

Local Realignment ツール



Local Realignment

- Local Realignment では、このような状況を修正するため、マッピングを部分的にやり直します。この際、通常のマッピングの段階とは異なり、他のリードのマッピング状況を考慮するため、先ほどのマッピングは以下のように変化します。



- 先ほどのマッピングよりも、こちらの方がもっともらしい結果であることが直感的に分かります。



Local Realignment 原理

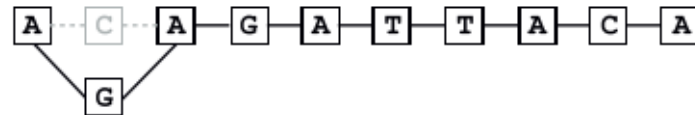
(a)

REF: A C A G A T T A C A
| | | | | | | | | |
READ: A C A G A T T A C A



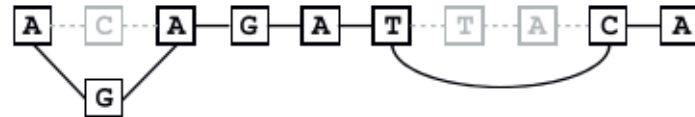
(b)

REF: A C A G A T T A C A
| X | | | | | | | |
READ: A G A G A T T A C A



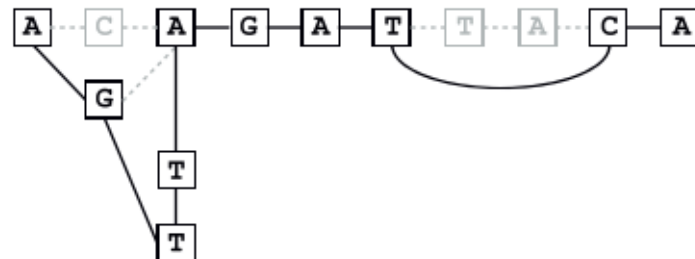
(c)

REF: A C A G A T T A C A
| X | | | | | | | |
READ: A G A G A T - - C A



(d)

