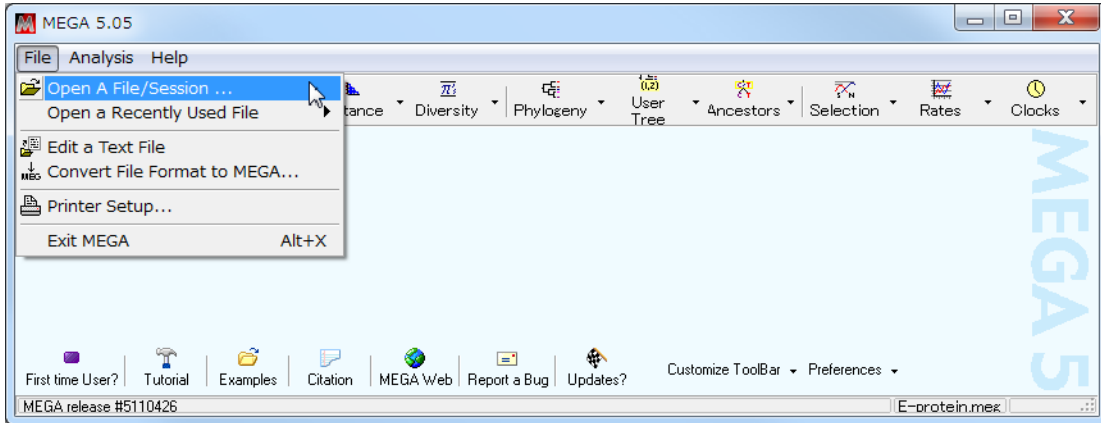


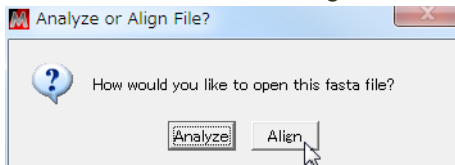
MEGAによるコロナウイルス系統樹作成

コロナウイルスの系統樹を描いてみよう。

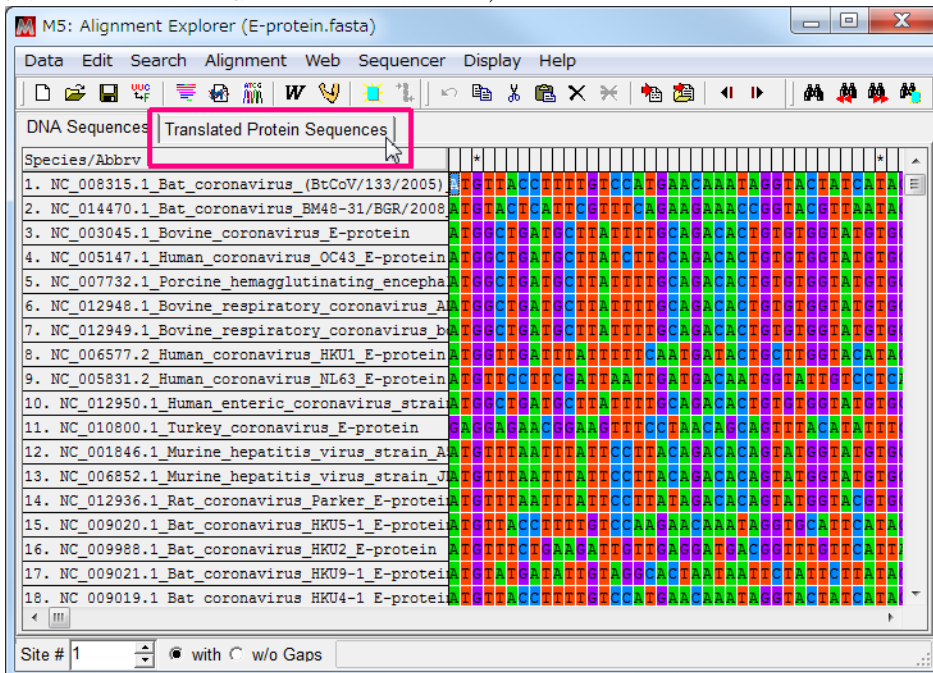
1. コロナウイルスのsmall membrane protein遺伝子(以下、E遺伝子)のサンプル配列 [E-protein.fasta](#) を取得する。具体的にはリンクを右クリックして、メニューから「名前を付けてリンク先を保存」を選ぶ。
2. 保存先を聞いてくるので、保存したい場所に移動する。新規フォルダを作成するのもよい。たとえば、「新しいフォルダ」をクリックして新フォルダを作成し、「corona」という名前にする。
3. MEGA6(またはMEGA5)を起動して、サンプル配列のアライメントを行う。
MEGA6を起動して、「File」→「Open A File/Session」から、E-protein.fastaを選択する。



