

QUantification tool for Methylation Analysis

<http://quma.cdb.riken.jp/>

QUMA User's manual

2008年4月23日

Version 1.02

熊木 勇一 & 岡野 正樹

ご意見、ご感想、不具合情報等ありましたら、ぜひ quma@cdb.riken.jp までお知らせ下さい。

機能についてのリクエストや使用方法がわからないといった場合でもお気軽にお問い合わせ下さい。

目次

1. QUMAについて	5	5.4.4. ゲノム配列の入力	15
2. QUMAのごく簡単な使い方	6	5.4.5. ゲノム配列ファイルの選択1	16
2.1. ゲノム配列ファイルを選択する	6	5.4.6. ゲノム配列ファイルの選択2	16
2.2. バイサルファイト配列ファイルを選択する	6	5.4.7. バイサルファイト配列の入力	17
2.3. 実行する	7	5.4.8. バイサルファイト配列ファイルの選択1	17
3. QUMAがサポートしているウェブブラウザー	7	5.4.9. バイサルファイト配列ファイルの選択2	18
4. QUMAの概要	8	5.4.10. バイサルファイト配列除外条件	18
5. メチル化状態解析モードの使い方	9	5.4.11. バイサルファイト変換方向	19
5.1. 画面構成と特徴	9	5.4.12. 解析の実行	19
5.2. トップページ	10	5.5. 解析結果ページ	20
5.3. 簡易トップページ	11	5.5.1. 解析結果ページ概要1	20
5.3.1. ゲノム配列ファイルの選択1	11	5.5.2. 解析結果ページ概要2	21
5.3.2. ゲノム配列ファイルの選択2	11	5.5.3. メチル化状態概要図の切り替え1	21
5.3.3. バイサルファイト配列ファイルの選択1	12	5.5.4. メチル化状態概要図の切り替え2	22
5.3.4. バイサルファイト配列ファイルの選択2	12	5.5.5. メチル化状態概要図のダウンロード	23
5.3.5. 解析の実行	13	5.5.6. 解析結果ページ概要3	23
5.4. 高機能トップページ	13	5.5.7. アライメントの表示	25
5.4.1. オプションの表示	13	5.5.8. バイサルファイト配列の除外／非除外1	25
5.4.2. オプション項目	14	5.5.9. バイサルファイト配列の除外／非除外2	26
5.4.3. オプションの非表示	15	5.5.10. バイサルファイト配列の並べ替え1	26
		5.5.11. バイサルファイト配列の並べ替え2	27
		5.5.12. アライメントデータダウンロード	27
		5.5.13. アライメントデータ	28

5.5.14. 解析結果データダウンロード	29	5.8.6. 図の種類1のオプション	39
5.5.15. 解析結果データ	29	5.8.7. 図の種類2	40
5.5.16. メチル化パターン図のダウンロード	30	5.8.8. 図の種類2のオプション	40
5.5.17. メチル化パターン図	30	5.8.9. 図の種類3	41
5.5.18. 図作成ページの表示	31	5.8.10. 図の種類3のオプション	41
5.6. 解析結果ページオプション	31	5.8.11. 図の種類4	42
5.6.1. オプションの表示1	31	5.8.12. 図の種類4のオプション	42
5.6.2. オプションの表示2	32	6. 統計解析モードの使い方	43
5.6.3. オプションの非表示	32	6.1. 画面構成と特徴	43
5.6.4. バイサルファイト配列の並べ替え1	33	6.2. トップページ	44
5.6.5. バイサルファイト配列の並べ替え2	33	6.2.1. オプションの表示	44
5.6.6. バイサルファイト配列除外条件1	34	6.2.2. オプション項目	44
5.6.7. バイサルファイト配列除外条件2	34	6.2.3. ゲノム配列の入力	45
5.7. アライメントページ	35	6.2.4. ゲノム配列ファイルの選択1	45
5.7.1. アライメントページ概要	35	6.2.5. ゲノム配列ファイルの選択2	46
5.7.2. アライメントデータダウンロード	36	6.2.6. バイサルファイト配列1の入力	46
5.7.3. アライメントデータ	36	6.2.7. バイサルファイト配列ファイル1の選択1	47
5.8. 図作成ページ	37	6.2.8. バイサルファイト配列ファイル1の選択2	47
5.8.1. メチル化パターン図のダウンロード	37	6.2.9. バイサルファイト配列2の入力	48
5.8.2. 図の切り替え1	37	6.2.10. バイサルファイト配列ファイル2の選択1	48
5.8.3. 図の切り替え2	38	6.2.11. バイサルファイト配列ファイル2の選択2	49
5.8.4. オプションの表示	38	6.2.12. バイサルファイト配列除外条件	49
5.8.5. 図の種類1	39	6.2.13. バイサルファイト変換方向	50

6.2.14. 解析の実行	50	6.4.6. バイサルファイト配列除外条件1	63
6.3. 統計解析結果ページ	51	6.4.7. バイサルファイト配列除外条件2	63
6.3.1. 統計解析結果ページ概要1	51	6.5. アライメントページ	64
6.3.2. 統計解析結果ページ概要2	52	6.5.1. アライメントページ概要	64
6.3.3. メチル化状態比較の概要図の切り替え1	53	6.5.2. アライメントデータダウンロード	65
6.3.4. メチル化状態比較の概要図の切り替え2	53	6.5.3. アライメントデータ	65
6.3.5. メチル化状態比較の概要図のダウンロード	54	7. 入力配列について	66
6.3.6. 統計解析結果ページ概要3	55	7.1. ゲノム配列について	66
6.3.7. アライメントの表示	56	7.2. バイサルファイト配列について	67
6.3.8. バイサルファイト配列の除外／非除外1	56	8. 配列形式について	68
6.3.9. バイサルファイト配列の除外／非除外2	57	8.1. plain sequence 形式	68
6.3.10. バイサルファイト配列の並べ替え1	57	8.2. FASTA 形式	68
6.3.11. バイサルファイト配列の並べ替え2	58	8.3. GenBank 形式	69
6.3.12. アライメントデータダウンロード	58	8.4. Multi-FASTA 形式	70
6.3.13. アライメントデータ	59	8.5. 配列ファイルが入った zip 形式のアーカイブ(圧縮フォルダ)	71
6.3.14. 統計解析結果データダウンロード	60	8.6. zip 形式のアーカイブの作成方法(マック)	71
6.3.15. 統計解析結果データ	60	8.6.1. マック OS X 10.3 以降の場合	71
6.4. 統計解析結果ページオプション	61	8.6.2. 他のマック OS の場合	73
6.4.1. オプションの表示1	61	8.7. zip 形式の圧縮フォルダの作成方法(ウインドウズ)	74
6.4.2. オプションの表示2	61	8.7.1. ウィンドウズ Me/XP/ビ스타の場合	74
6.4.3. オプションの非表示	61	8.7.2. 他のウィンドウズの場合	75
6.4.4. バイサルファイト配列の並べ替え1	62		
6.4.5. バイサルファイト配列の並べ替え2	62		

1. QUMAについて

Bisulfite sequencing 法は DNA メチル化の解析に広く用いられている方法ですが、塩基の変換が行われるために、一般的なバイオインフォマティクスツールでは処理が難しく、これまで多くの研究者は手作業で塩基配列の処理と解析を行っていました。そのため

- 配列の解析に非常に手間がかかる
 - 多くの配列を処理するのが困難
 - 同じ bisulfite 配列を解析しても、配列解析を行う人によって結果が異なってしまう可能性がある
- といった問題点がありました。

そこで我々は CpG メチル化についての bisulfite 配列の処理を行うための、Web ツールの開発を行いました。このツールには以下の特徴があります。

- Web ベースなので、インターネットに接続さえしていれば誰でも使用可能(ソフトウェアのセットアップ等は必要なし)
- sequencer から出力された bisulfite 配列をそのまま使用可能(plasmid vector 配列の除去等は不要)
- 一定の基準で、質の低い配列データを自動除去
- 自動でアライメント処理、図の作成、統計値を計算
- パラメータの設定はほとんど必要なく、容易に利用可能
 - ✓ オプションでは細かいパラメータの設定/変更が可能
- ・高速な処理(20 配列程度なら 2-3 秒で処理可能)により、ストレスなく使用可能
- ・はっきりとした条件によって処理が行えるので、条件が同じなら、誰が行っても同じ結果が得られる
- ・Bisulfite 配列の解析に慣れていない研究者でも、知識/経験を必要とせずに、bisulfite 配列の解析が可能
- ・Bisulfite 配列の解析に慣れている研究者でも、直感的に理解しやすい形でデータを出力できる

QUMA は <http://quma.cdb.riken.jp/> で公開しています。

まだ不十分点もあるかと思いますが、bisulfite 法を行っている研究者にとっては、有用なツールに仕上がっていると思います。
皆様の研究にお役立ていただければ幸いです。

2. QUMA のごく簡単な使い方

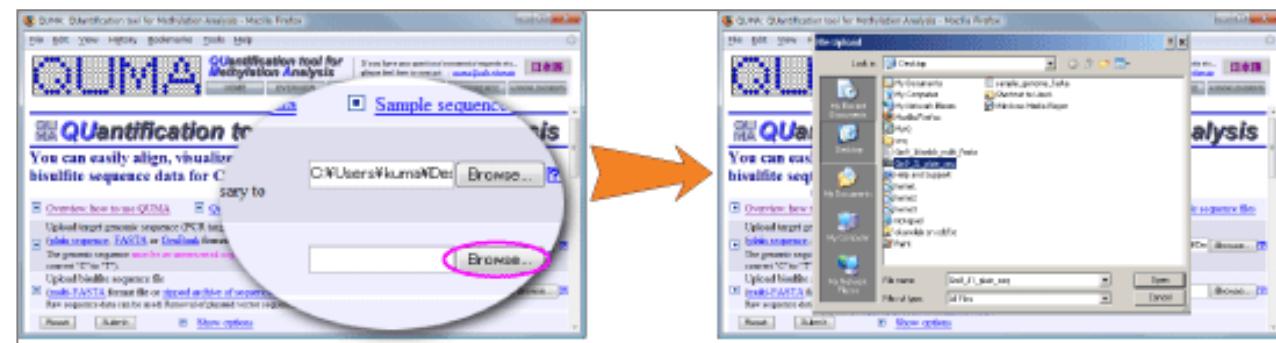
2.1. ゲノム配列ファイルを選択する

バイサルファイトPCRのターゲットの配列(プライマー間の配列)をCをTに変換せずに用いて下さい。(詳細は「[7.1. ゲノム配列について](#)」を参照)



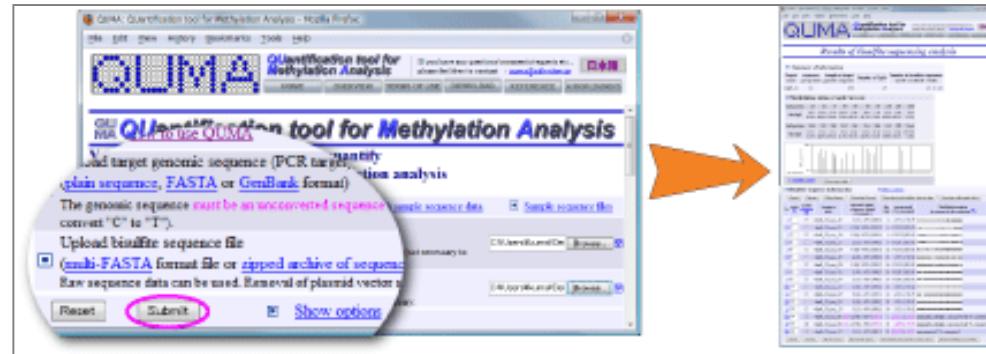
2.2. バイサルファイト配列ファイルを選択する

ベクター配列の除去は必要なく、シークエンサーからの出力配列をそのまま使用可能です。[8.4. Multi-FASTA 形式ファイル](#)または [8.5. 配列ファイルが入ったzip形式のアーカイブ\(圧縮フォルダ\)](#)を用いることで複数の配列をアップロードします。(詳細は「[7.2. バイサルファイト配列について](#)」を参照)



2.3. 実行する

数秒で結果が表示されます。



3. QUMA がサポートしているウェブブラウザー

以下のウェブブラウザをサポートしています

- ファイアフォックス(マック／ウィンドウズ)
- サファリ(マック)
- オペラ(マック／ウィンドウズ)
- インターネットエクスプローラー(IE)6.0以上(ウィンドウズ)(但しIE7はバグが多いのでお勧めしません)

IE5.0(ウィンドウズ)、モジラ、ネットスケープ6以上など、多くのブラウザで問題なく使えると思います。

ただし、MacのIEやネットスケープ4など、古いブラウザでは正しく表示できない場合があります。

4. QUMA の概要

QUMA はウェブで使える DNA メチル化の解析ツールで、バイサルファイト配列データをゲノム配列にアライメントしたり、結果を定量化する、図を作成する、といったことが簡単に短時間で行えます。

QUMA は「メチル化状態解析モード」の使い方エラー! 参照元が見つかりません。」と「統計解析モードの使い方」の二つの解析モードによって構成されています。メチル化状態解析モードは一つのグループのバイサルファイト配列についてメチル化状態の解析を行い、統計解析モードでは2つのグループのバイサルファイト配列についての統計解析を行います。

トップページ

Results of bisulfite sequencing analysis

Bisulfite sequence information

統計的解析

5. メチル化状態解析モードの使い方

5.1. 画面構成と特徴

QUMA のメチル化状態解析モードは右図のような画面構成になっており、以下の特徴があります。

- シーケンサーから出力されたバイナルファイト配列をそのまま使用可能で、プラスミドベクターの配列を除去する必要はありません
 - 多くの場合数秒で、以下の処理を実行可能
 - ✓ バイナルファイトアライメント
 - ✓ 配列の品質チェック
 - ✓ メチル化パターンの解析
 - ✓ 図の作成
 - 実際のバイナルファイトアライメントをチェックして、バイナルファイト配列の採用/不採用を変更することが出来ます
 - 配列の品質チェックのパラメータを変更して再実行することが容易
 - ほとんどのデータをダウンロード可能
 - メチル化パターンの図の作成機能では、いろいろなパラメータを変更可能で、ユーザ好みの図に仕上げることが出来ます。



5.2. トップページ

トップページはデフォルトの [5.3. 簡易トップページ](#) と、オプションを表示した [5.4. 高機能トップページ](#) を切り替えることができます。

The screenshot shows the QUMA homepage within a Mozilla Firefox browser window. The title bar reads "QUMA: QUantification tool for Methylation Analysis - Mozilla Firefox". The menu bar includes File, Edit, View, History, Bookmarks, Tools, and Help. A decorative graphic of blue dots forming a grid pattern is on the left. The main header features the text "QUantification tool for Methylation Analysis" in blue, with a "HOME" button below it. To the right, there is contact information: "If you have any questions/comments/requests etc., please feel free to contact : quma@edb.riken.jp". A "日本語" button is also present. Below the header, a large banner reads "QUANTIFICATION TOOL FOR METHYLATION ANALYSIS" in bold blue letters. The subtext "You can easily align, visualize and quantify bisulfite sequence data for CpG methylation analysis" is displayed in a larger blue font. Below this, there are four links in blue: "Overview: how to use QUMA", "Quick start", "Execute with sample sequence data", and "Sample sequence files". Under "Upload target genomic sequence (PCR target) file", there is a checkbox for "plain sequence, FASTA or GenBank format" and a "Browse..." button. A note states: "The genomic sequence must be an unconverted sequence between PCR primer pair (not necessary to convert "C" to "T").". Under "Upload bisulfite sequence file", there is a checkbox for "multi-FASTA format file or zipped archive of sequence files" and a "Browse..." button. A note states: "Raw sequence data can be used. Removal of plasmid vector sequence is not necessary.". At the bottom, there are "Reset" and "Submit" buttons, and a "Show options" link.