REF: A C - - A G A T T A C A
| X | | | | | | | |
READ: A G T T A G A T - - C A



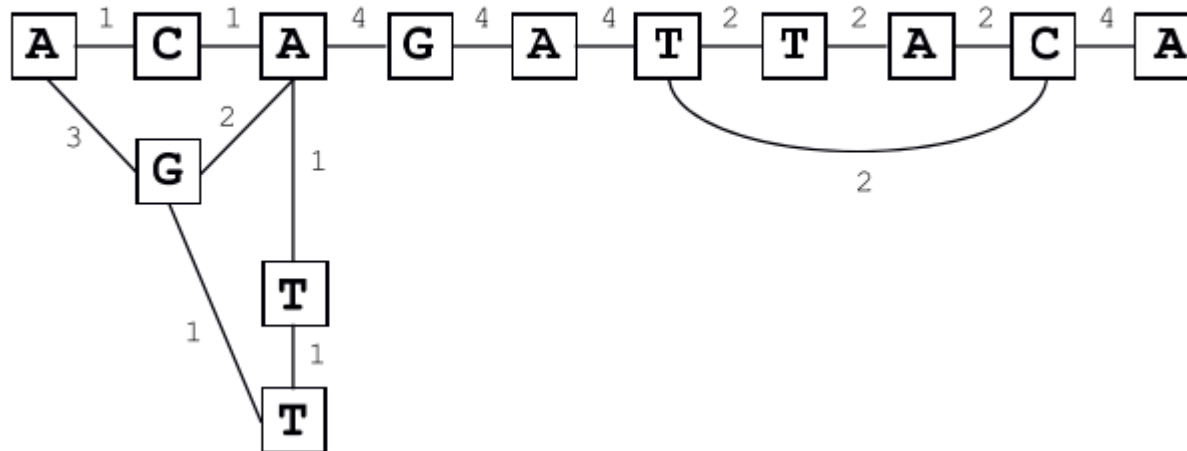
- 上図のようなリードと参照配列の組み合わせは右図のように書き下せる。



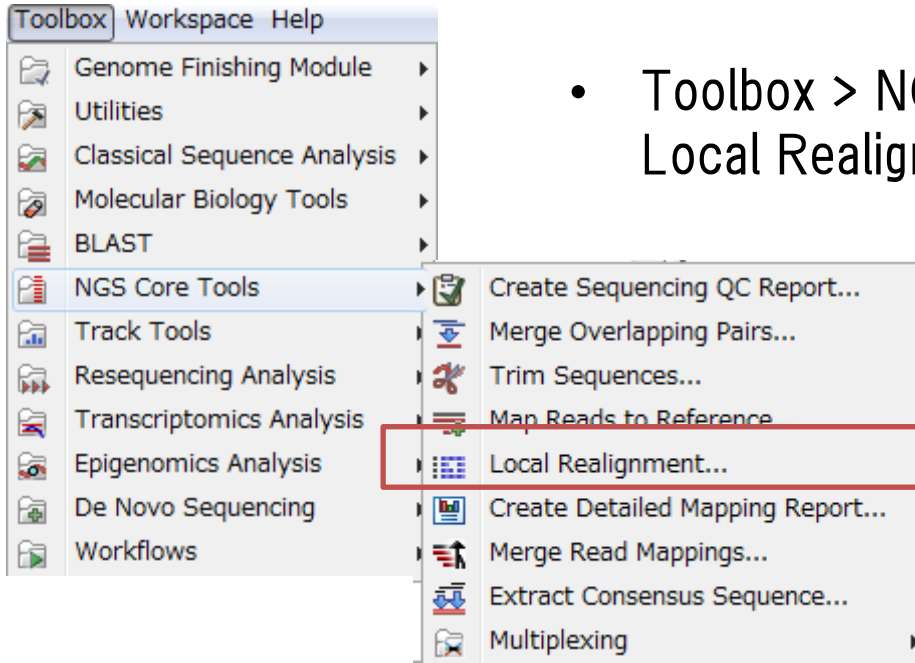
Local Realignment 原理

- グラフにして書き直し、それぞれのパスを通るリードのカバレッジを記入すると以下のようなになる。このグラフを解く事で、Local Realignment は実行されている。

(e)



Local Realignment

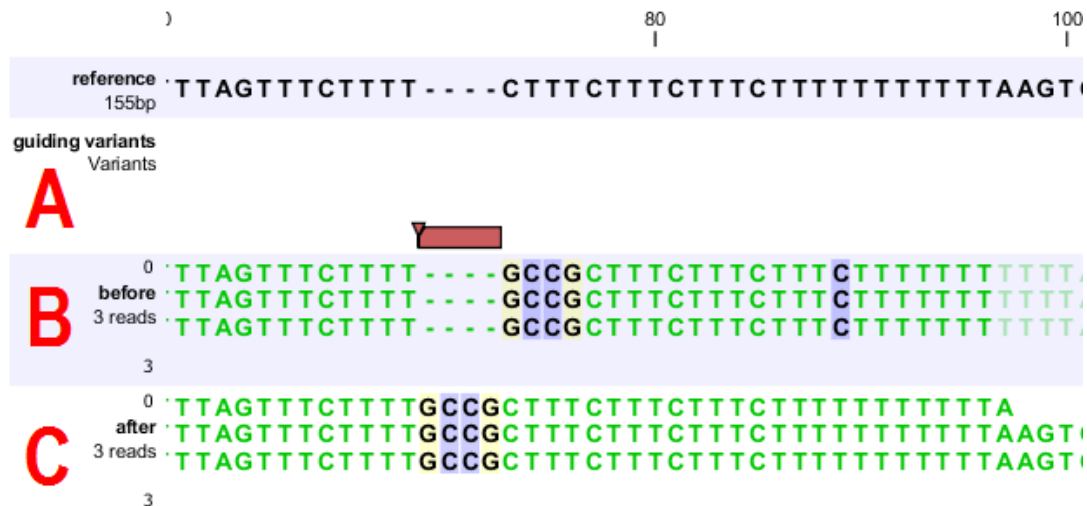


- Toolbox > NGS Core Tools > Local Realignment

- 2種類のLocal Realignmentsがあります。さらにGuided にはNo forceとForceの2種類があります。
 - Non guided
 - Guided
 - No force
 - Force

