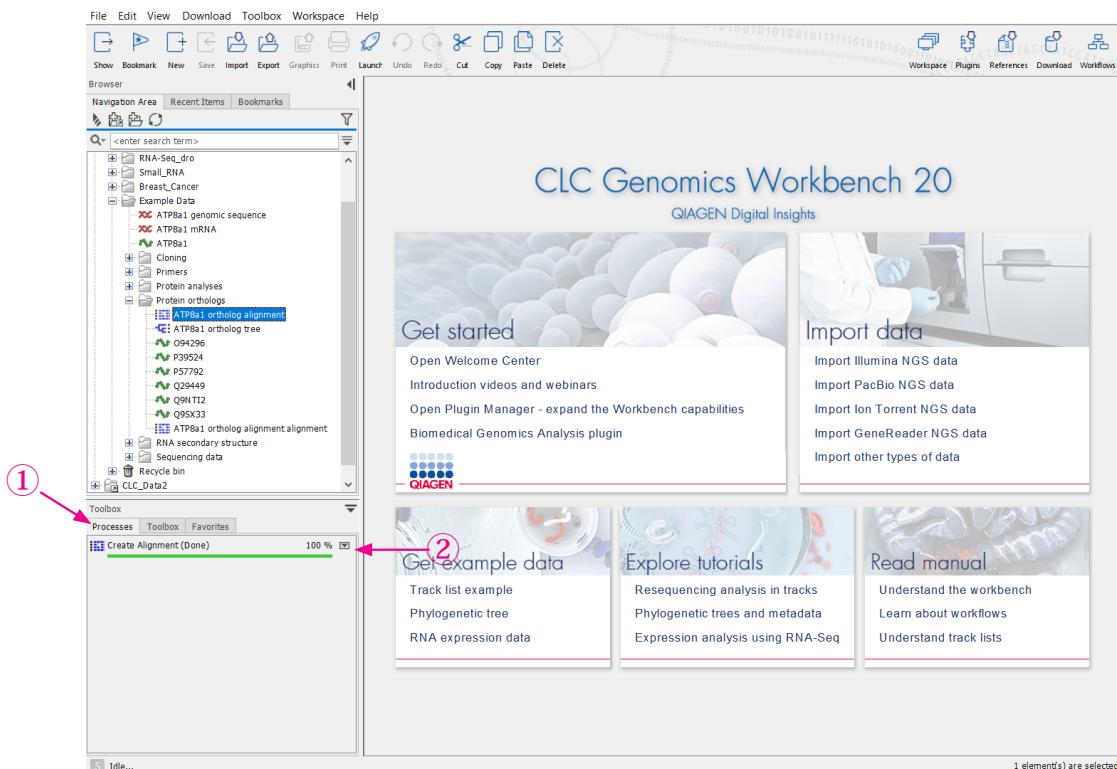


図20 解析の進捗状況の表示

ツールボックスの Process タブ①を表示させると解析の進行状況が表示される。完了すると Done 100% となり、図 19 で指定したフォルダーに結果が保存される。また②を右クリックすると

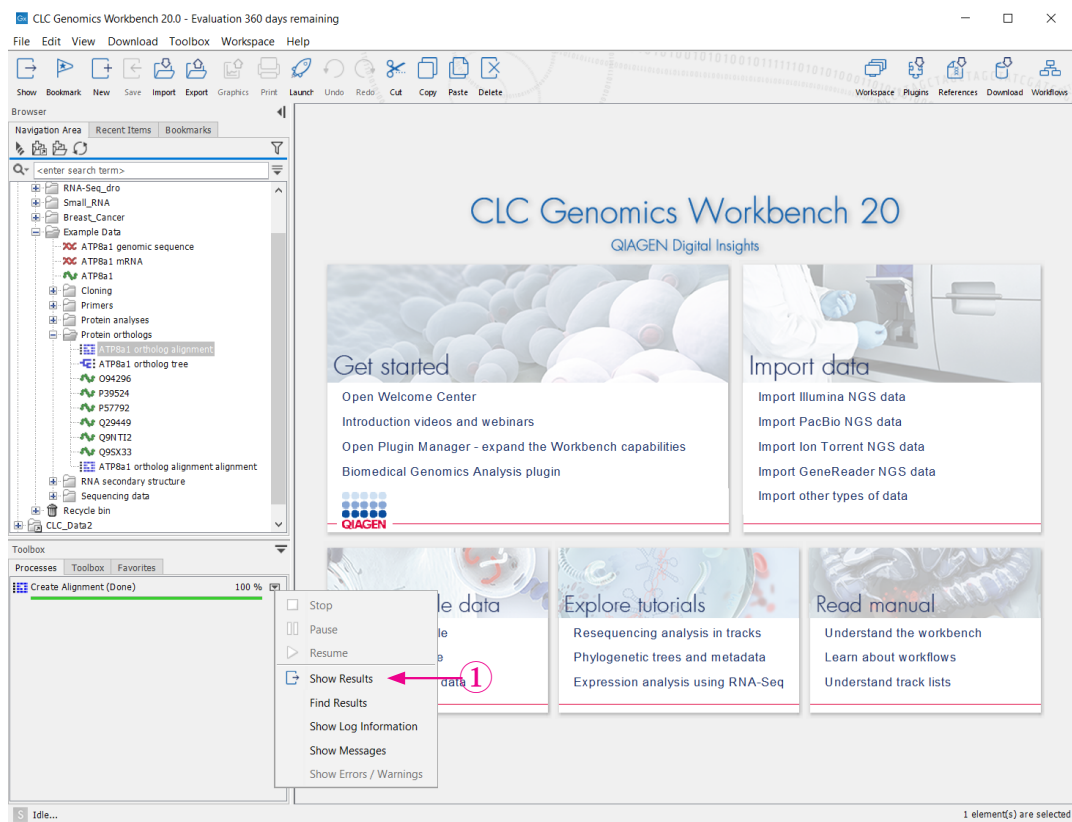


図21 プロセスタブからの結果の表示

このようなメニューが表示され、Show Results ①を選択すると結果が表示されます。結果を保存したフォルダーがわからなくなった時はこのようにしてプロセスタブから探すことができます。