5.3. 簡易トップページ

簡易トップページでは以下の項目が表示されます。

- ゲノム配列ファイル選択項目
- バイサルファイト配列ファイル選択項目
- 「リセット」ボタンと「実行」ボタン

5.3.1. ゲノム配列ファイルの選択1

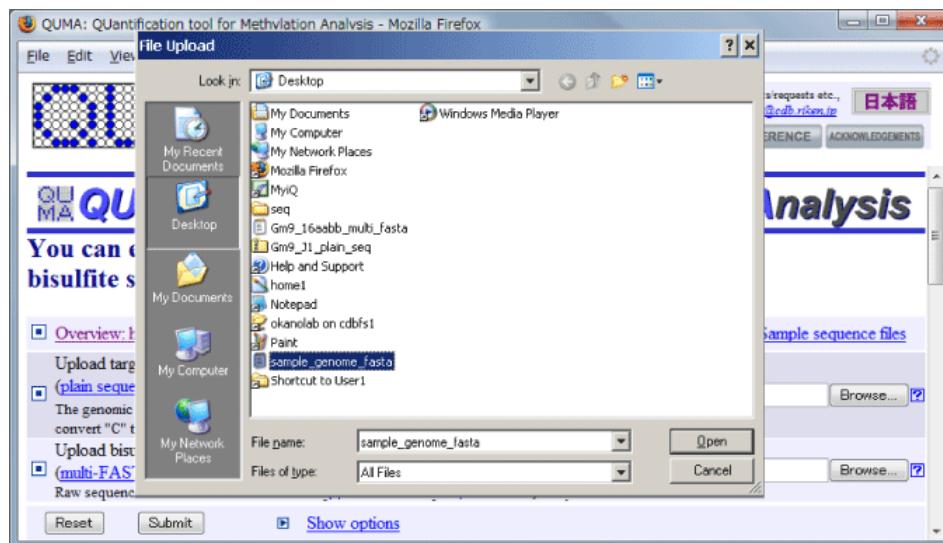
まず、アップロードするゲノム配列を選択するために一つ目のボタンをクリックします。

(この画面では“Browse...”ボタンですが、使用するブラウザによって表示が異なります。)

5.3.2. ゲノム配列ファイルの選択2

ファイル選択のためのダイアログが表示されますので、アップロードするゲノム配列ファイルを選択します。

使用できるゲノム配列の形式についての詳細は「[7.1. ゲノム配列について](#)」をご覧ください。



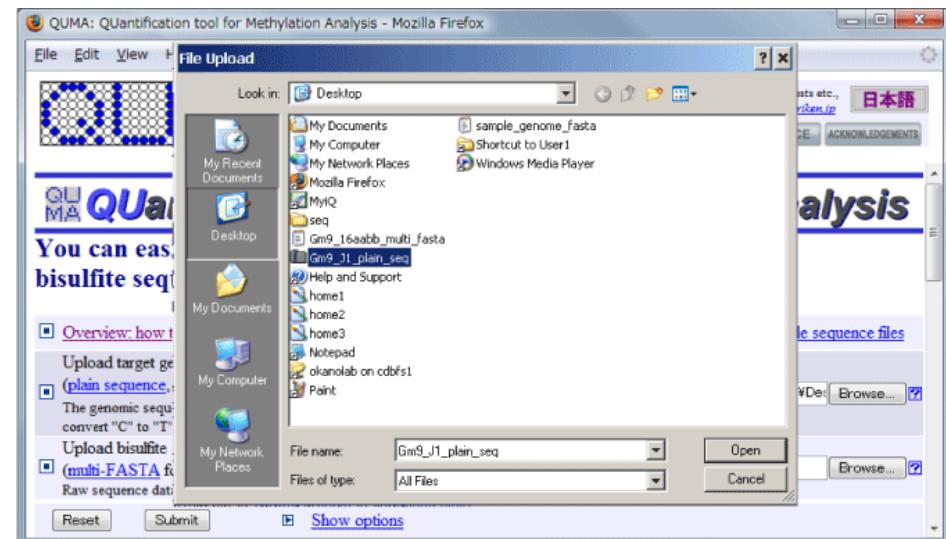
5.3.3. バイサルファイト配列ファイルの選択1

次にアップロードするバイサルファイト配列のファイルを選択するために二つ目のボタンをクリックします。



5.3.4. バイサルファイト配列ファイルの選択2

ファイル選択のためのダイアログが表示されますので、アップロードするバイサルファイト配列ファイルを選択します。使用可能なファイル形式は [8.4. Multi-FASTA 形式](#) または [8.5. 配列ファイルが入った zip 形式のアーカイブ\(圧縮フォルダ\)](#) です。使用できるバイサルファイト配列の形式についての詳細は、「[7.2. バイサルファイト配列について](#)」、「[8.6. zip 形式のアーカイブの作成方法\(マック\)](#)」、「[8.7. zip 形式の圧縮フォルダの作成方法\(Windows\)](#)」をご覧下さい。



5.3.5. 解析の実行

2つのファイルを指定し終わったら、"実行"ボタンをクリックします。
多くの場合、数秒で結果が出ます。

以降の処理は、「[5.5. 解析結果ページ](#)」で解説されています。

5.4. 高機能トップページ

5.4.1. オプションの表示

オプションを表示するには"オプションを表示する"のリンクをクリックします。

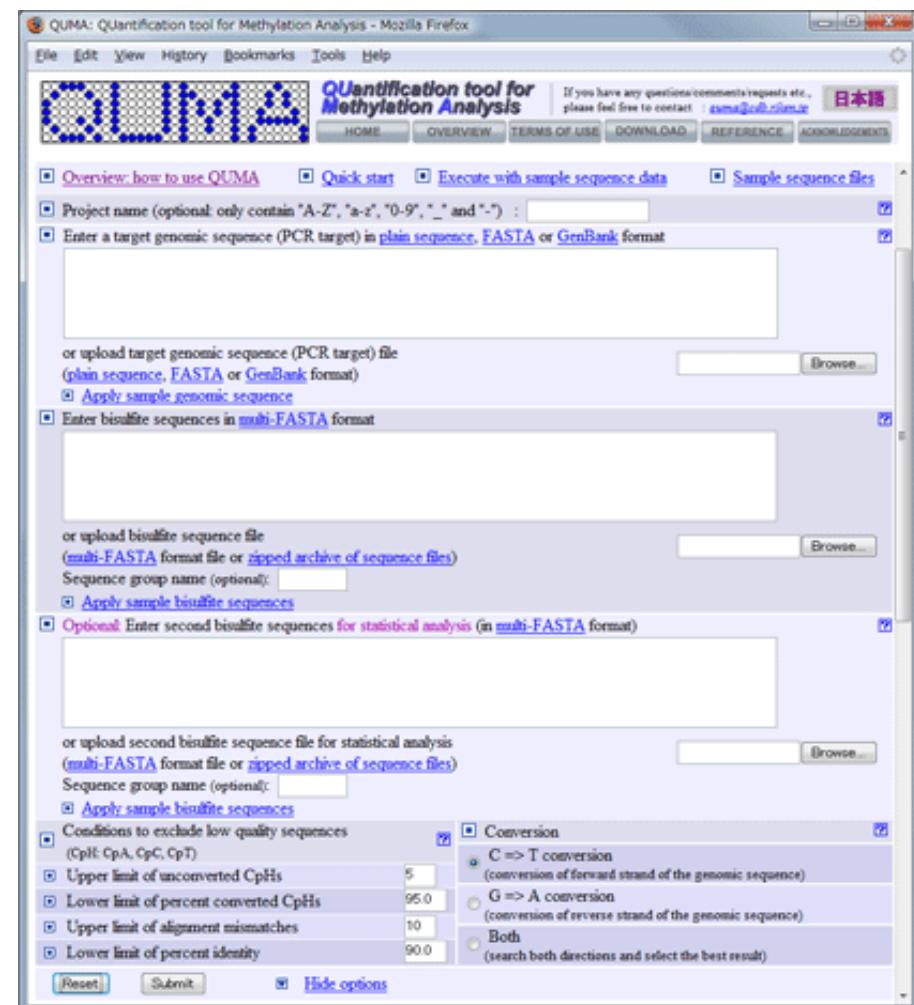


5.4.2. オプション項目

オプションの項目が表示された高機能トップページになります。3つの配列入力フィールドについては、[統計解析モードの使い方](#)で使用しますので、ここでは触れません。

以下の項目が表示されます。

- プロジェクト名入力項目
- ゲノム配列
 - ✓ ゲノム配列直接入力フィールド
 - ✓ ゲノム配列ファイル選択項目
- バイサルファイト配列
 - ✓ バイサルファイト配列直接入力フィールド
 - ✓ バイサルファイト配列ファイル選択項目
 - ✓ グループ名入力項目
- バイサルファイト配列2(統計解析モードで使用)
 - ✓ バイサルファイト配列直接入力フィールド
 - ✓ バイサルファイト配列ファイル選択項目
 - ✓ グループ名入力項目
- 配列品質条件設定項目
 - ✓ 4つの条件について、カットオフの値の設定
- バイサルファイト変換選択項目
 - ✓ 「C=>T 方向」、「G=>A 方向」、「自動判定」から選択
- 「リセット」ボタンと「実行」ボタン



5.4.3. オプションの非表示

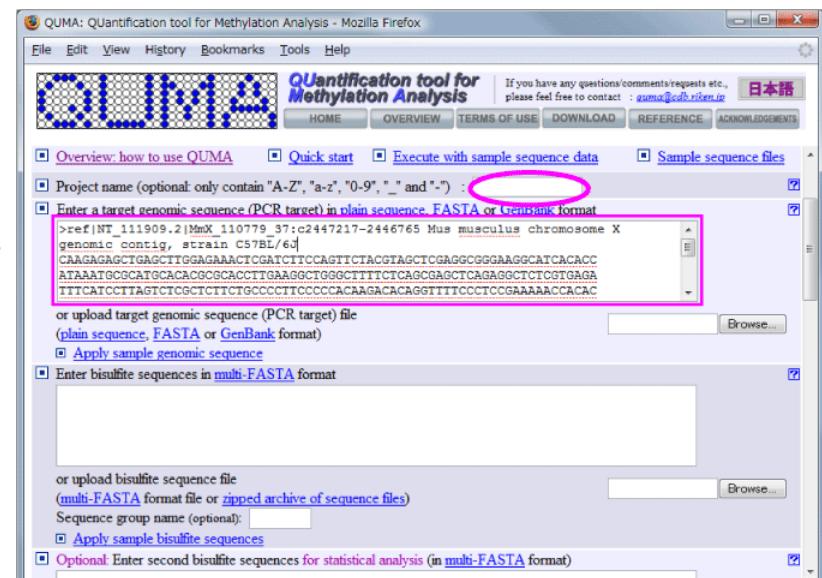
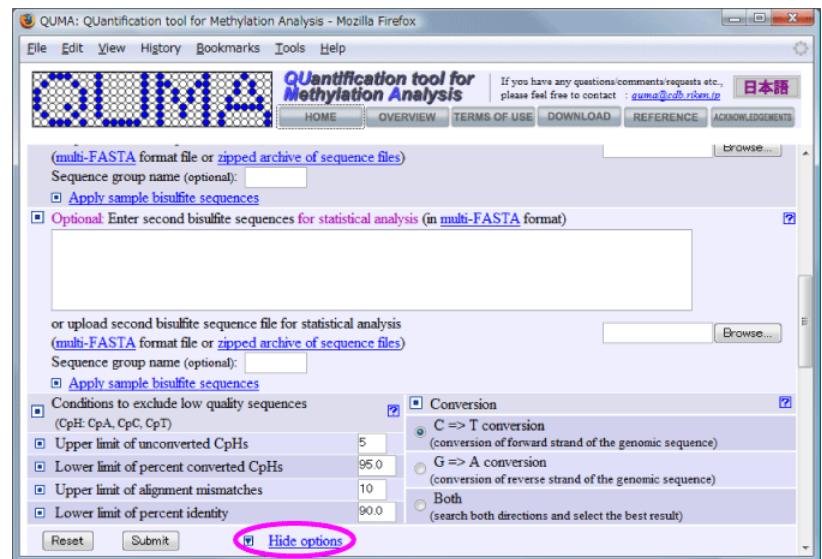
簡易トップページに戻る場合は、“オプションを隠す”のリンクをクリックします。

5.4.4. ゲノム配列の入力

プロジェクト名を入力します(オプション)。入力された場合は、解析結果ファイル名等にプロジェクト名が含まれるようになりますので、後でどんなデータかの識別が行いやすくなりますが、空のままでも問題ありません。プロジェクト名には半角の英数字と“-”、“_”以外は使用できません。