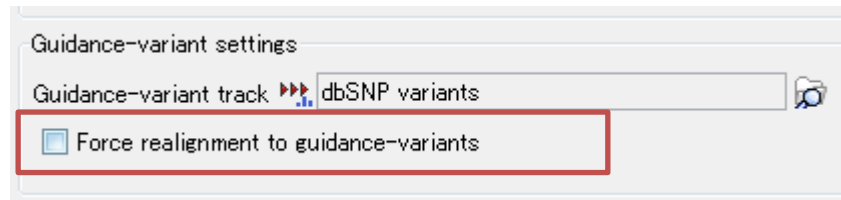
Local Realignment

- Guided Local Realignment
 - ガイドとなるような変異(InsertionやDeletion)の情報をあらかじめ与えておくことで、その領域のInsertion、Deletionを考慮してリアライメントを行う。
 - ガイドとなる変異情報がない場合、Local Realignment では、少なくとも1本のリードがInsertionやDeletionを支持している必要がある。このような場合、ガイドとなる変異情報を与えることで、InsertionやDeletion を効率的に検出できるようになる。
- Guided Local Realignment が有効な例

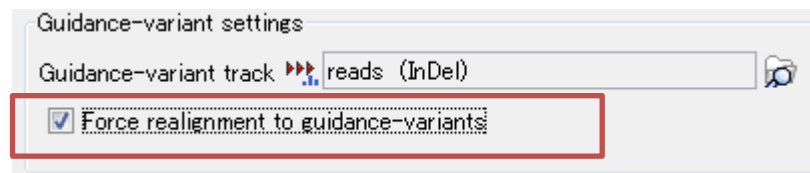


Local Realignment

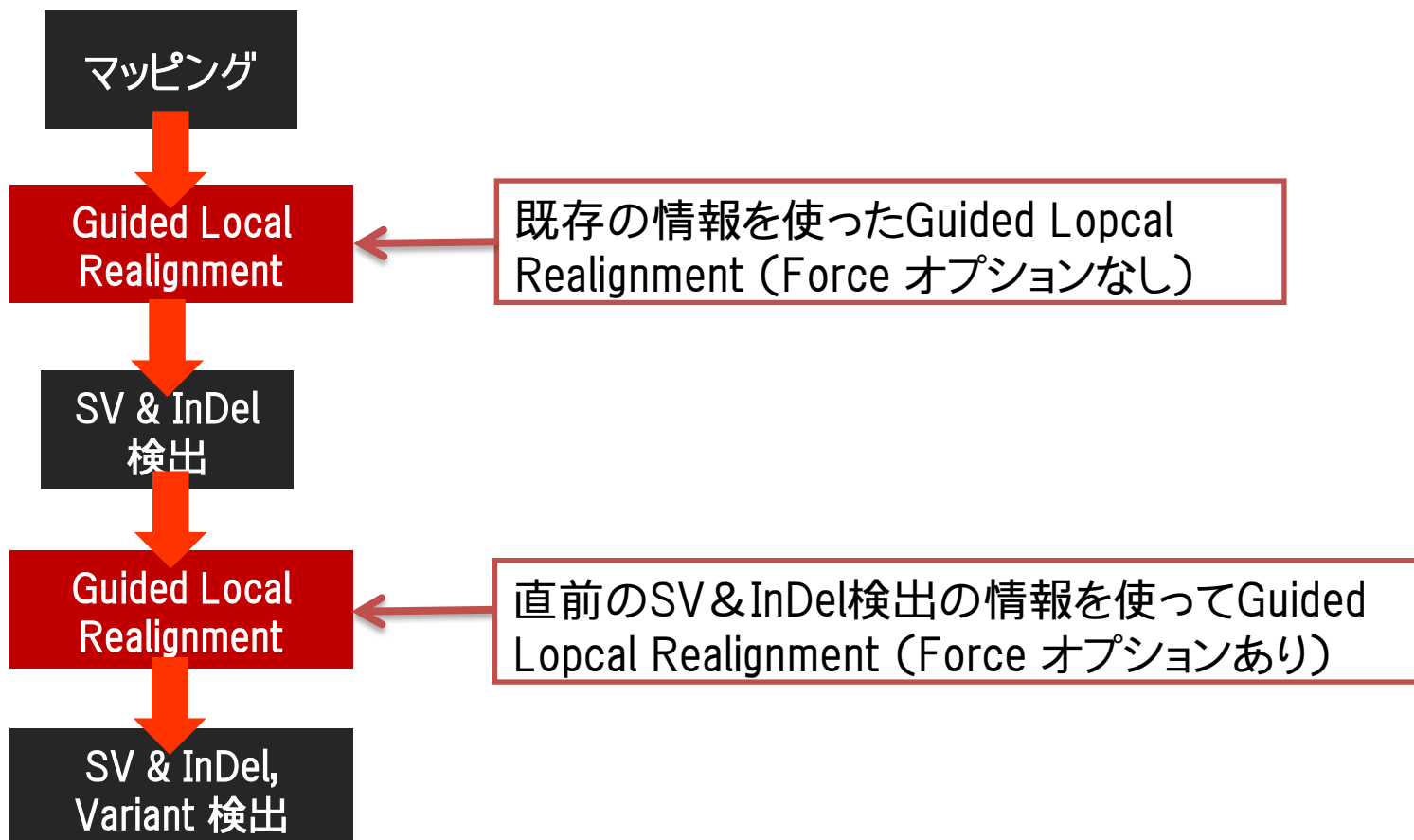
- Guided Local Realignment の注意点
 - dbSNPなど、入力マッピングデータとは異なるデータからの変異を使う場合
 - Force realignment のチェックを必ずはずす。