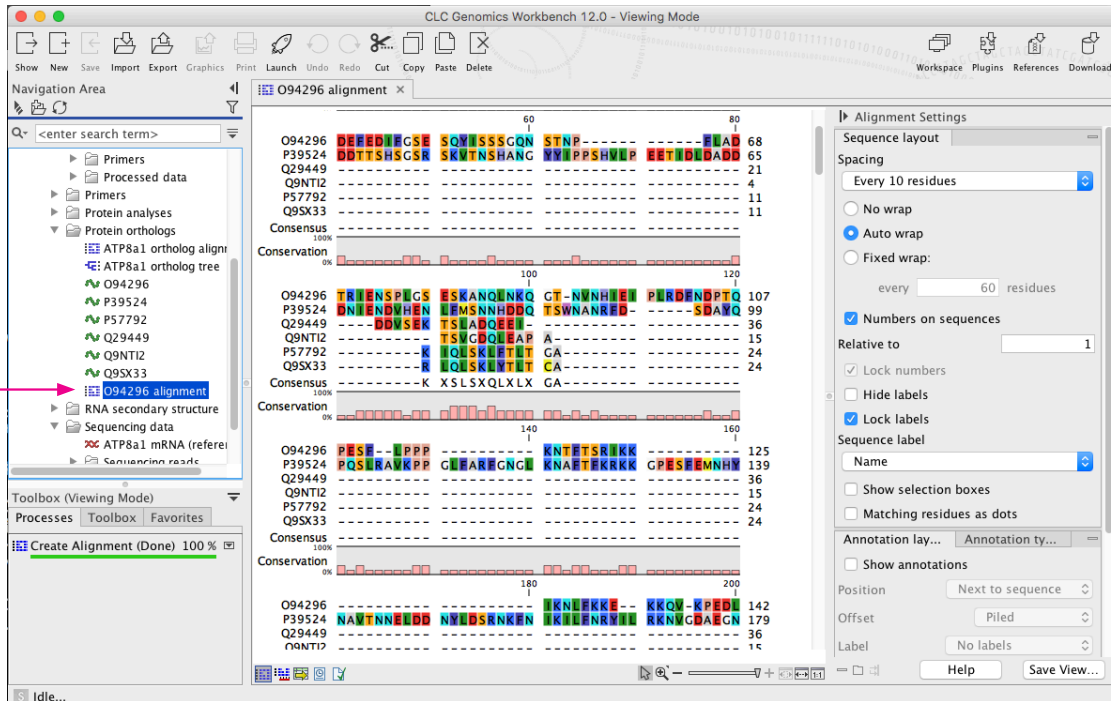


図22 結果のアライメントの表示

図 21 のプロセスタブを使用する方法、あるいは保存したフォルダにある結果のファイル（ここでは O94296 alignment 図 22 ①）をダブルクリックすると表示領域に結果のアライメントが表示される。

4. サイドパネルによる表示方法の設定

この章ではサイドパネルを利用して配列、アライメントおよび関連データの表示の仕方を調整する方法、およびサイドパネルの設定を全てまとめて保存する方法を学びます。

初期設定ではアライメントのアミノ酸残基の背景色は分子立体可視化プログラム Rasmol の色付けの規則に従っています。またアライメントは表示領域のサイズにあうように自動的に調整されています。

The screenshot shows the Rasmol software interface with a protein alignment of O94296 and other sequences. The alignment is displayed in four segments, each with a conservation bar below it. The Alignment Settings panel is open on the right, showing options for sequence layout, spacing, and labels. A red circle with the number 1 is placed over the 'Sequence layout' tab in the panel.

図23 アライメントの表示(図22と同じ)。Rasmolo の規則で色付けられている。

4-1. 配列を改行させない1段による表示

ではサイドパネルを用いて表示を変更してみましょう。図23の右側にサイドパネルがありますが、サイドパネルは機能別にグループ分けされています。そして全てのグループはグループ名のタブをクリックすることで展開、閉じることができます。まず試しに図23の状態から一番上にある Sequence layout のタブ①をクリックすると、図24のようにこのタブが閉じられます。