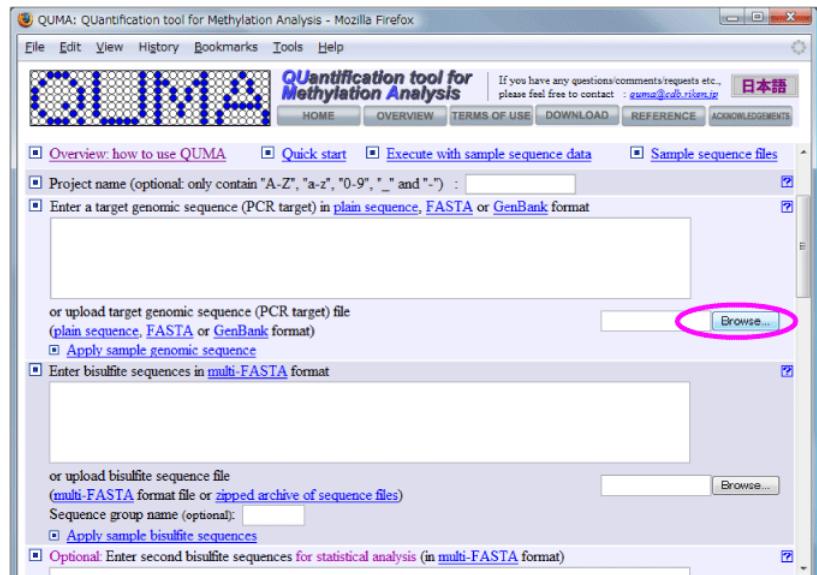
次に、ゲノム配列を入力します。ゲノム配列の入力方法は、①直接入力する方法、②ファイルをアップロードする方法、の2種類の方法があります。

①直接入力する場合は、ゲノム配列をコピー＆ペーストなどにより入力します。入力できるゲノム配列の形式は、[8.1. plain sequence 形式](#)、[8.2. FASTA 形式](#)または[8.3. GenBank 形式](#)になります。詳細は「[7.1. ゲノム配列について](#)」をご覧ください。



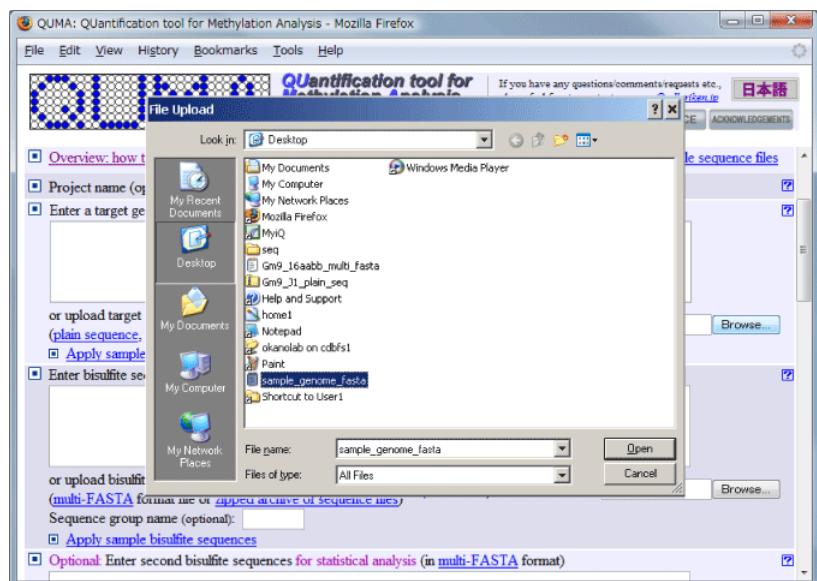
5.4.5. ゲノム配列ファイルの選択1

②ファイルをアップロードしてゲノム配列を入力する場合は、アップロードするファイルを選択するために一つ目のボタンをクリックします。
(この画面では“Browse...”ボタンですが、使用するブラウザによって表示が異なります。)



5.4.6. ゲノム配列ファイルの選択2

ファイル選択のためのダイアログが表示されますので、アップロードするゲノム配列ファイルを選択します。使用できるゲノム配列の形式についての詳細は「[7.1. ゲノム配列について](#)」をご覧ください。



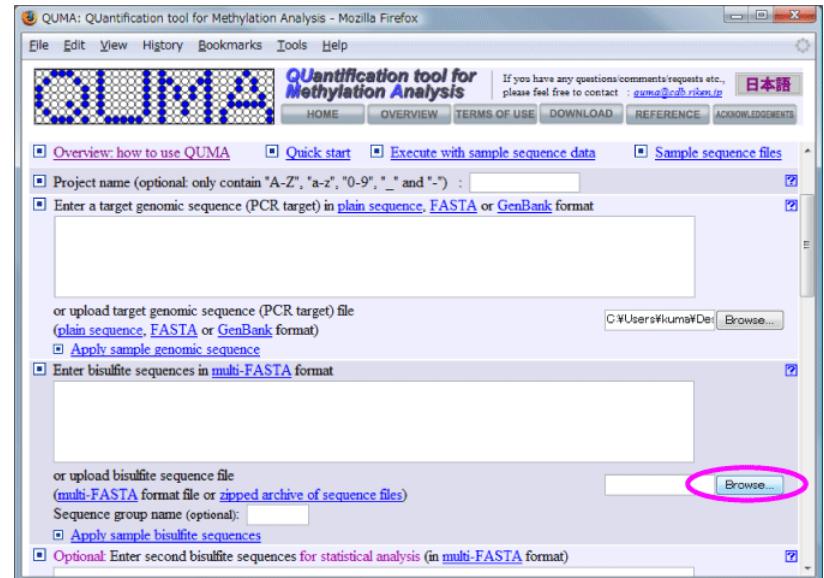
5.4.7. バイサルファイト配列の入力

バイサルファイト配列のグループ名を入力します(オプション)。入力された場合は、解析結果ファイル内にグループ名が含まれるようになりますので、後でどんなデータかの識別が行いやすくなりますが、空のままで問題ありません。次に、バイサルファイト配列を入力します。バイサルファイト配列の入力方法も、①直接入力する方法、②ファイルをアップロードする方法、の2種類の方法があります。

①直接入力する場合は、バイサルファイト配列をコピー & ペーストなどにより入力します。入力できるバイサルファイト配列の形式は、[8.4. Multi-FASTA 形式](#)のみです。詳細は「[7.2. バイサルファイト配列について](#)」をご覧ください。

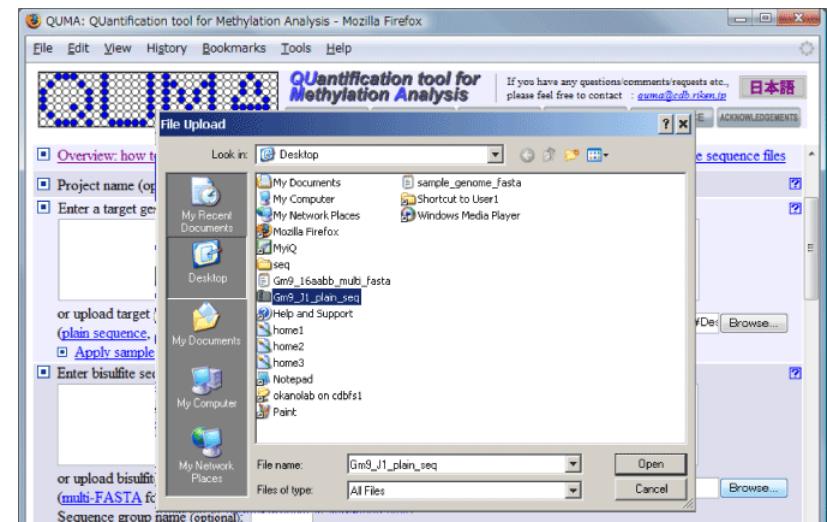
5.4.8. バイサルファイト配列ファイルの選択1

②ファイルをアップロードしてバイサルファイト配列を入力する場合は、アップロードするファイルを選択するために二つ目のボタンをクリックします。



5.4.9. バイサルファイト配列ファイルの選択2

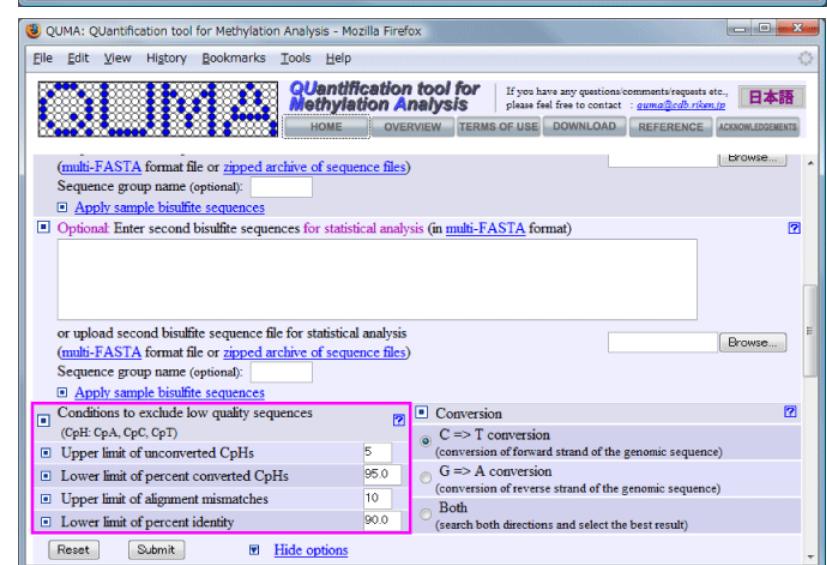
ファイル選択のためのダイアログが表示されますので、アップロードするバイサルファイト配列ファイルを選択します。使用可能なファイル形式は [8.4. Multi-FASTA 形式](#) または [8.5. 配列ファイルが入った zip 形式のアーカイブ\(圧縮フォルダ\)](#) です。使用できるバイサルファイト配列の形式についての詳細は、「[7.2. バイサルファイト配列について](#)」、「[8.6. zip 形式のアーカイブの作成方法\(マック\)](#)」、「[8.7. zip 形式の圧縮フォルダの作成方法\(Windows\)](#)」をご覧下さい。



5.4.10. バイサルファイト配列除外条件

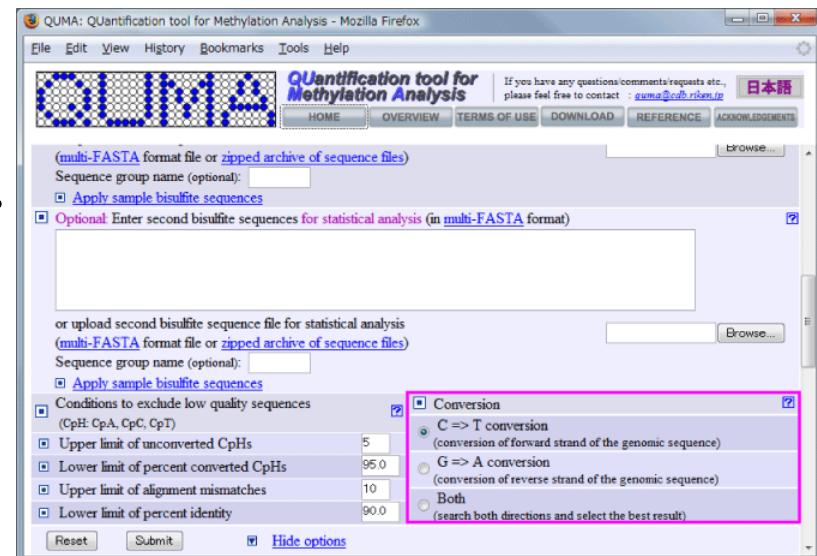
質の低いバイサルファイト配列の除去のための以下のパラメータを必要に応じて変更して下さい。

- バイサルファイト変換されなかった塩基の数の上限
 - ✓ 変換されなかった CpH (CpA, CpC, CpT) の数の上限です
- バイサルファイト変換効率の下限(%)
- “変換された CpH の数/すべての CpH の数”の下限値です
- ミスマッチの数の上限
 - ✓ ゲノム配列とのアライメントでのミスマッチ塩基数(ギャップを含む)の上限です
- 相同性の下限(%)
 - ✓ ゲノム配列とのアライメントでの相同性の下限値です



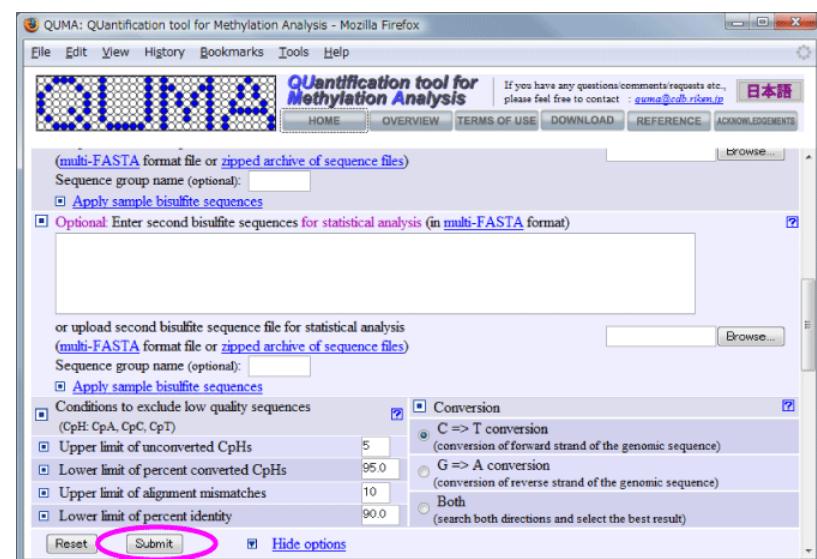
5.4.11. バイサルファイト変換方向

バイサルファイト変換が C=>T, G=>A のどちらの向きか、つまり入力したゲノム配列の forward/reverse 鎖のどちらの鎖がバイサルファイト変換されているとするか(どちらの側の鎖をバイサルファイト PCR で増幅しているか)を指定します。入力したゲノム配列に対してバイサルファイト PCR のプライマーが設計されている場合は“C=>T 変換”になります。ゲノム配列の逆鎖に対して PCR プライマーが設計されている場合は“G=>A 変換”を選択して下さい。“両方”を選択した場合は、両側鎖について解析が行われ、より確からしい結果が自動的に選択されます。