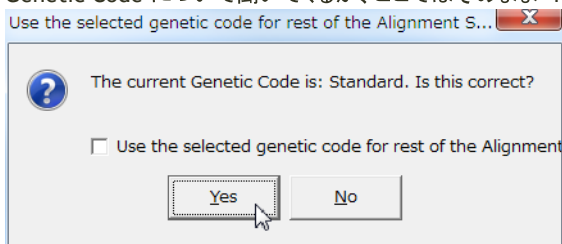
4. 何をしたいか聞いてくるので、「Align」を選択する。



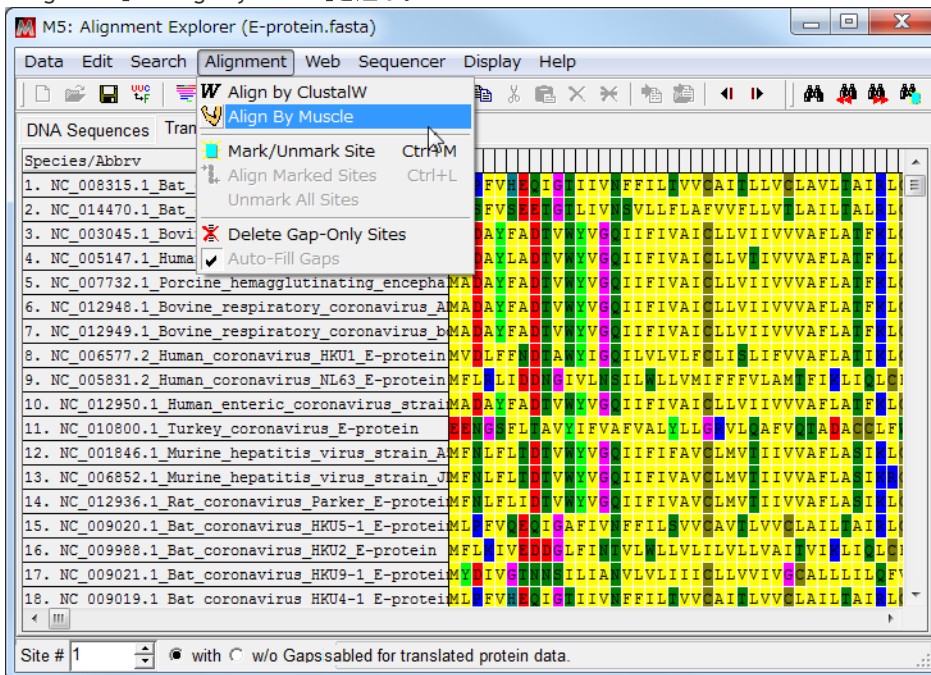
5. 入力した配列をタンパク質に翻訳する。具体的には、「Translated Protein Sequences」タブをクリックする。
(ここで使用している配列は全長がタンパク質コード領域のため、このような操作をしても問題はないが、非コード領域を含む配列を翻訳するときにはコード領域をしてやる必要がある)