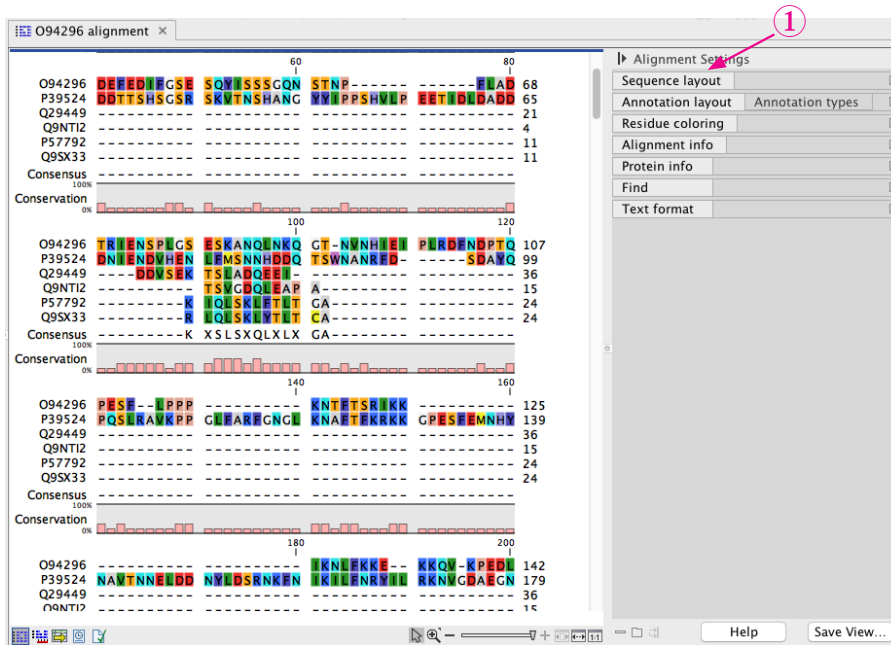


図24 サイドパネルが全て閉じた状態。

再度 Sequence layout タブ 図24 ① をクリックして展開し、no-wrap 図25 ② を選択します。

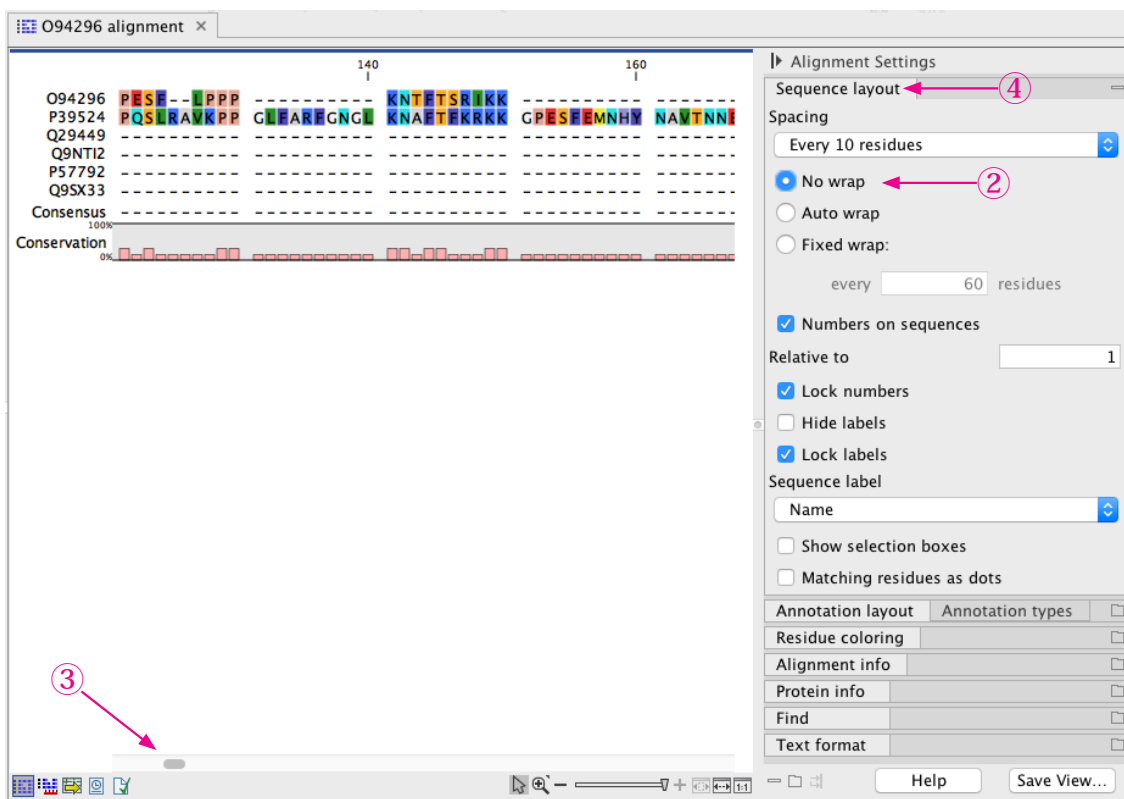


図25 No wrap を選択。

No wrap の状態になると、配列は横一直線になります。右側の表示されていない部分は横スクロールバー③で右へ進むと最後まで表示できます。次の変更を行う前に見やすくするため、Sequence Layout のタブ④をクリックして閉じましょう。図26の状態になります。