- 入力マッピングデータを基にした変異データを使う場合
 - Force realignment にチェックを入れる

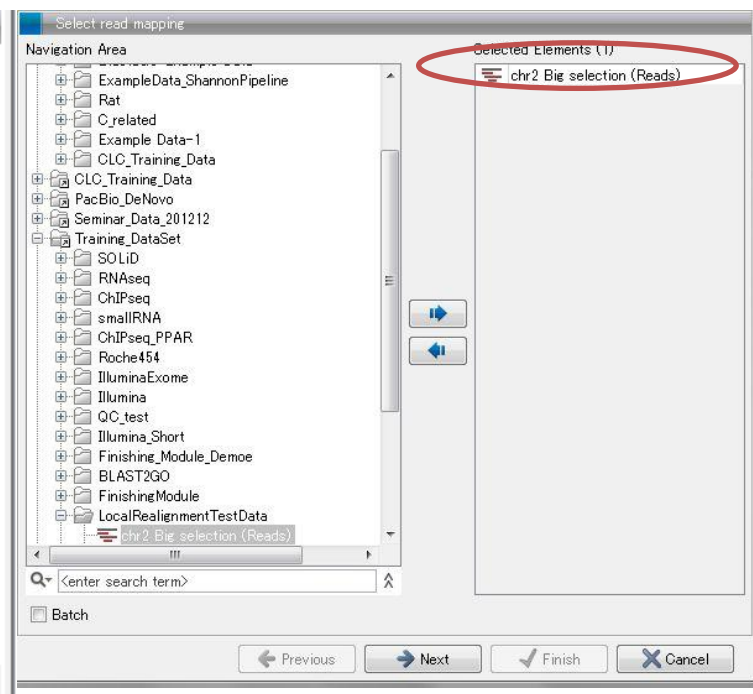
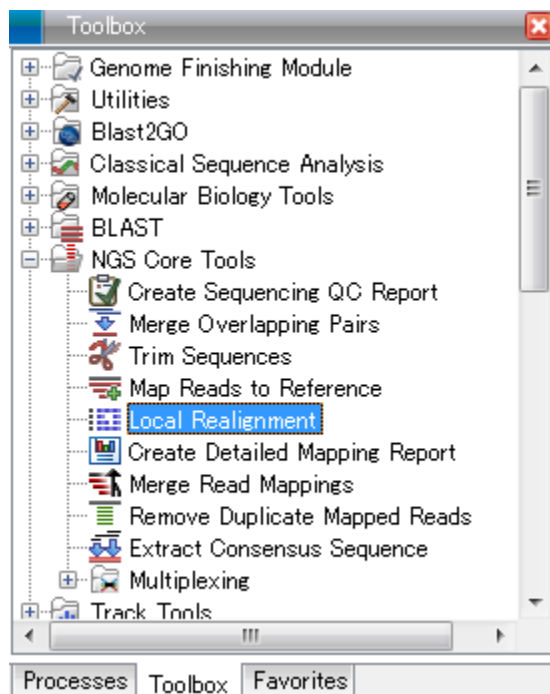
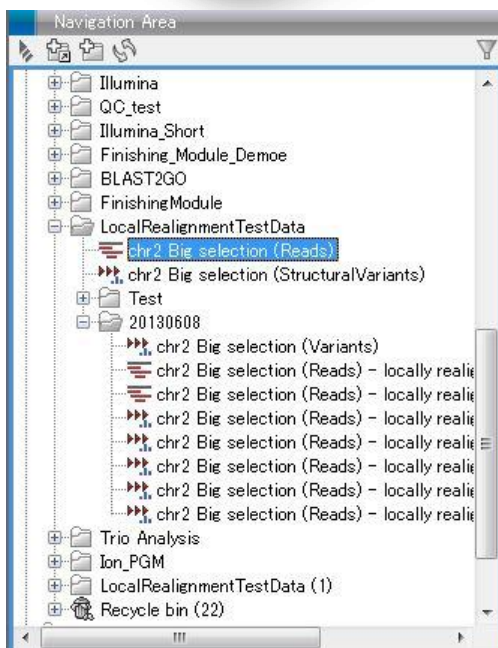