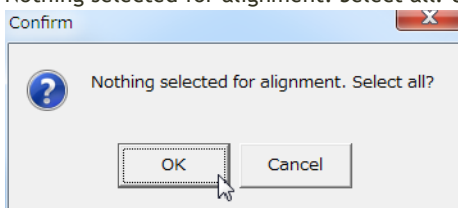
6. Genetic Code について聞いてくるが、ここではそのまま「Yes」をクリックする。



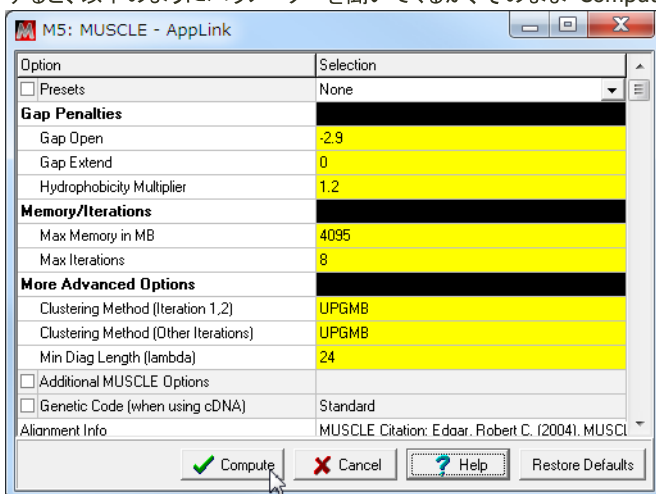
7. 「Alignment」→「Align by Muscle」を選ぶ。



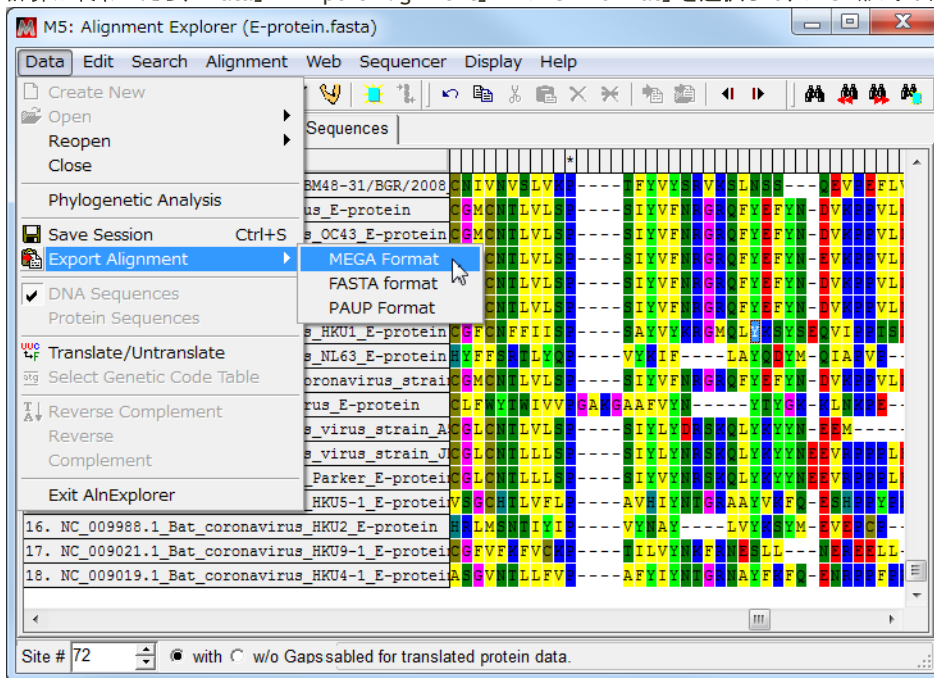
8. Nothing selected for alignment. Select all? と聞いてくるので「OK」を選択する。