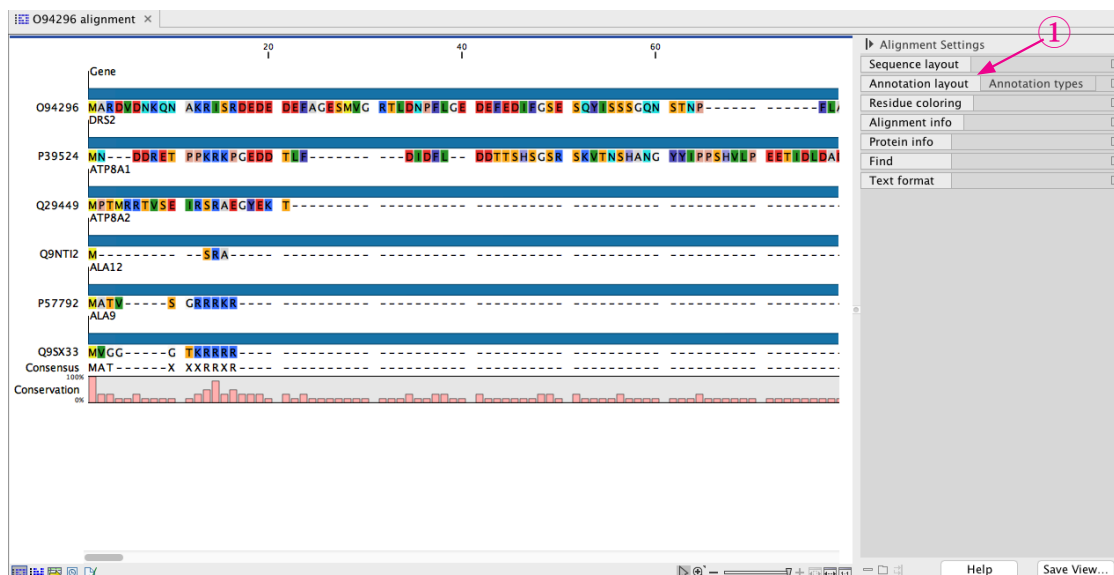


図 26 サイドパネルを再び全て閉じた状態。

4-2. 注釈文字の表示形式の変更

Annotation layout タブ 図 26 ① をクリックして展開します (図 27)。

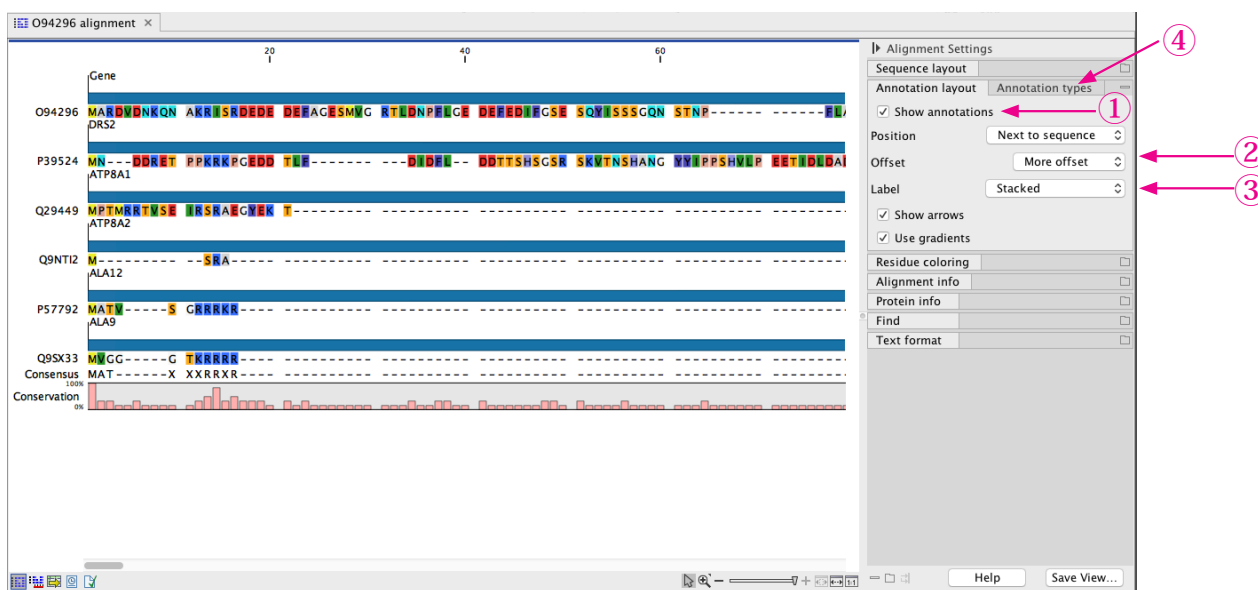


図 27 Annotation Layout の設定

Annotation Layout ではアライメントにつける注釈情報を見やすくするためのいろいろな設定を行います。Show annotations ① を選択し、Offset を More offset ② とし、label を stacked ③ とします。また、これらの設定を他のいろいろな選択しに変えてみてどう変わるか見てみましょう。詳細はマニュアルをご覧ください。

次に Annotation Types ④ をクリックして展開します (図 28)。

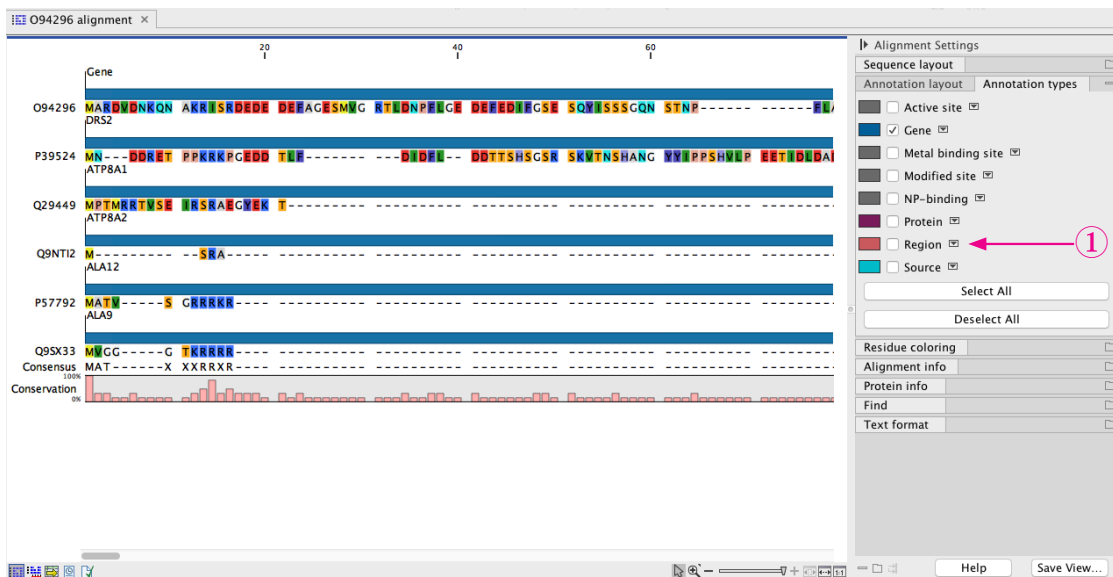


図28 Annotation Type

Region を選択します (図 28 ①)。図 29 のように茶色で Region が表示されます。Region とは膜貫通領域などの何らかの注釈情報のある領域です。