5.4.12. 解析の実行

“実行”ボタンをクリックして解析を開始します。多くの場合、数秒で結果が出ます。



5.5. 解析結果ページ

5.5.1. 解析結果ページ概要1

解析結果ページは以下の3つのセクションで構成されます。

A. 概要

B. 各 CpG サイトについてのメチル化状態の情報

C. 各バイサルファイト配列についての情報



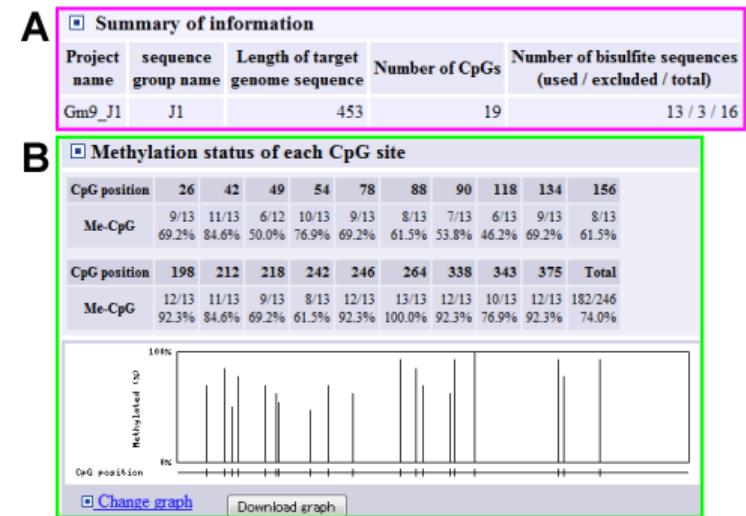
5.5.2. 解析結果ページ概要2

A) 概要

ゲノム配列長、CpG サイトの数、入力されたバイサルファイト配列の数、除外されたバイサルファイト配列の数等の情報が示されます。

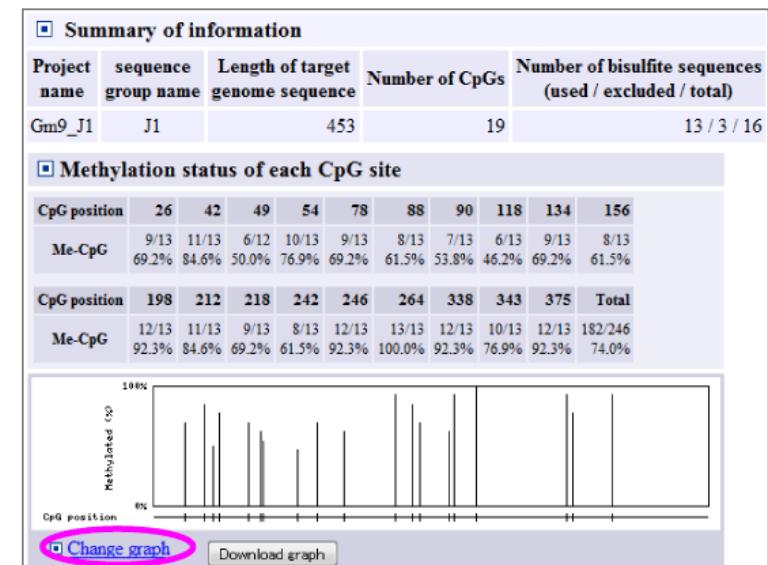
B) 各 CpG サイトについてのメチル化状態の情報

各 CpG サイトについて、その位置及びメチル化されていた CpG の割合が示されます。また、各 CpG サイトのメチル化の状態を表した概要図も表示されます。



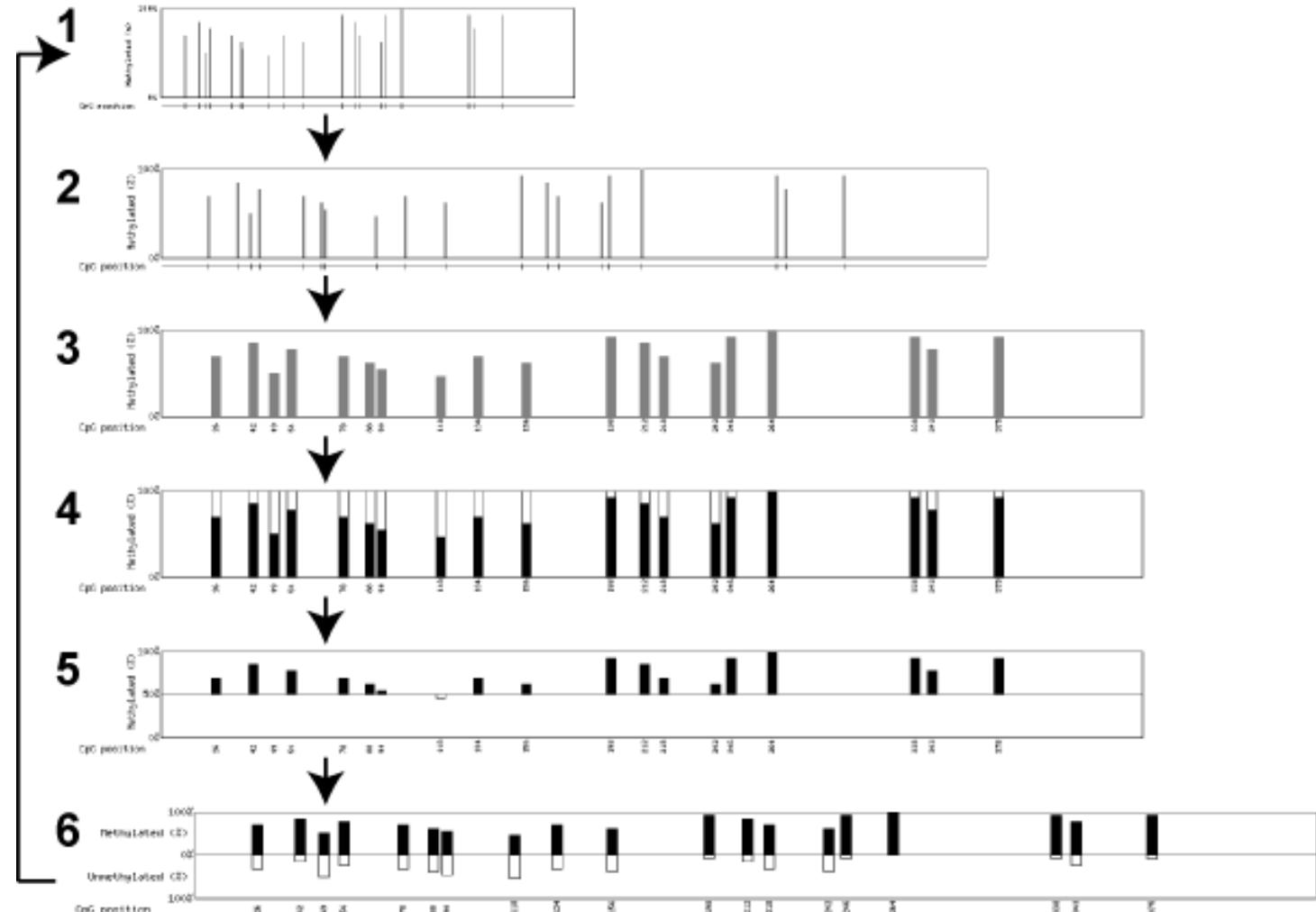
5.5.3. メチル化状態概要図の切り替え1

メチル化状態の概要図は“Change graph”的リンクをクリックすることで切り替えることができます。



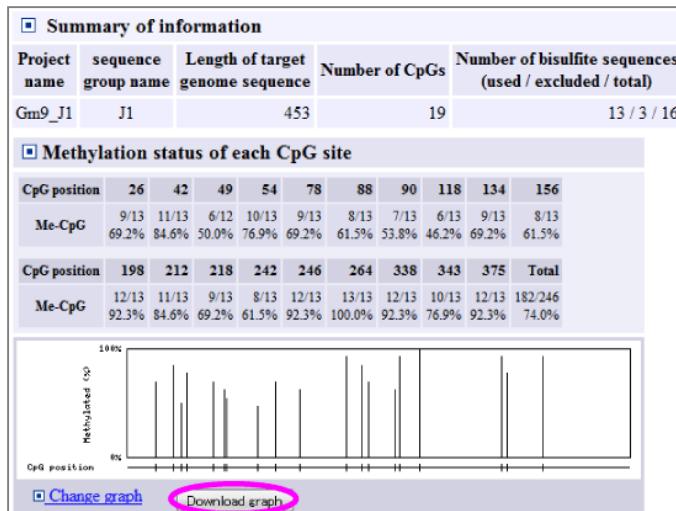
5.5.4. メチル化状態概要図の切り替え2

“Change graph”のリンクをクリックするごとに図が切り替わります。1と2の図は CpG の位置関係をほぼ正確に反映させた図ですが、3-6の図は正確な位置関係を反映させた図ではありません。



5.5.5. メチル化状態概要図のダウンロード

“Download graph”ボタンをクリックすることでメチル化状態の概要図をダウンロードすることができます(その時点で表示されている図がダウンロードされます)。



5.5.6. 解析結果ページ概要3

C) 各バイサルファイト配列についての情報

1. ゲノム配列とのアライメントでのミスマッチの数、相同性等
2. メチル化している CpG の数
3. バイサルファイト変換されなかった CpA, CpC, CpT の数
4. CpG のメチル化のパターン(黒丸がメチル化された CpG, 白丸がメチル化されていない CpG)

C Bisulfite sequence information

Show options

No.	order	exclude <small>unselect all</small>	Sequence name	mismatch (gap) / alignment length (% identity)	Me-CpG	unconverted (% converted)	Methylation pattern (or reason for the exclusion)
1	1	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_10	1 (1) / 453 (99.8)	6	2/131 (98.5)	ooooooooooooo*oooooooooooo
2	2	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_03	0 (0) / 453 (100.0)	6	0/131 (100.0)	ooooooooooooo*oooooooooooo
3	3	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_14	0 (0) / 453 (100.0)	8	0/131 (100.0)	ooooooooooooo*oooooooooooo
4	4	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_12	2 (2) / 454 (99.6)	9	0/130 (100.0)	ooooooooooooo*oooooooooooo
5	5	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_04	0 (0) / 453 (100.0)	12	0/131 (100.0)	ooooooooooooo*oooooooooooo
6	6	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_16	2 (0) / 453 (99.6)	15	1/131 (99.2)	ooooooooooooo*oooooooooooo
7	7	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_08	0 (0) / 453 (100.0)	16	0/131 (100.0)	ooooooooooooo*oooooooooooo
8	8	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_01	1 (0) / 453 (99.8)	18	0/130 (100.0)	ooooooooooooo*oooooooooooo
9	9	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_07	1 (1) / 453 (99.8)	18	0/130 (100.0)	ooooooooooooo*oooooooooooo
10	10	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_11	1 (0) / 453 (99.8)	18	1/131 (99.2)	ooooooooooooo*oooooooooooo
11	11	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_05	3 (0) / 453 (99.3)	18	2/131 (98.5)	ooo*oooooooooooo
12	12	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_02	1 (0) / 453 (99.8)	19	1/131 (99.2)	ooooooooooooo*oooooooooooo
13	13	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_13	1 (1) / 454 (99.8)	19	1/131 (99.2)	ooooooooooooo*oooooooooooo
14	14	<input checked="" type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_06	314 (248) / 633 (50.4)	1	22/112 (80.4)	mismatch, identity, unconverted, % converted
15	15	<input checked="" type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_09	241 (176) / 536 (55.0)	13	46/93 (50.5)	mismatch, identity, unconverted, % converted
16	16	<input checked="" type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_15	3 (1) / 453 (99.3)	18	66/130 (49.2)	unconverted, % converted

Reset Renew Show figure Download figure Download methylation status data Download alignment data

質が低いと判定されたバイサルファイト配列は除外されて、メチル化のパターン(4.)は表示されません。また、条件に引っかかった値が赤紫色で示されるとともに(1.及び 3.欄)、条件の種類がメチル化パターン欄(4.)に表示されます(下記参照)。除外のための条件の値は変更可能です ("[5.6.1. オプションの表示1](#)"を参照)。

- **mismatch:**
 - ✓ ゲノム配列とバイサルファイト配列のアライメントのミスマッチの数(ギャップを含む)が上限値を超えた場合です(デフォルト値は 10)。
 - ✓ これは、シークエンシングデータが汚い場合に起こります。
- **% ident**
 - ✓ ゲノム配列とバイサルファイト配列のアライメントの相同性(%)が下限値を下回った場合です(デフォルト値は 90%)。
 - ✓ これは、シークエンシングデータが汚い場合に起こります。
- **Unconv**
 - ✓ バイサルファイト変換で未変換の CpH(CpA, CpC, CpT)の数が、上限値を超えた場合です(デフォルト値は)。
 - ✓ これは、バイサルファイト変換が不完全だった場合に起こります。
- **% conv**
 - ✓ "変換された CpH の数" / "CpH の総数" の%値が下限を下回った場合です(デフォルト値は 95%)。
 - ✓ これは、バイサルファイト変換が不完全だった場合に起こります。
- **user desired**
 - ✓ これは、"exclude" 欄のチェックボックスをユーザがチェックした場合です。

5.5.7. アライメントの表示

数字のリンクをクリックするとアライメントページが開き、ゲノム配列とバイサルファイト配列のアライメント情報が表示されます。アライメントページについては、「[5.7. アライメントページ](#)」で解説されています。