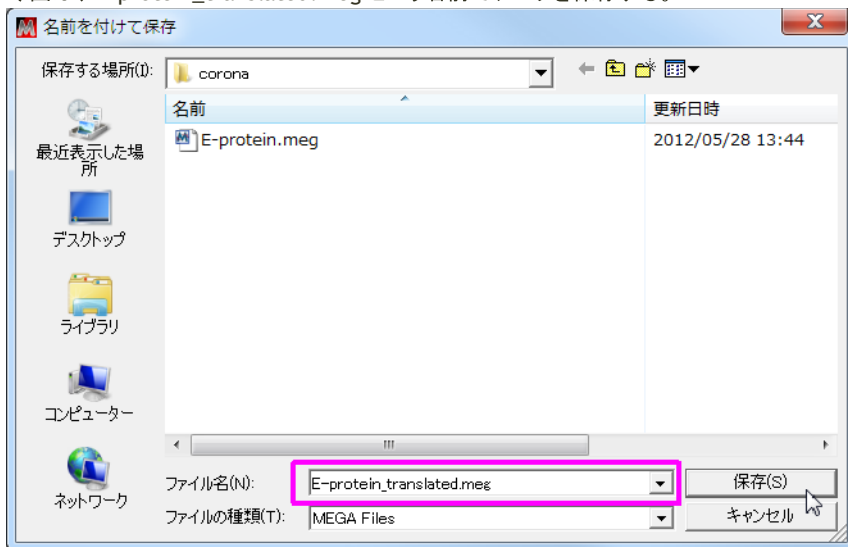
9. すると、以下のようにパラメーターを聞いてくるが、そのまま「Compute」ボタンを押してアライメントを開始する。



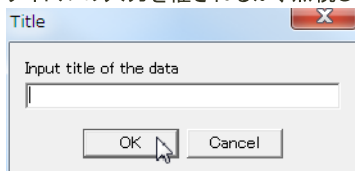
10. 計算が終わったら、「Data」→「Export Alignment」→「MEGA Format」を選択して、MEGA形式でデータを出力する。



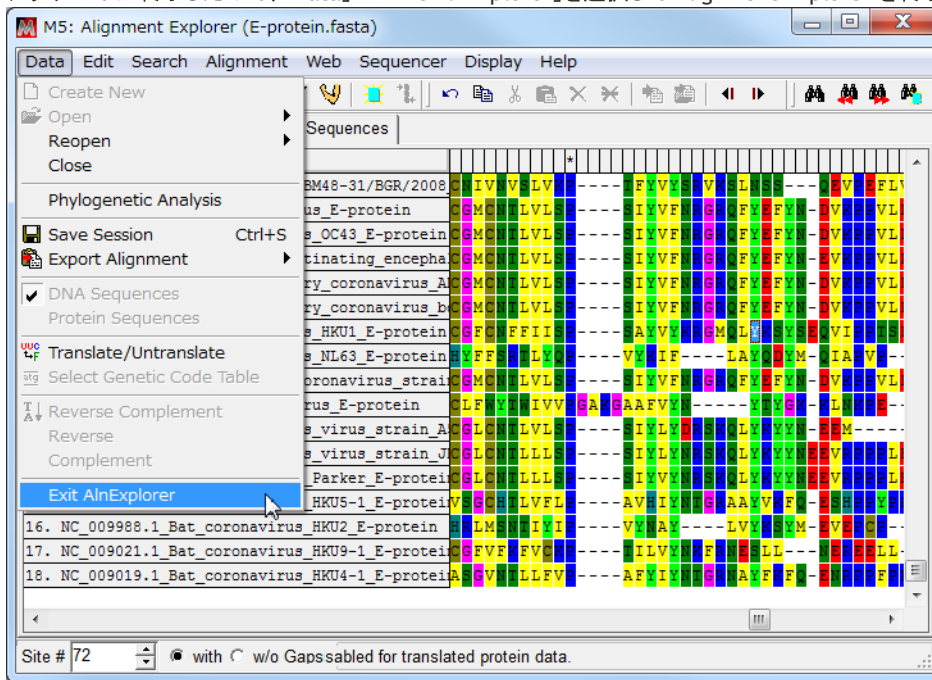
11. 今回は、E-protein_translated.meg という名前でデータを保存する。