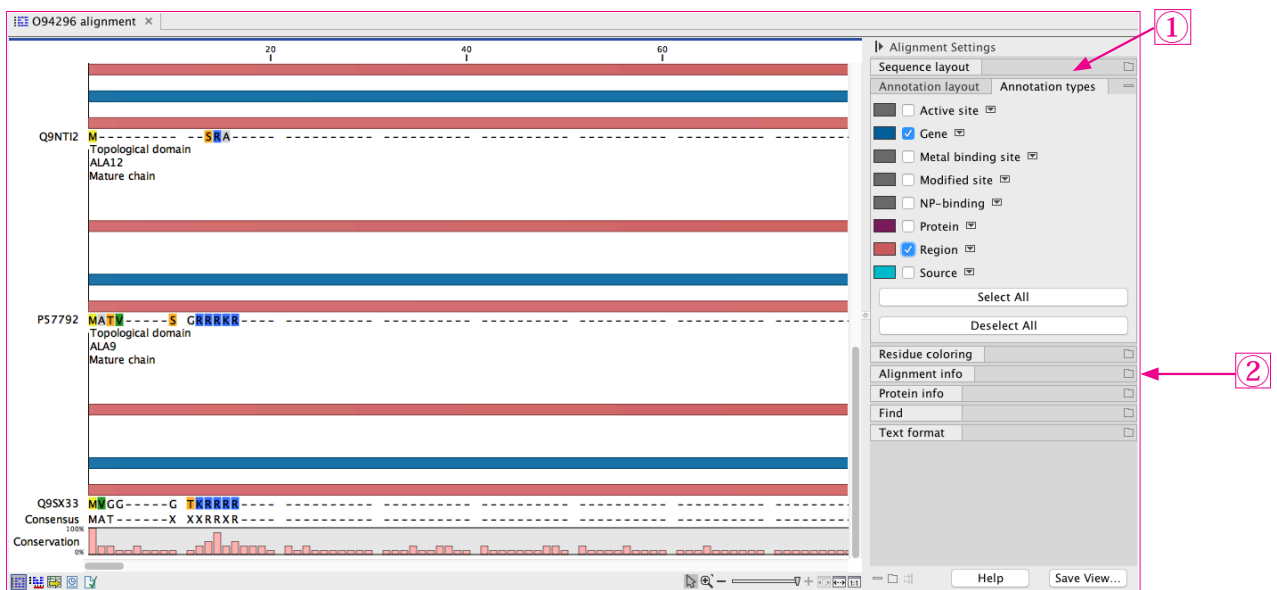


図29 Annotation Type

4-3. グラディエントによる保存性の表示

次にアミノ酸残基 (DNA/RNA の場合は塩基) の色を変えてみましょう。Annotation types を閉じて

① Alignment info ②を開きます (図 30)。

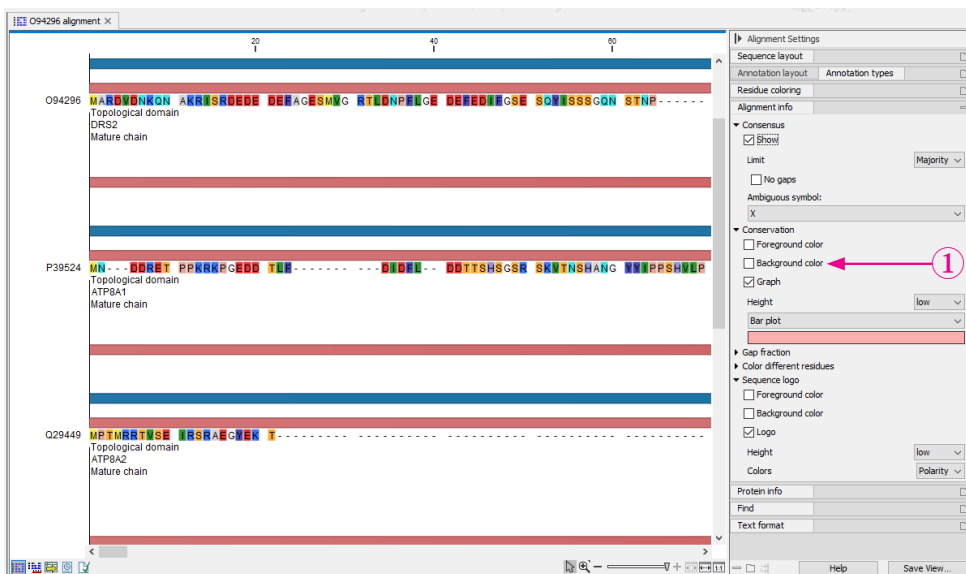


図30 Alignment Info

Alignment Info 中の conservation にある Background color (図30 ①) にチェックを入れます。図31のようにコンセンサス配列の背景色が保存性の程度によりグラディエントで色付けされます。

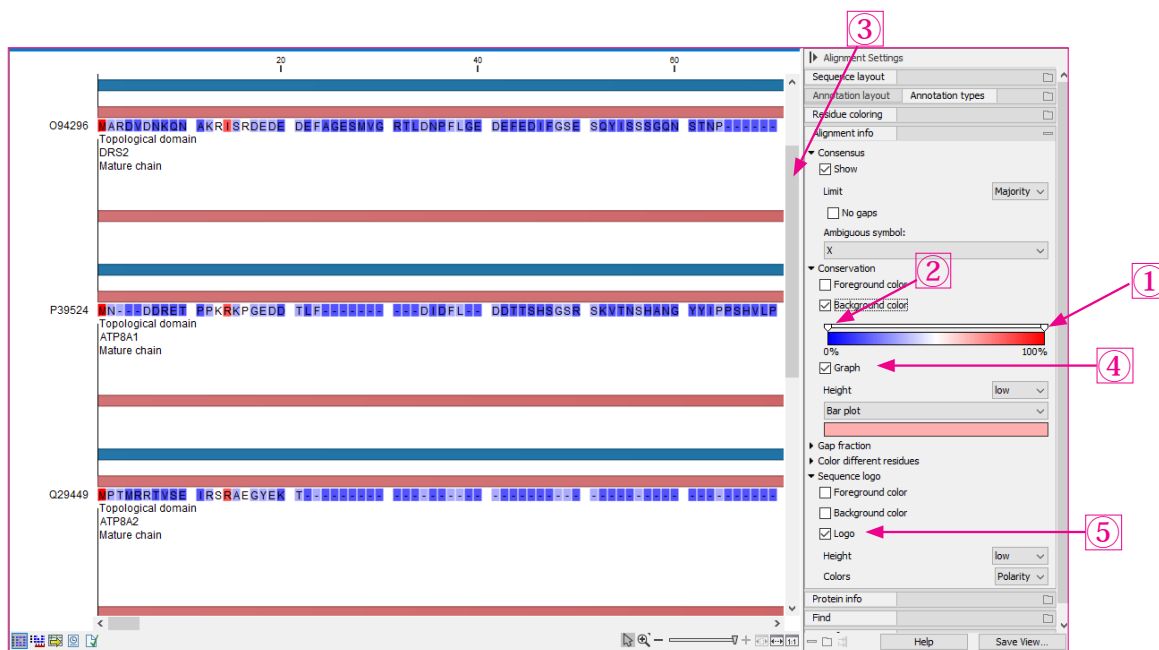


図31 Annotation Info

赤が100%保存、青が全く保存されていない、というグラディエントになっています。グラディエント設定バーの上にある小さな三角印(①, ②)を動かすと色の調整ができます。