Bisulfite sequence information							Show options
No.	order	exclude unselect all	Sequence name	mismatch (gap) / alignment length (% identity)	Me-CpG	unconverted (% converted)	Methylation pattern (or reason for the exclusion)
1	1	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_10	1 (1) / 453 (99.8)	6	2/131 (98.5)	oooooooooooooooooo
2	2	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_03	0 (0) / 453 (100.0)	6	0/131 (100.0)	oooooooooooooooooo
3	3	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_14	0 (0) / 453 (100.0)	8	0/131 (100.0)	oooooooooooooooooo
4	4	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_12	2 (2) / 454 (99.6)	9	0/130 (100.0)	oooooooooooooooooo
5	5	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_04	0 (0) / 453 (100.0)	12	0/131 (100.0)	oooooooooooooooo
6	6	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_16	2 (0) / 453 (99.6)	15	1/131 (99.2)	oooooooooooooooooo
7	7	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_08	0 (0) / 453 (100.0)	16	0/131 (100.0)	oooooooooooooooooo
8	8	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_01	1 (0) / 453 (99.8)	18	0/130 (100.0)	oooooooooooooooo
9	9	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_07	1 (1) / 453 (99.8)	18	0/130 (100.0)	oooooooooooooooo
10	10	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_11	1 (0) / 453 (99.8)	18	1/131 (99.2)	oooooooooooooooo
11	11	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_05	3 (0) / 453 (99.3)	18	2/131 (98.5)	ooo*oooooooooooo
12	12	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_02	1 (0) / 453 (99.8)	19	1/131 (99.2)	oooooooooooooooo
13	13	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_13	1 (1) / 454 (99.8)	19	1/131 (99.2)	oooooooooooooooo
14	14	<input checked="" type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_06	314 (248) / 633 (50.4)	1	22/112 (80.4)	mismatch, identity, unconverted, % converted
15	15	<input checked="" type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_09	241 (176) / 536 (55.0)	13	46/93 (50.5)	mismatch, identity, unconverted, % converted
16	16	<input checked="" type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_15	3 (1) / 453 (99.3)	18	66/130 (49.2)	unconverted, % converted

5.5.8. バイサルファイト配列の除外／非除外1

解析から除外したいバイサルファイト配列がある場合は、“exclude”チェックボックスをチェックします。また、既に除外されているバイサルファイト配列を解析に加える場合は、“exclude”チェックボックスのチェックを外します。そして、“Renew”ボタンをクリックします(二つある“Renew”ボタンのどちらでも構いません)。“unselect all”的リンクをクリックすると全てのチェックが外れます。

Bisulfite sequence information							Show options
No.	order	exclude unselect all	Sequence name	mismatch (gap) / alignment length (% identity)	Me-CpG	unconverted (% converted)	Methylation pattern (or reason for the exclusion)
1	1	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_10	1 (1) / 453 (99.8)	6	2/131 (98.5)	oooooooooooooooo
2	2	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_03	0 (0) / 453 (100.0)	6	0/131 (100.0)	oooooooooooooooo
3	3	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_14	0 (0) / 453 (100.0)	8	0/131 (100.0)	oooooooooooooooo
4	4	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_12	2 (2) / 454 (99.6)	9	0/130 (100.0)	oooooooooooooooo
5	5	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_04	0 (0) / 453 (100.0)	12	0/131 (100.0)	oooooooooooooooo
6	6	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_16	2 (0) / 453 (99.6)	15	1/131 (99.2)	oooooooooooooooo
7	7	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_08	0 (0) / 453 (100.0)	16	0/131 (100.0)	oooooooooooooooo
8	8	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_01	1 (0) / 453 (99.8)	18	0/130 (100.0)	oooooooooooooooo
9	9	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_07	1 (1) / 453 (99.8)	18	0/130 (100.0)	oooooooooooooooo
10	10	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_11	1 (0) / 453 (99.8)	18	1/131 (99.2)	oooooooooooooooo
11	11	<input checked="" type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_05	3 (0) / 453 (99.3)	18	2/131 (98.5)	ooo*oooooooooooo
12	12	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_02	1 (0) / 453 (99.8)	19	1/131 (99.2)	oooooooooooooooo
13	13	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_13	1 (1) / 454 (99.8)	19	1/131 (99.2)	oooooooooooooooo
14	14	<input checked="" type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_06	314 (248) / 633 (50.4)	1	22/112 (80.4)	mismatch, identity, unconverted, % converted
15	15	<input checked="" type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_09	241 (176) / 536 (55.0)	13	46/93 (50.5)	mismatch, identity, unconverted, % converted
16	16	<input checked="" type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_15	3 (1) / 453 (99.3)	18	66/130 (49.2)	unconverted, % converted

5.5.9. バイサルファイト配列の除外／非除外2

変更結果が反映されます。

Bisulfite sequence information							Show options
No.	order	exclude numbered	Sequence name	mismatch (gap) / alignment length (% identity)	Me- CpG	unconverted (% converted)	Methylation pattern (or reason for the exclusion)
1	1	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_10	1 (1) / 453 (99.8)	6	2/131 (98.5)	oooooooooooooooooooo
2	2	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_03	0 (0) / 453 (100.0)	6	0/131 (100.0)	oooooooooooooooooooo
3	8	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_14	0 (0) / 453 (100.0)	8	0/131 (100.0)	oooooooooooooooooooo
4	4	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_12	2 (2) / 454 (99.6)	9	0/130 (100.0)	oooooooooooooooooooo
5	5	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_04	0 (0) / 453 (100.0)	12	0/131 (100.0)	oooooooooooooooooooo
6	6	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_16	2 (0) / 453 (99.6)	15	1/131 (99.2)	oooooooooooooooooo
7	7	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_08	0 (0) / 453 (100.0)	16	0/131 (100.0)	oooooooooooooooooooo
8	8	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_01	1 (0) / 453 (99.8)	18	0/130 (100.0)	oooooooooooooooooooo
9	9	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_07	1 (1) / 453 (99.8)	18	0/130 (100.0)	oooooooooooooooooooo
10	10	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_11	1 (0) / 453 (99.8)	18	1/131 (99.2)	oooooooooooooooooooo
11	11	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_02	1 (0) / 453 (99.8)	19	1/131 (99.2)	oooooooooooooooooooo
12	12	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_13	1 (1) / 454 (99.8)	19	1/131 (99.2)	oooooooooooooooooooo
13	13	<input checked="" type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_05	3 (0) / 453 (99.3)	18	2/131 (98.5)	user desired
14	14	<input checked="" type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_06	314 (248) / 633 (50.4)	1	22/112 (80.4)	mismatch, identity, unconverted, % converted
15	15	<input checked="" type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_09	241 (176) / 536 (55.0)	13	46/93 (50.5)	mismatch, identity, unconverted, % converted
16	16	<input checked="" type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_15	3 (1) / 453 (99.3)	18	66/130 (49.2)	unconverted, % converted

5.5.10. バイサルファイト配列の並べ替え1

並べ替えたい配列の“order”欄の数値を変更します(数値の昇順に並べ替えられます)。そして、“Renew”ボタンをクリックします(二つある“Renew”ボタンのどちらでも構いません)。

5.5.11. バイサルファイト配列の並べ替え2
並べ替え結果が反映されます。

Bisulfite sequence information							Show options
No.	order	exclude mismatches	Sequence name	mismatch (gap) / alignment length (% identity)	Me- CpG	unconverted (% converted)	Methylation pattern (or reason for the exclusion)
1	1	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_16	2 (0) / 453 (99.6)	15	1/131 (99.2)	oooooooooooooooooooo
2	2	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_04	0 (0) / 453 (100.0)	12	0/131 (100.0)	oooooooooooooooooooo
3	3	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_12	2 (2) / 454 (99.6)	9	0/130 (100.0)	oooooooooooooooooooo
4	4	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_14	0 (0) / 453 (100.0)	8	0/131 (100.0)	oooooooooooooooooooo
5	5	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_03	0 (0) / 453 (100.0)	6	0/131 (100.0)	oooooooooooooooooooo
6	6	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_10	1 (1) / 453 (99.8)	6	2/131 (98.5)	oooooooooooooooooooo
7	7	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_08	0 (0) / 453 (100.0)	16	0/131 (100.0)	oooooooooooooooooooo
8	8	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_01	1 (0) / 453 (99.8)	18	0/130 (100.0)	oooooooooooooooooooo
9	9	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_07	1 (1) / 453 (99.8)	18	0/130 (100.0)	oooooooooooooooooooo
10	10	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_11	1 (0) / 453 (99.8)	18	1/131 (99.2)	oooooooooooooooooooo
11	11	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_05	3 (0) / 453 (99.3)	18	2/131 (98.5)	ooxoooooooooooo
12	12	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_02	1 (0) / 453 (99.8)	19	1/131 (99.2)	oooooooooooooooooooo
13	13	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_13	1 (1) / 454 (99.8)	19	1/131 (99.2)	oooooooooooooooooooo
14	14	<input checked="" type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_06	314 (248) / 633 (50.4)	1	22/112 (80.4)	mismatch, identity, unconverted, % converted
15	15	<input checked="" type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_09	241 (176) / 536 (55.0)	13	46/93 (50.5)	mismatch, identity, unconverted, % converted
16	16	<input checked="" type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_15	3 (1) / 453 (99.3)	18	66/130 (49.2)	unconverted, % converted

Bisulfite sequence information

[Show options](#)

[Reset](#) [Renew](#) [Show figure](#) [Download figure](#) [Download methylation status data](#) [Download alignment data](#)

No.	order	exclude methylated	Sequence name	mismatch (gap) / alignment length (% identity)	Me- CpG	unconverted (% converted)	Methylation pattern (or reason for the exclusion)
1	1	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_10	1 (1) / 453 (99.8)	6	2/131 (98.5)	oooooooooooooooooooooo
2	2	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_03	0 (0) / 453 (100.0)	6	0/131 (100.0)	ooooooooooooooooooooo
3	3	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_14	0 (0) / 453 (100.0)	8	0/131 (100.0)	ooooooooooooooooooo
4	4	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_12	2 (2) / 454 (99.6)	9	0/130 (100.0)	ooooooooooooooooooo
5	5	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_04	0 (0) / 453 (100.0)	12	0/131 (100.0)	ooooooooooooooooooo
6	6	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_16	2 (0) / 453 (99.6)	15	1/131 (99.2)	ooooooooooooooooooo
7	7	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_08	0 (0) / 453 (100.0)	16	0/131 (100.0)	ooooooooooooooooooo
8	8	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_01	1 (0) / 453 (99.8)	18	0/130 (100.0)	ooooooooooooooooooo
9	9	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_07	1 (1) / 453 (99.8)	18	0/130 (100.0)	ooooooooooooooooooo
10	10	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_11	1 (0) / 453 (99.8)	18	1/131 (99.2)	ooooooooooooooooooo
11	11	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_05	3 (0) / 453 (99.3)	18	2/131 (98.5)	ooooooooooooooooooo
12	12	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_02	1 (0) / 453 (99.8)	19	1/131 (99.2)	ooooooooooooooooooo
13	13	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_13	1 (1) / 454 (99.8)	19	1/131 (99.2)	ooooooooooooooooooo
14	14	<input checked="" type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_06	314 (248) / 633 (50.4)	1	22/112 (80.4)	mismatch, identity, unconverted, % converted
15	15	<input checked="" type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_09	241 (176) / 536 (55.0)	13	46/93 (50.5)	mismatch, identity, unconverted, % converted
16	16	<input checked="" type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_15	3 (1) / 453 (99.3)	18	66/110 (49.2)	unconverted, % converted

[Reset](#) [Renew](#) [Show figure](#) [Download figure](#) [Download methylation status data](#) [Download alignment data](#)

5.5.13. アライメントデータ

ダウンロードしたライメントデータのファイルはテキストエディット(マック)やメモ帳(Windows)などのテキストエディタで開くことができます。



5.5.14. 解析結果データダウンロード

“Download methylation status data”ボタンをクリックすると、解析結果データがダウンロードされます。

Bisulfite sequence information

[Show options](#)

No.	order	exclude mismatch all	Sequence name	mismatch (gap) / alignment length (%)	Me-CpG	unconverted (% converted)	Methylation pattern (or reason for the exclusion)
1	1	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_10	1 (1) / 453 (99.8)	6	2/131 (98.5)	ooooooooooooo●oooooooo
2	2	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_03	0 (0) / 453 (100.0)	6	0/131 (100.0)	ooooooooooooo●oooooooo
3	3	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_14	0 (0) / 453 (100.0)	8	0/131 (100.0)	ooooooooooooo●oooooooo
4	4	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_12	2 (2) / 454 (99.6)	9	0/130 (100.0)	ooooooooooooo●oooooooo
5	5	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_04	0 (0) / 453 (100.0)	12	0/131 (100.0)	ooooooooooooo●oooooooo
6	6	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_16	2 (0) / 453 (99.6)	15	1/131 (99.2)	ooooooooooooo●oooooooo
7	7	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_08	0 (0) / 453 (100.0)	16	0/131 (100.0)	ooooooooooooo●oooooooo
8	8	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_01	1 (0) / 453 (99.8)	18	0/130 (100.0)	ooooooooooooo●oooooooo
9	9	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_07	1 (1) / 453 (99.8)	18	0/130 (100.0)	ooooooooooooo●oooooooo
10	10	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_11	1 (0) / 453 (99.8)	18	1/131 (99.2)	ooooooooooooo●oooooooo
11	11	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_05	3 (0) / 453 (99.3)	18	2/131 (98.5)	●ooooooooooooo●oooooooo
12	12	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_02	1 (0) / 453 (99.8)	19	1/131 (99.2)	ooooooooooooo●oooooooo
13	13	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_13	1 (1) / 454 (99.8)	19	1/131 (99.2)	ooooooooooooo●oooooooo
14	14	<input checked="" type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_06	314 (248) / 633 (50.4)	1	22/112 (80.4)	mismatch, identity, unconverted, % converted
15	15	<input checked="" type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_09	241 (176) / 536 (55.0)	13	46/93 (50.5)	mismatch, identity, unconverted, % converted
16	16	<input checked="" type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_15	3 (1) / 453 (99.3)	18	66/130 (49.2)	unconverted, % converted

[Reset](#) [Renew](#) [Show figure](#) [Download figure](#) [Download methylation status data](#) [Download alignment data](#)

5.5.15. 解析結果データ

ダウンロードした解析結果データのファイルは見
マイクロソフトエクセル、オープンオフィス/スター
スイート等の表計算ソフトで開くことができます
(CSVファイル)。“10.1. CSV 形式のファイルの
開き方”も参照のこと。