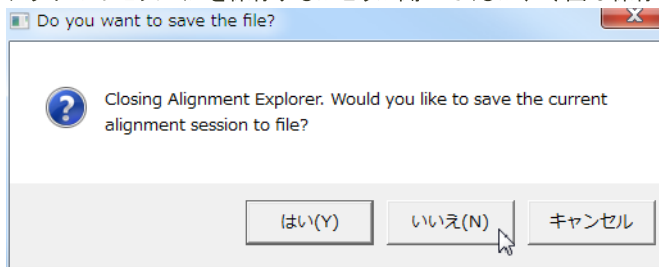
12. タイトルの入力を催されるが、無視してOK を押してよい。



13. アライメントが終了したので、「Data」→「Exit AlnExplorer」を選択して Alignment Explorer を終了する。

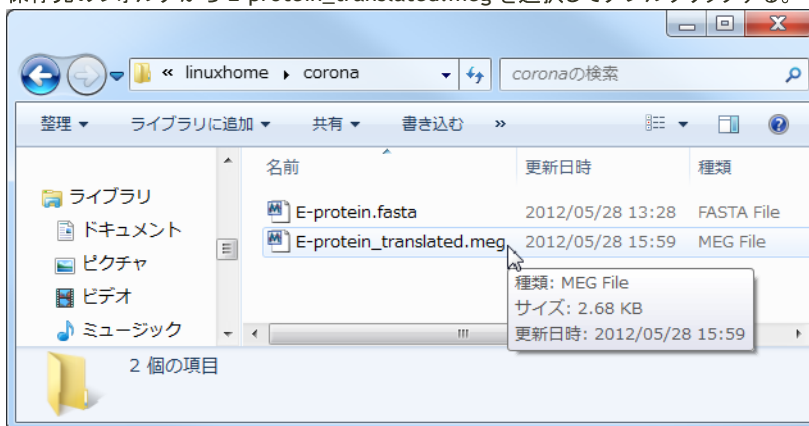


14. アライメントセッションを保存するかどうか聞いてくるが、今回は保存せずに終了したいので「いいえ」を選択する。



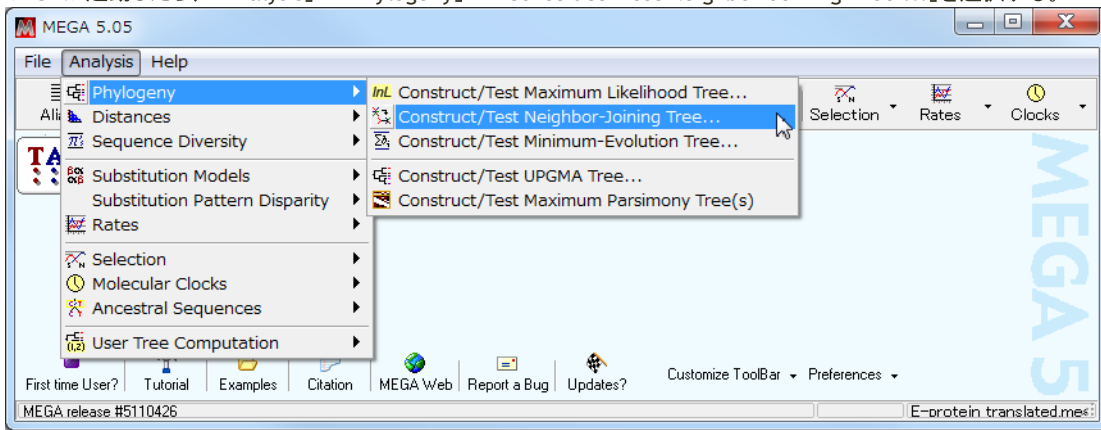