縦スクロールバー(③)で一番下までスクロールすると Conservation graph(図32 ①), Sequence logo(図32 ②)が見えるが、色のグラディエントで保存性を表示することにしたのでこれらのチェックを外して消去しておく(Conservation graph 図31 ④, Sequence logo 図31 ⑤)。

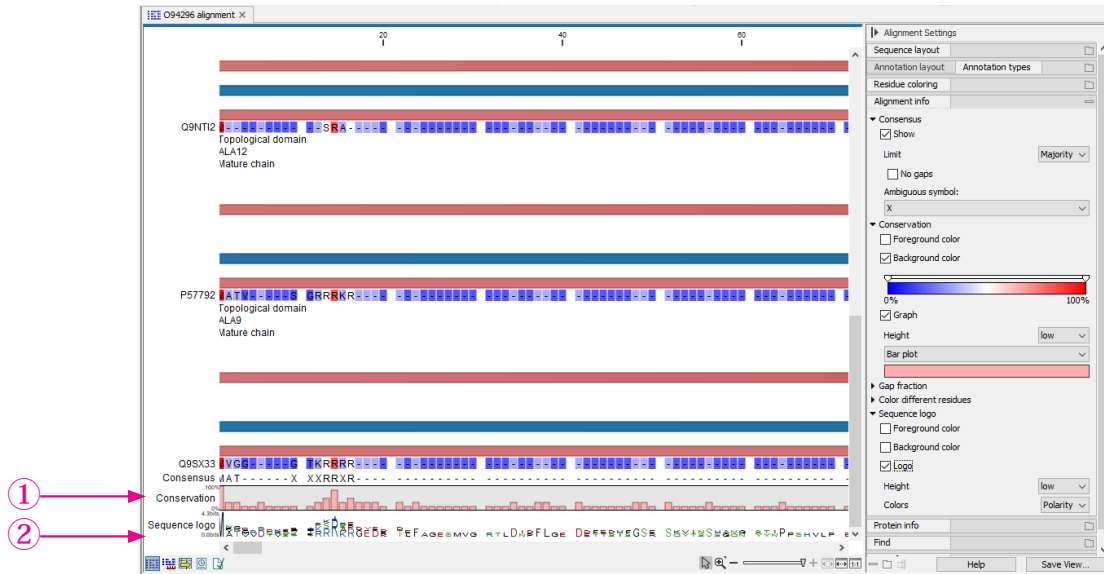


図32 Conservation graph, Sequence logo どちらも保存性の程度を示している。

4-4. 設定の保存

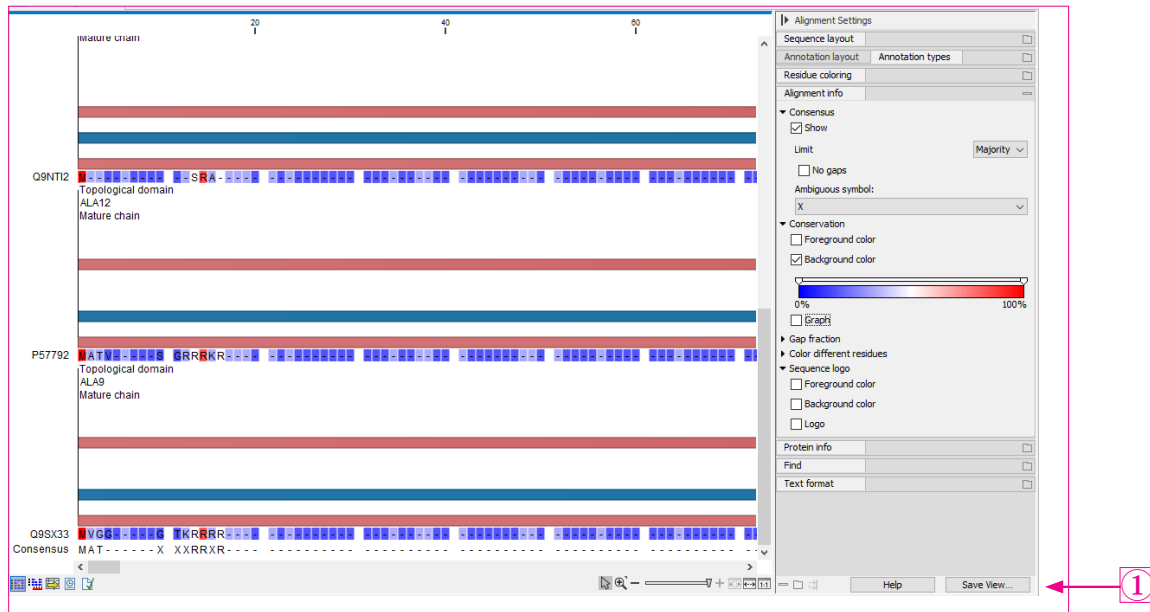


図33 Annotation Info

以上の設定で図 33 のような表示になるが、CLC Genomics Workbench を終了してしまうと設定が消えてしまうので、サイドパネルの右下にある Save View(図 33 ①) をクリックして設定を保存しておきます。