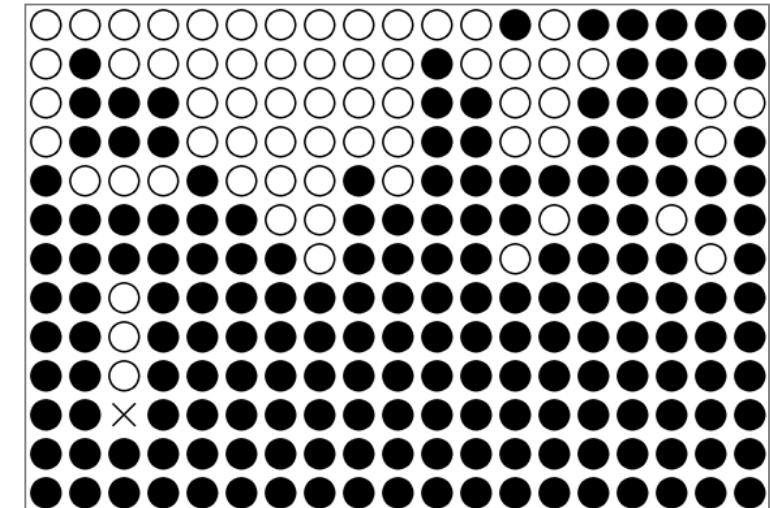
5.5.16. メチル化パターン図のダウンロード

“Download figure”ボタンをクリックすると、メチル化パターンを示す図がダウンロードされます。

Bisulfite sequence information							Show options
No.	order	exclude nonlocal	Sequence name	mismatch (gap) / alignment length (% identity)	Me-CpG	unconverted (%) converted)	Methylation pattern (or reason for the exclusion)
1			Gm9_J1_seq_10	1 (1) / 453 (99.8)	6	2/131 (98.5)	oooooooooooooo•ooooooooooooo
2			Gm9_J1_seq_03	0 (0) / 453 (100.0)	6	0/131 (100.0)	oooooooooooooo•ooooooooooooo
3			Gm9_J1_seq_14	0 (0) / 453 (100.0)	8	0/131 (100.0)	oooooooooooooo•ooooooooooooo
4			Gm9_J1_seq_12	2 (2) / 454 (99.6)	9	0/130 (100.0)	oooooooooooooo•ooooooooooooo
5			Gm9_J1_seq_04	0 (0) / 453 (100.0)	12	0/131 (100.0)	oooooooooooooo•ooooooooooooo
6			Gm9_J1_seq_16	2 (0) / 453 (99.6)	15	1/131 (99.2)	oooooooooooooo•ooooooooooooo
7			Gm9_J1_seq_08	0 (0) / 453 (100.0)	16	0/131 (100.0)	oooooooooooooo•ooooooooooooo
8			Gm9_J1_seq_01	1 (0) / 453 (99.8)	18	0/130 (100.0)	oooooooooooooo•ooooooooooooo
9			Gm9_J1_seq_07	1 (1) / 453 (99.8)	18	0/130 (100.0)	oooooooooooooo•ooooooooooooo
10			Gm9_J1_seq_11	1 (0) / 453 (99.8)	18	1/131 (99.2)	oooooooooooooo•ooooooooooooo
11			Gm9_J1_seq_05	3 (0) / 453 (99.3)	18	2/131 (98.5)	oooooooooooooo•ooooooooooooo
12			Gm9_J1_seq_02	1 (0) / 453 (99.8)	19	1/131 (99.2)	oooooooooooooo•ooooooooooooo
13			Gm9_J1_seq_13	1 (1) / 454 (99.8)	19	1/131 (99.2)	oooooooooooooo•ooooooooooooo
14		<input checked="" type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_06	314 (248) / 633 (50.4)	1	22/112 (80.4)	mismatch, identity, unconverted, % converted
15		<input checked="" type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_09	241 (176) / 536 (55.0)	13	46/93 (50.5)	mismatch, identity, unconverted, % converted
16		<input checked="" type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_15	3 (1) / 453 (99.3)	18	66/130 (49.2)	unconverted, % converted

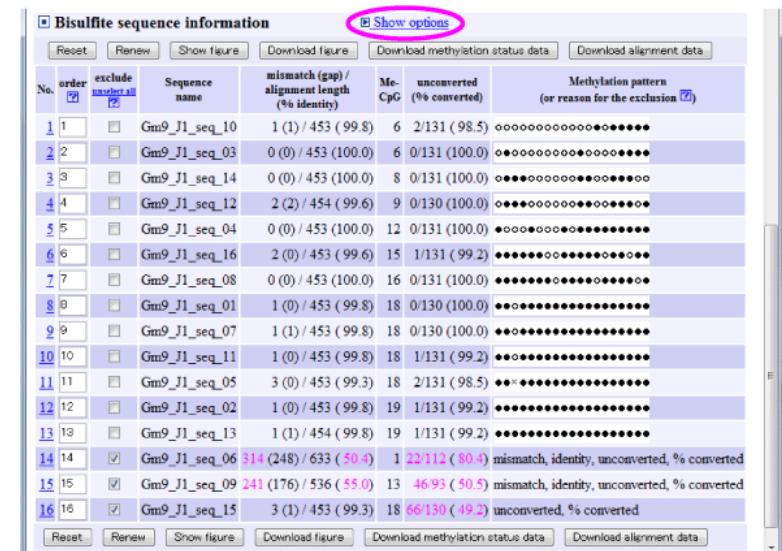
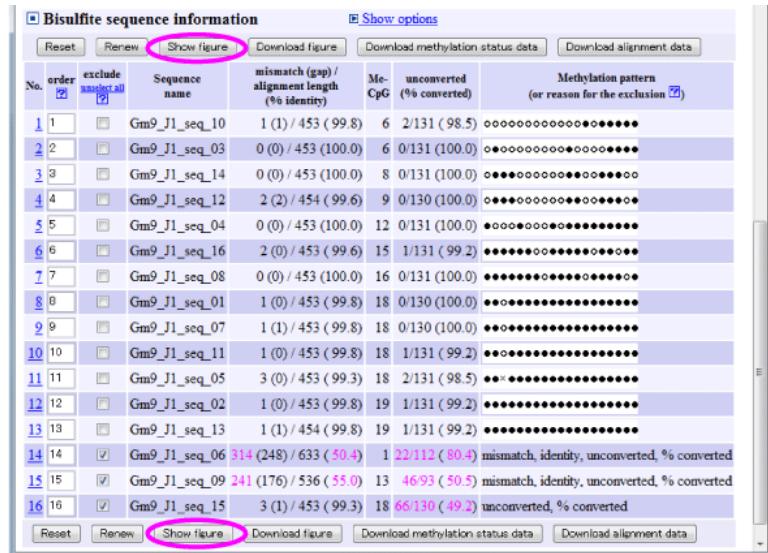
5.5.17. メチル化パターン図

解析結果画面で指定した順序及び配列の除外／非除外が反映された図が作成されます。黒丸がメチル化された CpG、白丸がメチル化されていない CpG を示します。ばつ印はアライメントでのミスマッチまたはギャップを示します。[5.8. 図作成ページ](#)では、線の太さの変更といった細かいパラメータを変更しての図の作成や、CpG の位置関係を考慮する図の作成などといった異なる形式での図の作成が可能です。



5.5.18. 図作成ページの表示

“Show figure”ボタンをクリックすると、図作成ページが表示され、様々な形式で細かい条件を指定してメチル化パターンを示す図が作成できます。図作成ページについては、「[5.8. 図作成ページ](#)」で解説されています。



5.6.2. オプションの表示2

オプション項目が表示されます。

Bisulfite sequence information						
Sorting conditions (CpH, CpA, CpG, CpT)		Conditions to exclude low quality sequences				
<input checked="" type="radio"/> user specified order	<input type="radio"/> number of methylated CpGs	Upper limit of unconverted CpHs : 5				
<input type="radio"/> number of unconverted CpHs	<input type="radio"/> percent converted CpHs	Lower limit of percent converted CpHs : 95.0				
<input type="radio"/> number of mismatches	<input type="radio"/> percent identity	Upper limit of alignment mismatches : 10				
<input type="radio"/> sequence name		Lower limit of percent identity : 90.0				
<input checked="" type="radio"/> ascending order	<input type="radio"/> descending order					
Reset	Renew	Show figure	Download figure	Download methylation status data	Download alignment data	Reset with new parameters

No.	order	exclude	Sequence name	mismatch (gap) / alignment length (% identity)	Me-CpG	unconverted (%) converted)	Methylation pattern (or reason for the exclusion)
1	1	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_10	1 (1) / 453 (99.8)	6	2/131 (98.5)	oooooooooooooo*****
2	2	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_03	0 (0) / 453 (100.0)	6	0/131 (100.0)	oooooooooooooo*****
3	3	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_14	0 (0) / 453 (100.0)	8	0/131 (100.0)	oooooooooooooo*****
4	4	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_12	2 (2) / 454 (99.6)	9	0/130 (100.0)	oooooooooooooo*****
5	5	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_04	0 (0) / 453 (100.0)	12	0/131 (100.0)	oooooooooooooo*****
6	6	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_16	2 (0) / 453 (99.6)	15	1/131 (99.2)	oooooooooooooo*****
7	7	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_08	0 (0) / 453 (100.0)	16	0/131 (100.0)	oooooooooooooo*****
8	8	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_01	1 (0) / 453 (99.8)	18	0/130 (100.0)	oooooooooooooo*****
9	9	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_07	1 (1) / 453 (99.8)	18	0/130 (100.0)	oooooooooooooo*****
10	10	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_11	1 (0) / 453 (99.8)	18	1/131 (99.2)	oooooooooooooo*****
11	11	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_05	3 (0) / 453 (99.3)	18	2/131 (98.5)	oooooooooooooo*****
12	12	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_02	1 (0) / 453 (99.8)	19	1/131 (99.2)	oooooooooooooo*****
13	13	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_13	1 (1) / 454 (99.8)	19	1/131 (99.2)	oooooooooooooo*****
14	14	<input checked="" type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_06	314 (248) / 633 (50.1)	1	22/112 (80.1)	mismatch, identity, unconverted, % converted
15	15	<input checked="" type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_09	241 (176) / 536 (55.0)	13	46/93 (50.1)	mismatch, identity, unconverted, % converted
16	16	<input checked="" type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_15	3 (1) / 453 (99.3)	18	66/130 (49.2)	unconverted, % converted

Bisulfite sequence information						
Sorting conditions (CpH, CpA, CpG, CpT)		Conditions to exclude low quality sequences				
<input checked="" type="radio"/> user specified order	<input type="radio"/> number of methylated CpGs	Upper limit of unconverted CpHs : 5				
<input type="radio"/> number of unconverted CpHs	<input type="radio"/> percent converted CpHs	Lower limit of percent converted CpHs : 95.0				
<input type="radio"/> number of mismatches	<input type="radio"/> percent identity	Upper limit of alignment mismatches : 10				
<input type="radio"/> sequence name		Lower limit of percent identity : 90.0				
<input checked="" type="radio"/> ascending order	<input type="radio"/> descending order					
Reset	Renew	Show figure	Download figure	Download methylation status data	Download alignment data	Reset with new parameters

No.	order	exclude	Sequence name	mismatch (gap) / alignment length (% identity)	Me-CpG	unconverted (%) converted)	Methylation pattern (or reason for the exclusion)
1	1	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_10	1 (1) / 453 (99.8)	6	2/131 (98.5)	oooooooooooooo*****
2	2	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_03	0 (0) / 453 (100.0)	6	0/131 (100.0)	oooooooooooooo*****
3	3	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_14	0 (0) / 453 (100.0)	8	0/131 (100.0)	oooooooooooooo*****
4	4	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_12	2 (2) / 454 (99.6)	9	0/130 (100.0)	oooooooooooooo*****
5	5	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_04	0 (0) / 453 (100.0)	12	0/131 (100.0)	oooooooooooooo*****
6	6	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_16	2 (0) / 453 (99.6)	15	1/131 (99.2)	oooooooooooooo*****
7	7	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_08	0 (0) / 453 (100.0)	16	0/131 (100.0)	oooooooooooooo*****
8	8	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_01	1 (0) / 453 (99.8)	18	0/130 (100.0)	oooooooooooooo*****
9	9	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_07	1 (1) / 453 (99.8)	18	0/130 (100.0)	oooooooooooooo*****
10	10	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_11	1 (0) / 453 (99.8)	18	1/131 (99.2)	oooooooooooooo*****
11	11	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_05	3 (0) / 453 (99.3)	18	2/131 (98.5)	oooooooooooooo*****
12	12	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_02	1 (0) / 453 (99.8)	19	1/131 (99.2)	oooooooooooooo*****
13	13	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_13	1 (1) / 454 (99.8)	19	1/131 (99.2)	oooooooooooooo*****
14	14	<input checked="" type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_06	314 (248) / 633 (50.1)	1	22/112 (80.1)	mismatch, identity, unconverted, % converted
15	15	<input checked="" type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_09	241 (176) / 536 (55.0)	13	46/93 (50.1)	mismatch, identity, unconverted, % converted
16	16	<input checked="" type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_15	3 (1) / 453 (99.3)	18	66/130 (49.2)	unconverted, % converted