15. 先ほど出力したMEGA形式のデータを開く。

保存先のフォルダから E-protein_translated.meg を選択してダブルクリックする。

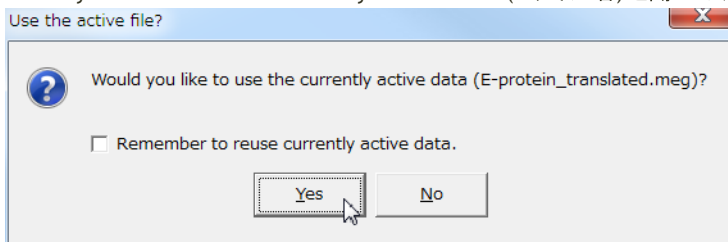


まずはBootstrap検定なしの系統樹を作成する。

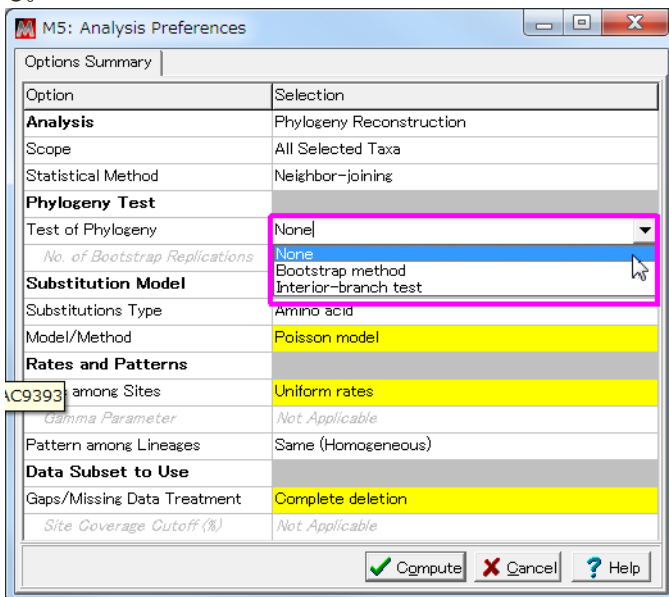
16. MEGAが起動したら、「Analysis」→「Phylogeny」→「Construct/Test Neighbor-Joining Tree ...」を選択する。