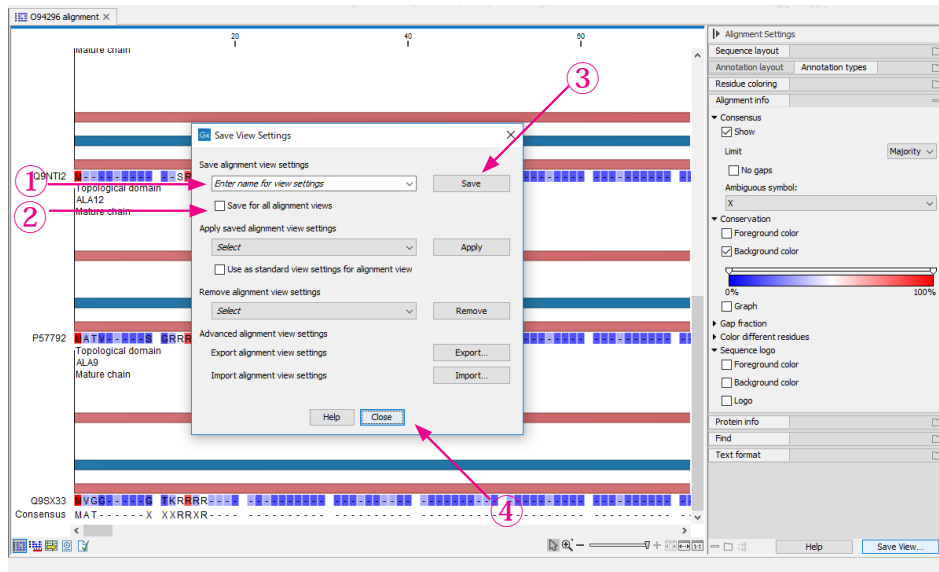


図34 Side Panel の設定の保存

図34のような設定の保存画面が表示されたら設定の名前欄①に適当な名前（この例では "preferred alignment settings" とします）を入力し、Save for all alignment views ②にチェックを入れ、Save ③、Close ④をクリックすると設定の保存が完了します (図35)。

4-5. 保存された設定の呼び出し

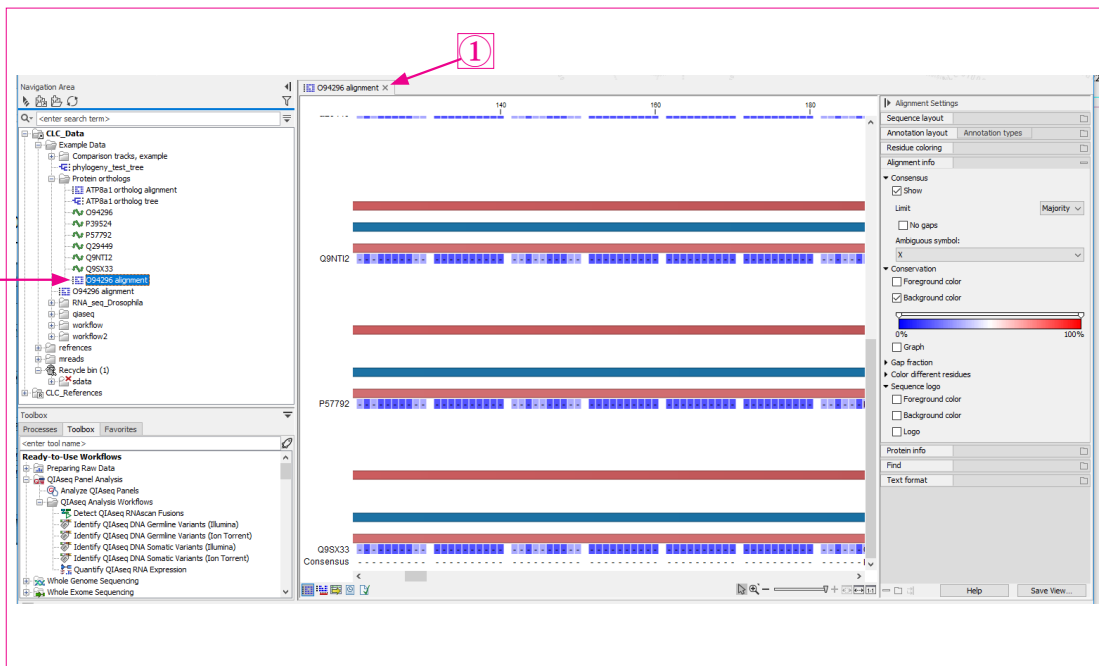


図35 図設定前の状態に戻す

では配列を設定前の状態に戻して保存した設定を適用してみましょう。まず表示されている設定を変更したアライメントを①のXをクリックして消します。次に設定前のアライメント O94296 alignment ②をダブルクリックして標示させます (図36)。