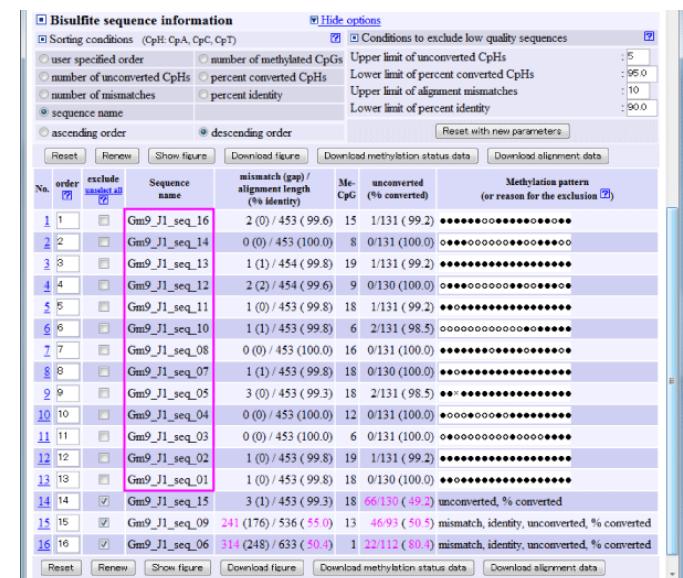
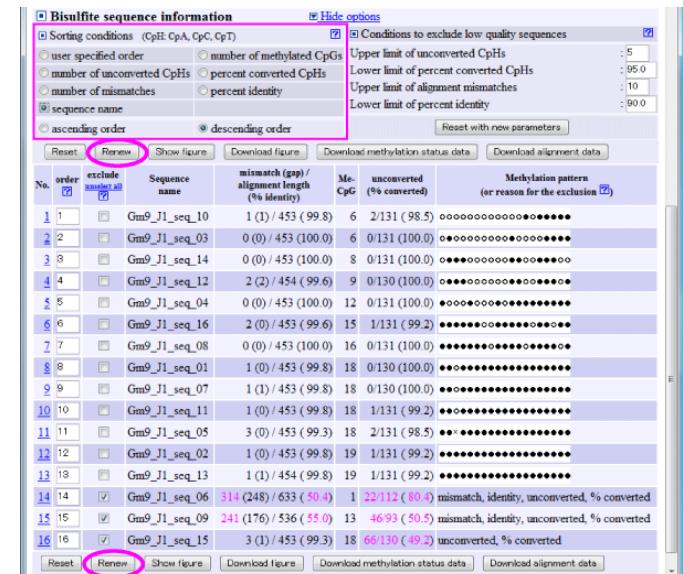
5.6.4. バイサルファイト配列の並べ替え1

色々な値での並べ替えが可能です。並べ替えに用いる項目及び昇順／降順を選びます。画面はバイサルファイト変換で未変換だった塩基数の降順で並べ替える例です。次に、“Renew”ボタンをクリックします(二つある“Renew”ボタンのどちらでも構いません)。

- user specified order
 - ✓ “order”欄の数値で並べ替え
- number of methylated CpGs
 - ✓ メチル化されている CpG の数で並べ替え
- number of unconvertions
 - ✓ バイサルファイト変換で未変換だった CpH (CpA, CpC, CpT) の数で並べ替え
- percent conversion
 - ✓ バイサルファイト変換効率(“変換された CpH の数/すべての CpH の数”)で並べ替え
- number of mismatches
 - ✓ ゲノム配列とのアライメントでのミスマッチ数で並べ替え
- percent identity
 - ✓ ゲノム配列とのアライメントでの相同性で並べ替え
- sequence names
 - ✓ 配列名で並べ替え
- ascending order 値の昇順で並べ替え
- descending order 値の降順で並べ替え

5.6.5. バイサルファイト配列の並べ替え2

並べ替え結果が反映されます。



5.6.6. バイサルファイト配列除外条件1

質の低いバイサルファイト配列の除去のためのパラメータが変更できます。値を変更したら、“Reset with new parameters”ボタンをクリックします(並べ替えた順序や、配列の除外／非除外についてもリセットされます)。

- Upper limit of unconversion
 - ✓ バイサルファイト変換で未変換だった CpH(CpA, CpC, CpT) の数の上限です
- Lower limit of percent conversion
 - ✓ バイサルファイト変換効率(“変換された CpH の数/すべての CpH の数”)の下限値です
- Upper limit of alignment mismatch
 - ✓ ゲノム配列とのアライメントでのミスマッチ塩基数(ギャップを含む)の上限です
- Lower limit of percent identity
 - ✓ ゲノム配列とのアライメントでの相同性の下限値です

5.6.7. バイサルファイト配列除外条件2

変更した条件が反映されます。

Bisulfite sequence information						
Sorting conditions (CpH, CpA, CpC, CpT)				Conditions to exclude low quality sequences		
<input checked="" type="radio"/> user specified order	<input type="radio"/> number of methylated CpGs	Upper limit of unconverted CpHs	: 1	<input type="radio"/> number of unconverted CpHs	Lower limit of percent converted CpHs	: 99
<input type="radio"/> number of unconverted CpHs	<input type="radio"/> percent converted CpHs	Upper limit of percent converted CpHs	: 99	<input type="radio"/> number of mismatches	Upper limit of alignment mismatches	: 1
<input type="radio"/> number of mismatches	<input type="radio"/> percent identity	Lower limit of alignment mismatches	: 99	<input type="radio"/> sequence name	Lower limit of percent identity	: 99
<input type="radio"/> sequence name				<input type="radio"/> ascending order	<input type="radio"/> descending order	
						Reset with new parameters
				Reset	Review	Show figure
				Download figure	Download methylation status data	Download alignment data

No. order exclude Sequence name mismatch (gap) / alignment length (% identity) Me-CpG unconverted (% converted) Methylation pattern (or reason for the exclusion)

1	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_10	1 (1) / 453 (99.8)	6	2/131 (98.5)	ooooooooooooo*****
2	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_03	0 (0) / 453 (100.0)	6	0/131 (100.0)	ooooooooooooo*****
3	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_14	0 (0) / 453 (100.0)	8	0/131 (100.0)	ooooooooooooo*****
4	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_12	2 (2) / 454 (99.6)	9	0/130 (100.0)	ooooooooooooo*****
5	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_04	0 (0) / 453 (100.0)	12	0/131 (100.0)	ooooooooooooo*****
6	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_16	2 (0) / 453 (99.6)	15	1/131 (99.2)	*****ooooooooooooo*****
7	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_08	0 (0) / 453 (100.0)	16	0/131 (100.0)	*****ooooooooooooo*****
8	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_01	1 (0) / 453 (99.8)	18	0/130 (100.0)	*****ooooooooooooo*****
9	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_07	1 (1) / 453 (99.8)	18	0/130 (100.0)	*****ooooooooooooo*****
10	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_11	1 (0) / 453 (99.8)	18	1/131 (99.2)	*****ooooooooooooo*****
11	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_05	3 (0) / 453 (99.3)	18	2/131 (98.5)	*****ooooooooooooo*****
12	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_02	1 (0) / 453 (99.8)	19	1/131 (99.2)	*****ooooooooooooo*****
13	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_13	1 (1) / 454 (99.8)	19	1/131 (99.2)	*****ooooooooooooo*****
14	<input checked="" type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_06	314 (248) / 633 (50.4)	1	22/112 (80.4)	mismatch, identity, unconverted, % converted
15	<input checked="" type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_09	241 (176) / 536 (55.0)	13	46/93 (50.5)	mismatch, identity, unconverted, % converted
16	<input checked="" type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_15	3 (1) / 453 (99.3)	18	66/130 (49.2)	unconverted, % converted

[Reset](#) [Review](#) [Show figure](#) [Download figure](#) [Download methylation status data](#) [Download alignment data](#)

Bisulfite sequence information						
Sorting conditions (CpH, CpA, CpC, CpT)				Conditions to exclude low quality sequences		
<input checked="" type="radio"/> user specified order	<input type="radio"/> number of methylated CpGs	Upper limit of unconverted CpHs	: 1	<input type="radio"/> number of unconverted CpHs	Lower limit of percent converted CpHs	: 99
<input type="radio"/> number of unconverted CpHs	<input type="radio"/> percent converted CpHs	Upper limit of percent converted CpHs	: 99	<input type="radio"/> number of mismatches	Upper limit of alignment mismatches	: 1
<input type="radio"/> number of mismatches	<input type="radio"/> percent identity	Lower limit of alignment mismatches	: 99	<input type="radio"/> sequence name	Lower limit of percent identity	: 99
<input type="radio"/> sequence name				<input type="radio"/> ascending order	<input type="radio"/> descending order	
						Reset with new parameters
				Reset	Review	Show figure
				Download figure	Download methylation status data	Download alignment data

No. order exclude Sequence name mismatch (gap) / alignment length (% identity) Me-CpG unconverted (% converted) Methylation pattern (or reason for the exclusion)

1	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_03	0 (0) / 453 (100.0)	6	0/131 (100.0)	ooooooooooooo*****
2	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_14	0 (0) / 453 (100.0)	8	0/131 (100.0)	ooooooooooooo*****
3	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_04	0 (0) / 453 (100.0)	12	0/131 (100.0)	ooooooooooooo*****
4	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_08	0 (0) / 453 (100.0)	16	0/131 (100.0)	*****ooooooooooooo*****
5	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_01	1 (0) / 453 (99.8)	18	0/130 (100.0)	*****ooooooooooooo*****
6	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_07	1 (1) / 453 (99.8)	18	0/130 (100.0)	*****ooooooooooooo*****
7	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_11	1 (0) / 453 (99.8)	18	1/131 (99.2)	*****ooooooooooooo*****
8	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_02	1 (0) / 453 (99.8)	19	1/131 (99.2)	*****ooooooooooooo*****
9	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_13	1 (1) / 454 (99.8)	19	1/131 (99.2)	*****ooooooooooooo*****
10	<input checked="" type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_06	314 (248) / 633 (50.4)	1	22/112 (80.4)	mismatch, identity, unconverted, % converted
11	<input checked="" type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_10	1 (1) / 453 (99.8)	6	2/131 (98.5)	unconverted, % converted
12	<input checked="" type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_12	2 (2) / 454 (99.6)	9	0/130 (100.0)	mismatch
13	<input checked="" type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_09	241 (176) / 536 (55.0)	13	46/93 (50.5)	mismatch, identity, unconverted, % converted
14	<input checked="" type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_16	2 (0) / 453 (99.6)	15	1/131 (99.2)	mismatch
15	<input checked="" type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_15	3 (1) / 453 (99.3)	18	66/130 (49.2)	mismatch, unconverted, % converted
16	<input checked="" type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_05	3 (0) / 453 (99.3)	18	2/131 (98.5)	mismatch, unconverted, % converted

[Reset](#) [Review](#) [Show figure](#) [Download figure](#) [Download methylation status data](#) [Download alignment data](#)

5.7. アライメントページ

5.7.1. アライメントページ概要

アライメントページには以下の4つの情報が表示されます。

A) 概要

アライメントに関する各種情報が表示されます

B) ゲノム配列

C) バイナルファイト配列

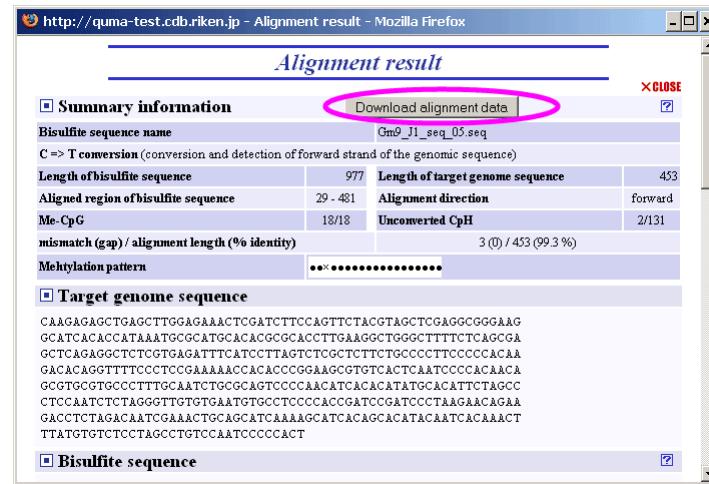
ゲノム配列とアライメントされなかつた領域は薄い色で示されます。

D) アライメント

CpG サイトのメチル化されている C、CpG サイトのメチル化されていない C、バイサルファイト変換されなかった C(CpA, CpC, CpT) などは違う色で表示されます。



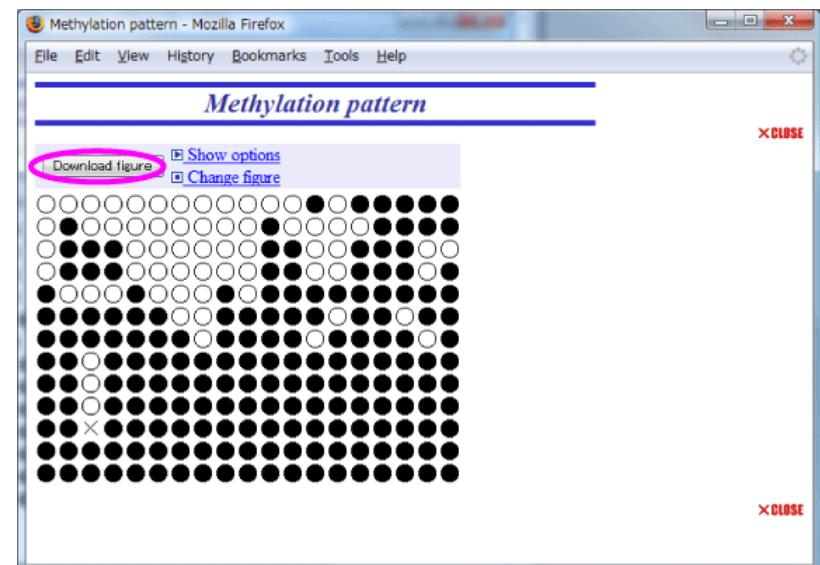
5.7.2. アライメントデータダウンロード
“Download alignment data”ボタンをクリックすると、このバイナルファイル配列についてのアライメントデータがダウンロードされます。



5.8. 図作成ページ

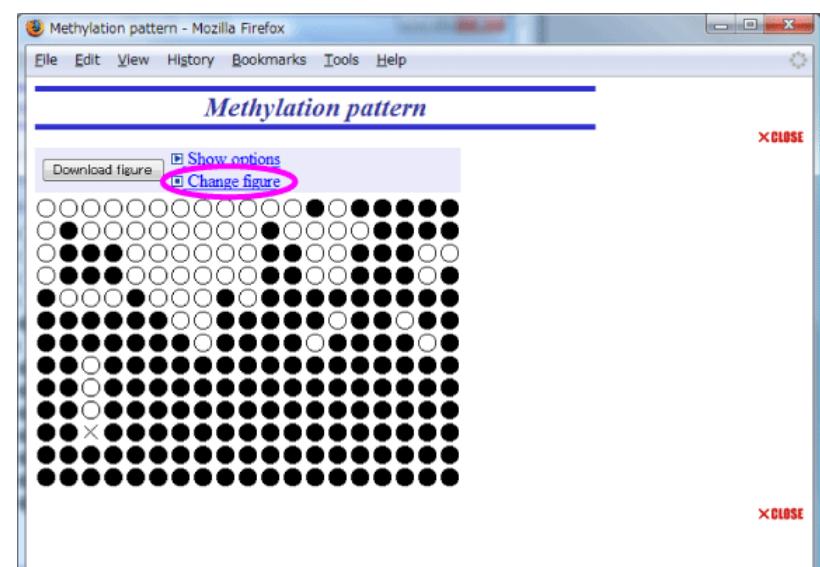
5.8.1. メチル化パターン図のダウンロード

“Download figure”ボタンをクリックすると、メチル化パターンを示す図がダウンロードされます。図の切り替えを行った場合等も表示されている図がダウンロードされます。