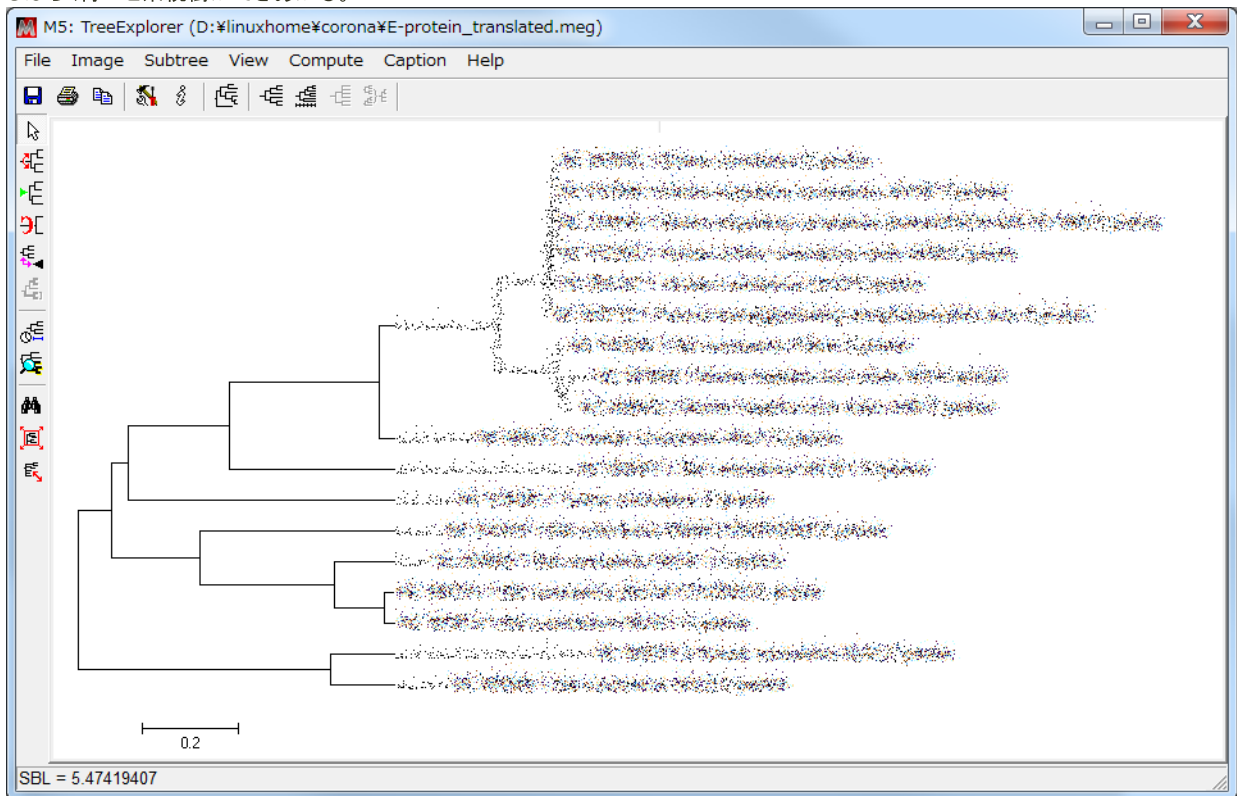
17. Would you like to use the currently active data? (ファイル名) と聞いてくるので、ファイル名を確認して「Yes」ボタンを押す。



18. パラメーターを聞いてくるので、「Test of Phylogeny」が「None」になっていることを確認して「Compute」ボタンを押し、計算を開始する。