Local Realignmentを使った解析フロー





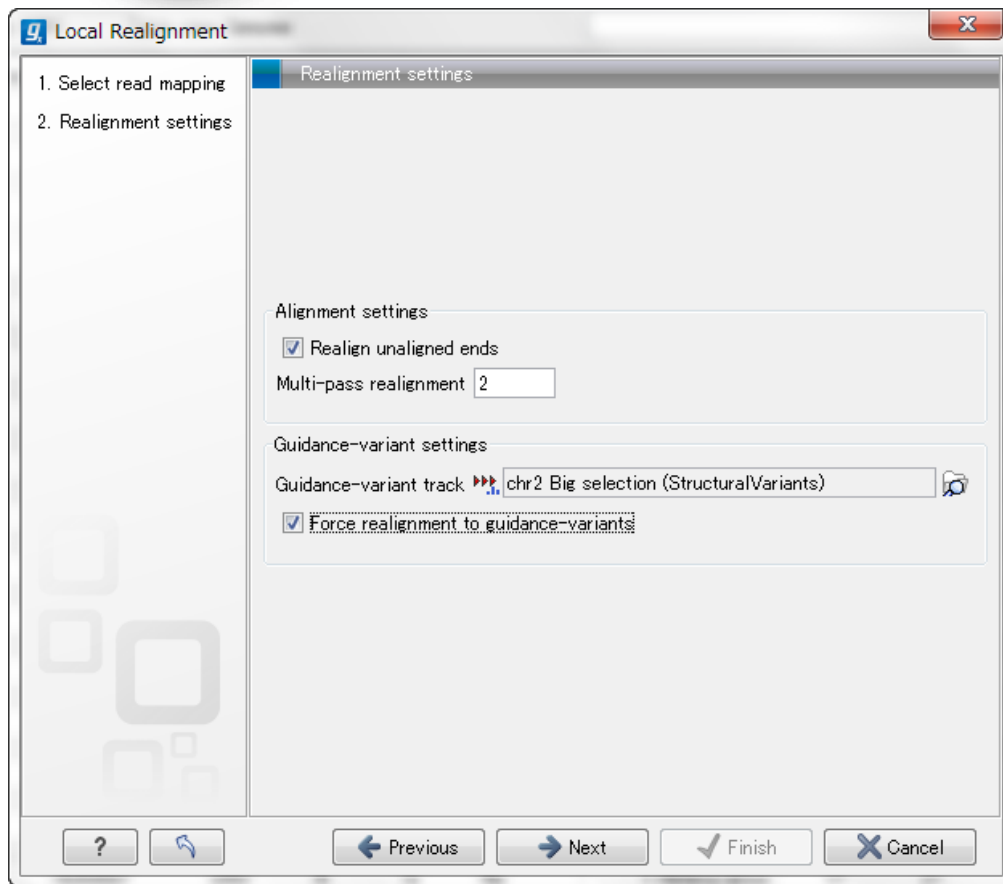
Local Realignment 実行方法



- Navigation Areaから使用するマッピングデータを選択。
- Toolboxから NGS Core Tools > Local Realignment を選択、ダブルクリック。
- ウィザードが起動し、選択したデータが選ばれていることを確認。