図36 保存された設定の適用

設定前のアライメントが表示されたら再び Save View ①をクリックして Save View Settings 設定画面を表示させる (図 37)。

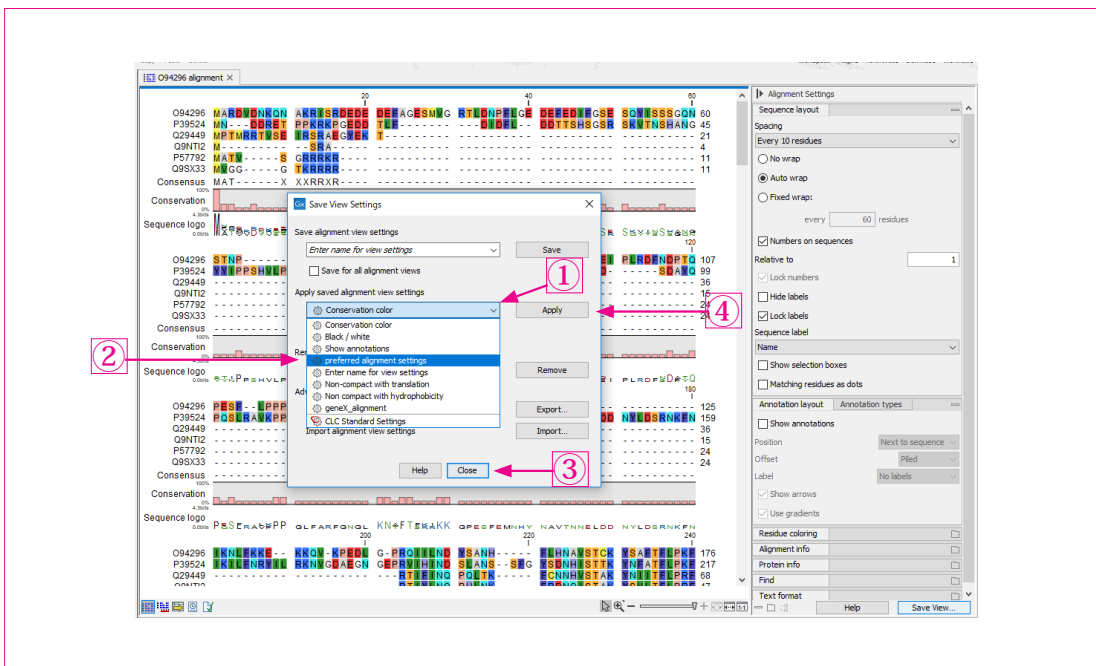


図37 設定前の状態に戻す

Apply saved alignment view settings ①をクリックし、標示された設定リストから先ほど保存した "preferred alignment settings" ②を選択し Apply ③, Close ④をクリックする。

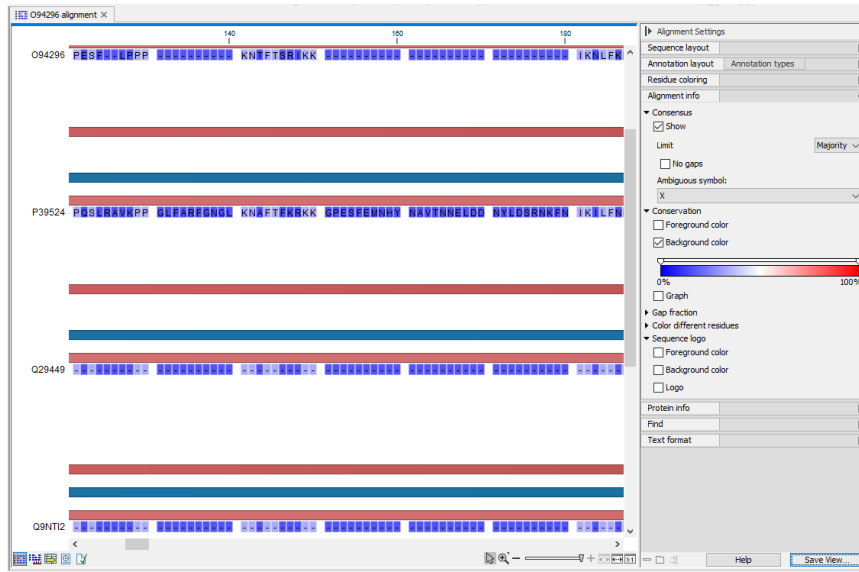


図38 保存された設定が適用されたアライメント

このようにしていろいろな設定を行ってわかりやすい名前をつけておけば常に一定の表示形式で結果を見ることができる。不要になった設定を削除するには、再び Save View ①をクリックして Save View Settings 設定画面を表示させ (図 39)

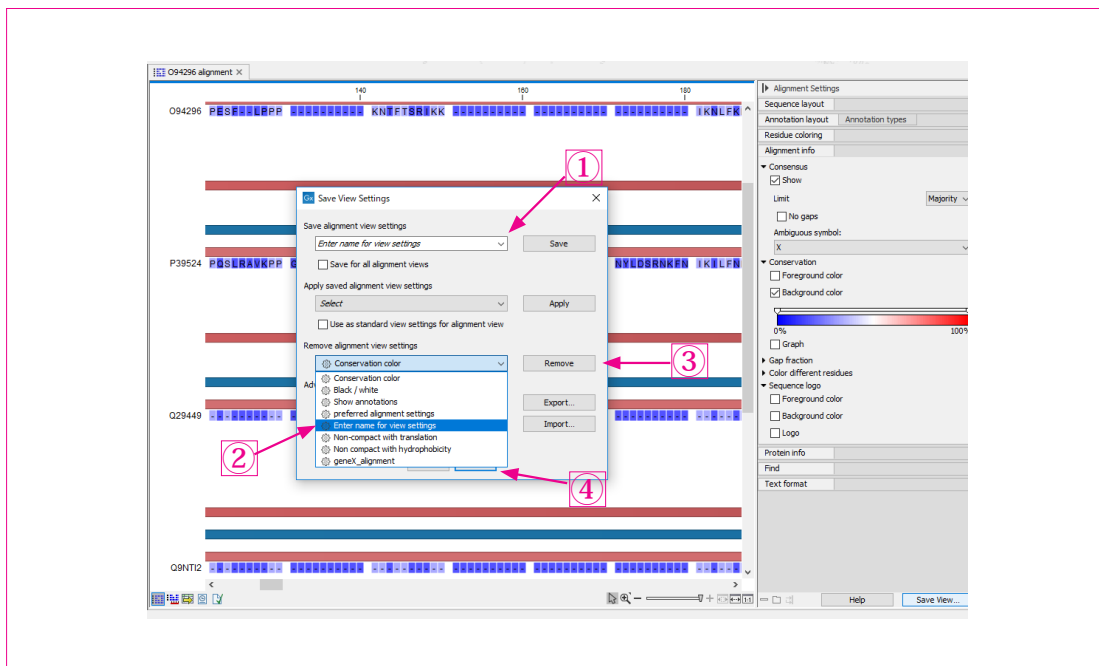


図39 不要になった設定の消去

Remove alignment view settings ①をクリックし、標示された設定リストから消去したい設定ファイルを選択し②、Remove ③、Close ④ をクリックする。