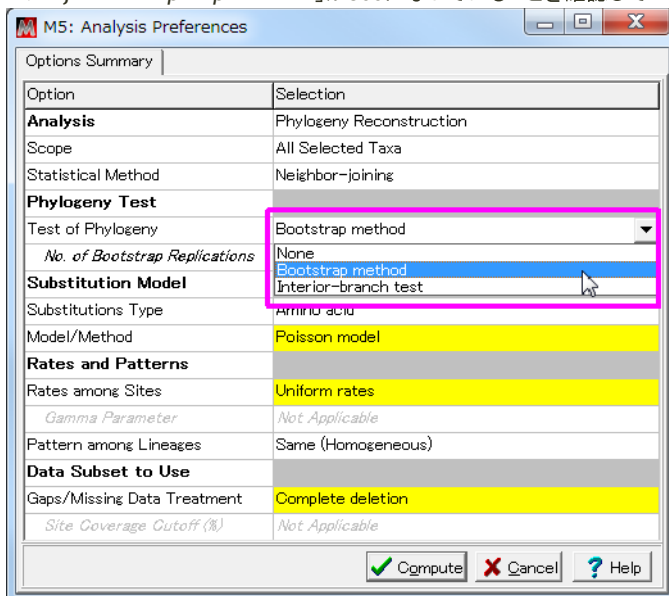


19. しばらく待つと系統樹ができあがる。

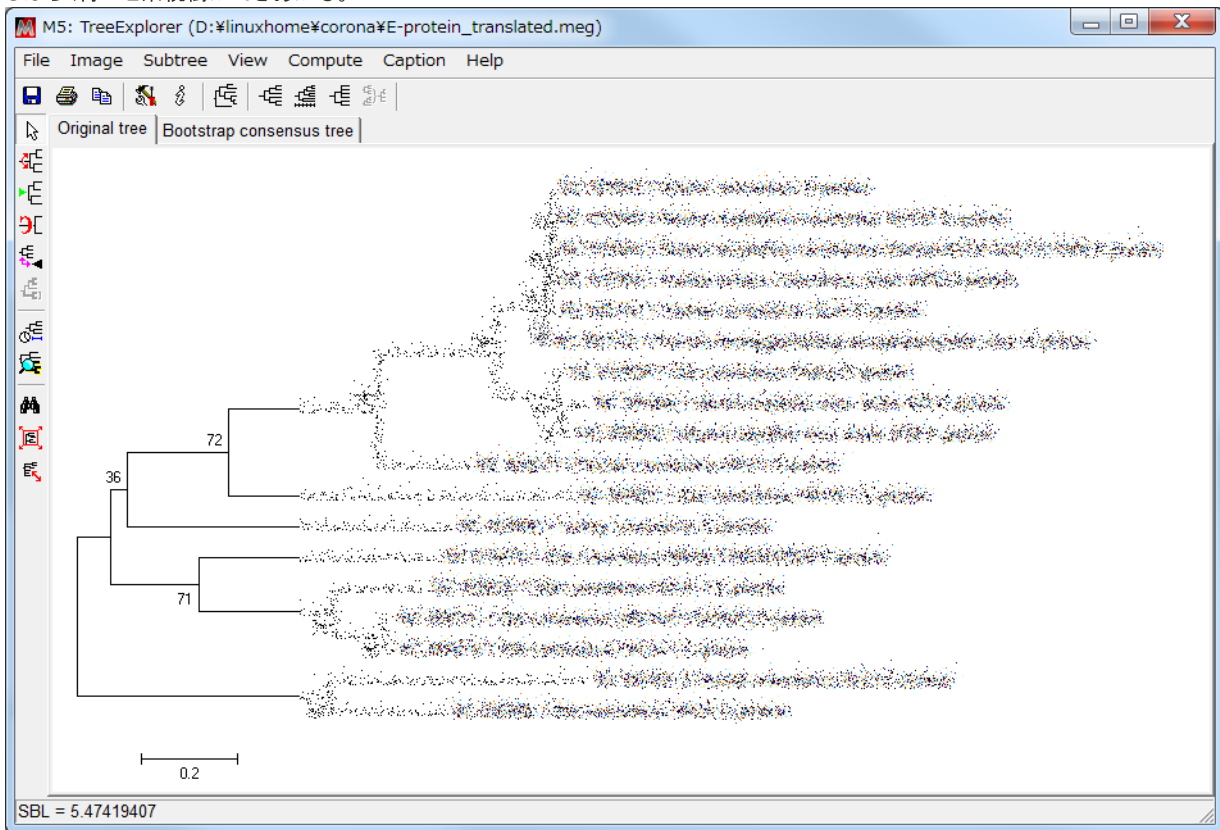


次に、Bootstrap検定を試みる。

20. 16からの操作を再び行い、系統樹作成のパラメーターを聞いてくる箇所では、「Test of Phylogeny」に「Bootstrap method」を選ぶ。「No of Bootstrap Replications」が500になっていることを確認して「Compute」ボタンを押す。



21. しばらく待つと系統樹ができあがる。



22. 「Caption」を押すと図の説明や参考文献が示される。論文に図を掲載する際の助けとなる。

応用課題：構築したコロナウイルスの系統樹にSARSウイルスのデータを追加して、その系統樹を描く

- SARSウイルスの配列 [sars_E-protein.fasta](#) をダウンロードし、先程ダウンロードしたデータにこのデータを加えて系統樹を作成せよ。
 - SARS配列を追加するには、MEGA の Alignment Explorer から追加する方法もあるが、TeraPad などのテキストエディタで fasta 形式のファイルを開いて加工するのが簡単である。