Local Realignment実行方法



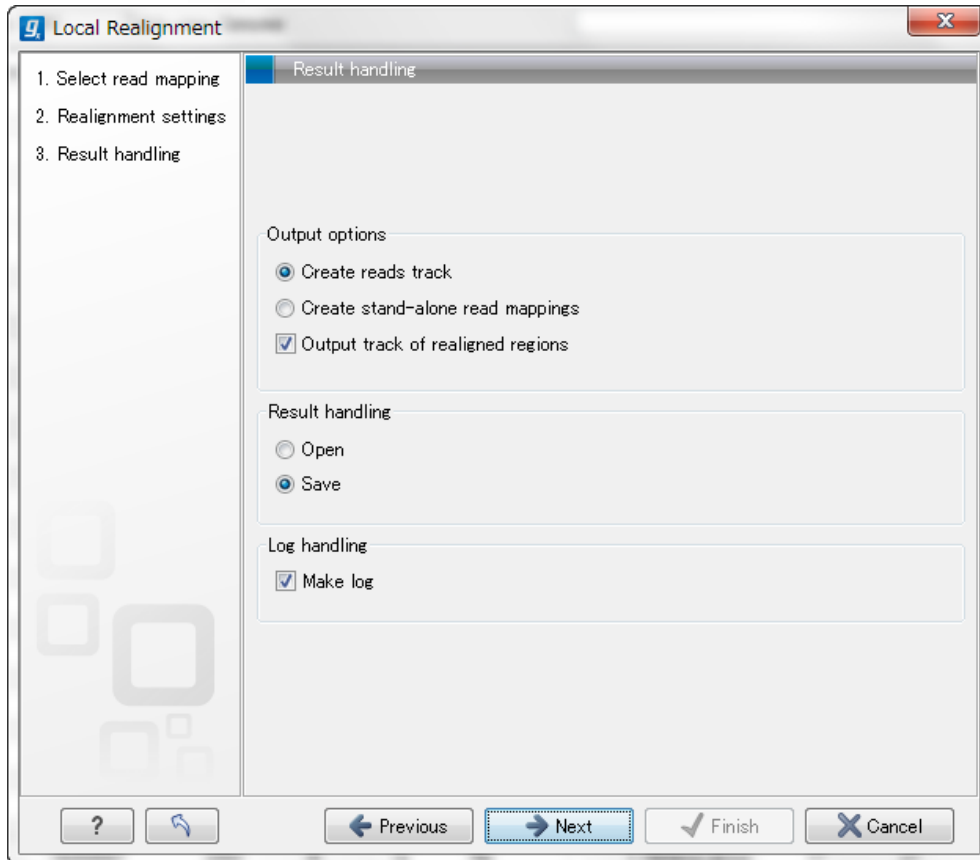
- Realign unaligned ends: マッピングの際にマップされなかった末端(soft clipping)をLocal Realignmentの際に利用するかどうか。アダプターの一部のようなものが残っていない限り、ここはチェックを入れる。

Guidance-variant settings: ガイダンスあり、なしの設定

- Guidance-variant track: ガイダンスに使用するトラックを選択。
 - Force realignment to guidance-variants: ガイダンスが、使用するマッピングデータから作成された場合は、ここにチェックを入れることで、より積極的にRealignmentを行える。
 - 注意: ガイダンスに選択するトラックが使用するマッピングデータ揺らいでない場合は、チェックを外してください。そうしないと正確なRealignmentが行えません。



Local Realignment実行方法




- Output options アウトプットの選択
 - Create reads track: トラックフォーマットでの作成。
 - Create stand-alone read mappings: スタンドアロンフォーマットでの作成。
 - Output track of realigned regions: Realignmentされた個所をトラックとして保存するかどうか。確認に便利。
- Result handling
 - Open: 実行後すぐに開く。
 - Save: 実行後一旦保存。
- Log handling
 - Make log: ログを作成するかどうか。




Local Realignment: 結果

- 結果はマッピングのファイルとして作成され、名前の最後に locally realigned として作成されます。

- スタンドアロンフォーマットで作成した場合

 chr2 Big selection (Reads) - locally realigned

- トラックフォーマットで作成した場合

 chr2 Big selection (Reads) - locally realigned

- この後、通常と同じ方法で変異やInsertion, Deletion の検出を行います。