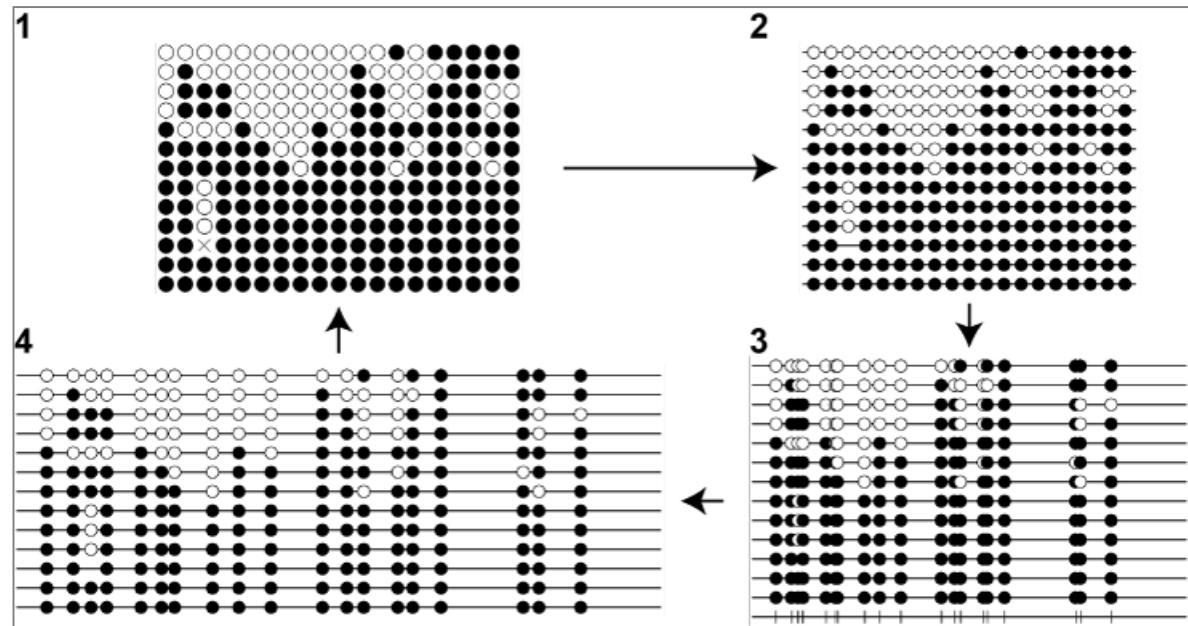
5.8.2. 図の切り替え1

“Change figure”リンクをクリックする度に図の種類が切り替わります。



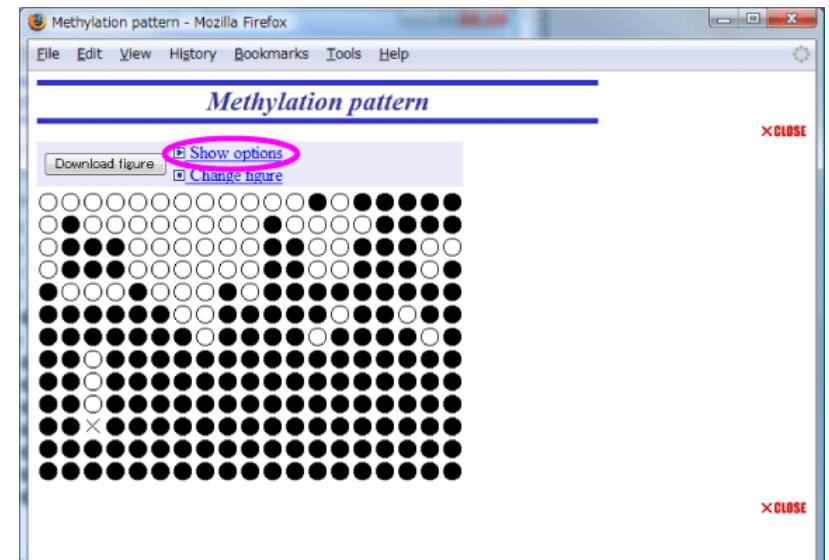
5.8.3. 図の切り替え2

右図の4種類の図が順に表示されます。



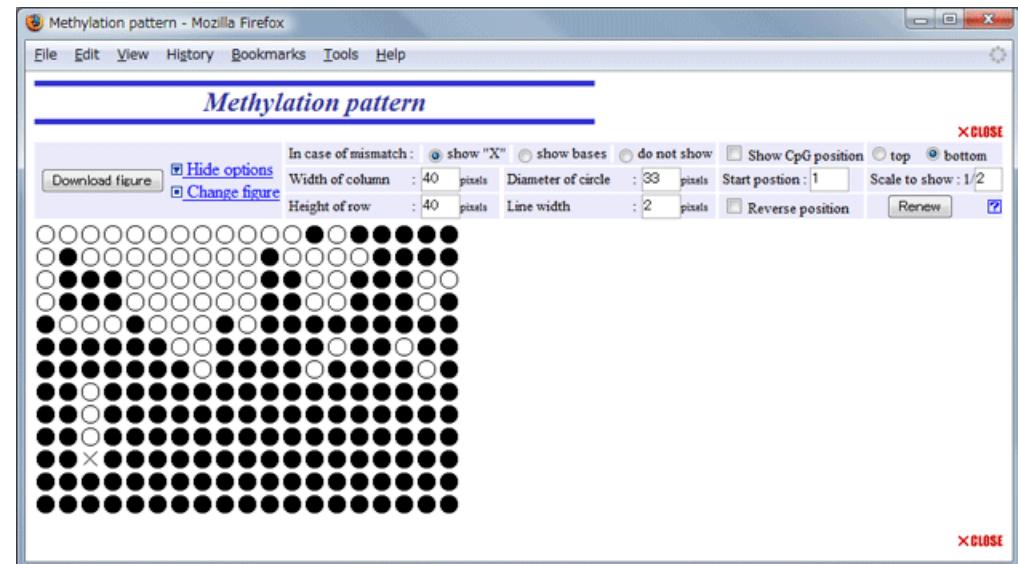
5.8.4. オプションの表示

“Show options”リンクをクリックすると、オプション項目が表示されます。



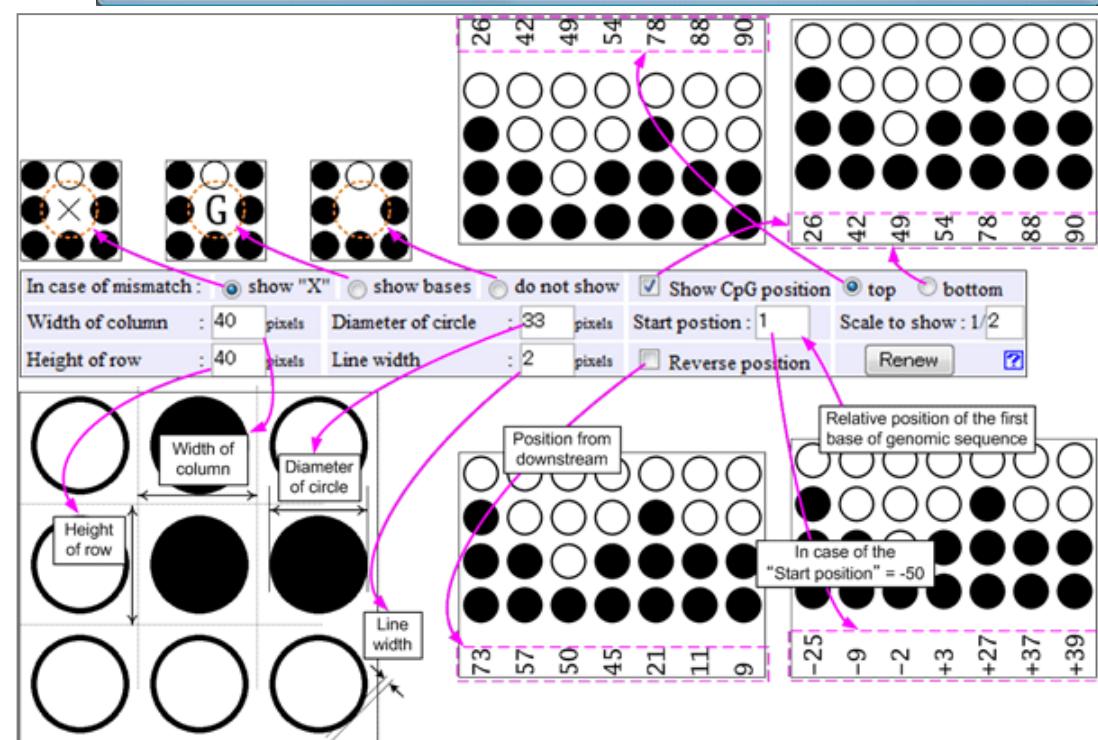
5.8.5. 図の種類1

この図ではゲノム配列上の CpG の位置に関係なく等間隔でメチル化の状態が表示されます。



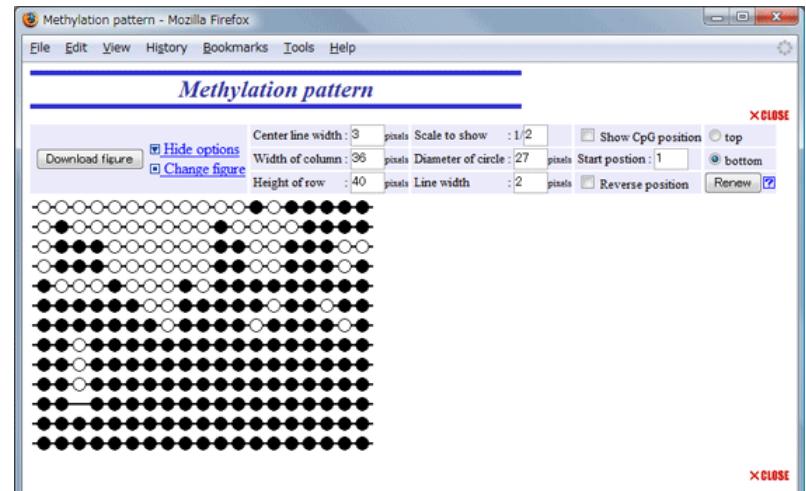
5.8.6. 図の種類1のオプション

各オプションパラメータの意味を右図に示します。また、“Scale to show”は実際の画像のサイズに対して、どれだけの大きさに画面で表示するかを意味します。“Renew”ボタンをクリックすると変更したオプションパラメータが反映されます。



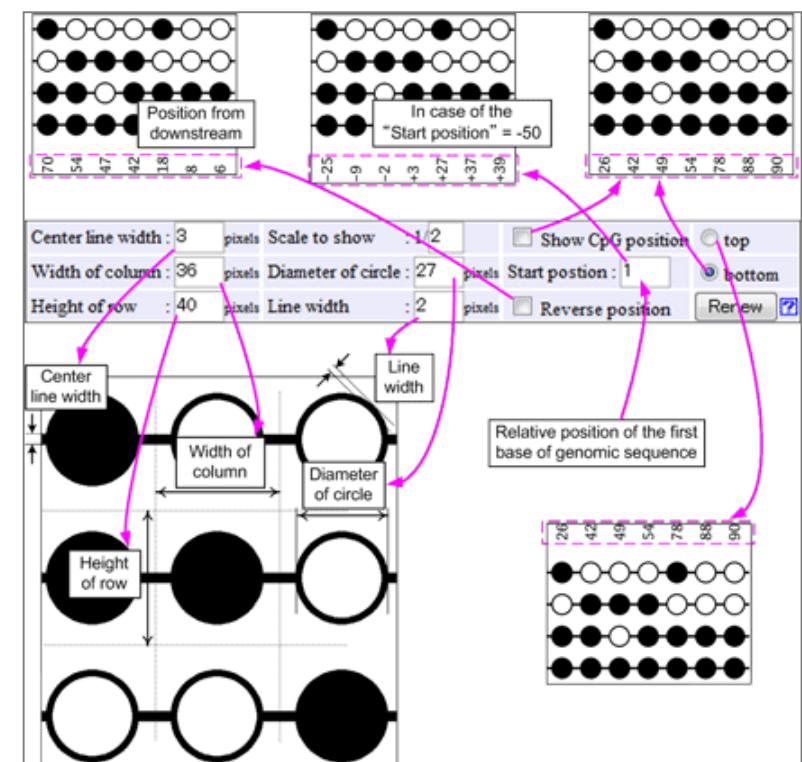
5.8.7. 図の種類2

この図は各バイサルファイト配列ごとに中心線を表示した図で、ゲノム配列上の CpG の位置に関係なく等間隔でメチル化の状態が表示されます。



5.8.8. 図の種類2のオプション

各オプションパラメータの意味を右図に示します。また、“Scale to show”は実際の画像のサイズに対して、どれだけの大きさに画面で表示するかを意味します。“Renew”ボタンをクリックすると変更したオプションパラメータが反映されます。



5.8.9. 図の種類3

この図は、ゲノム配列上の CpG の位置をほぼ正確に反映させた図ですが、CpG が隣接している場合は丸が重なってしまいます(CpG が疎な領域向き)。

5.8.10. 図の種類3のオプション

各オプションパラメータの意味を右図に示します。また、“Scale to show”は実際の画像のサイズに対して、どれだけの大きさに画面で表示するかを意味します。“Renew”ボタンをクリックすると変更したオプションパラメータが反映されます。

CpG サイトを意味する丸の中心間の間隔は

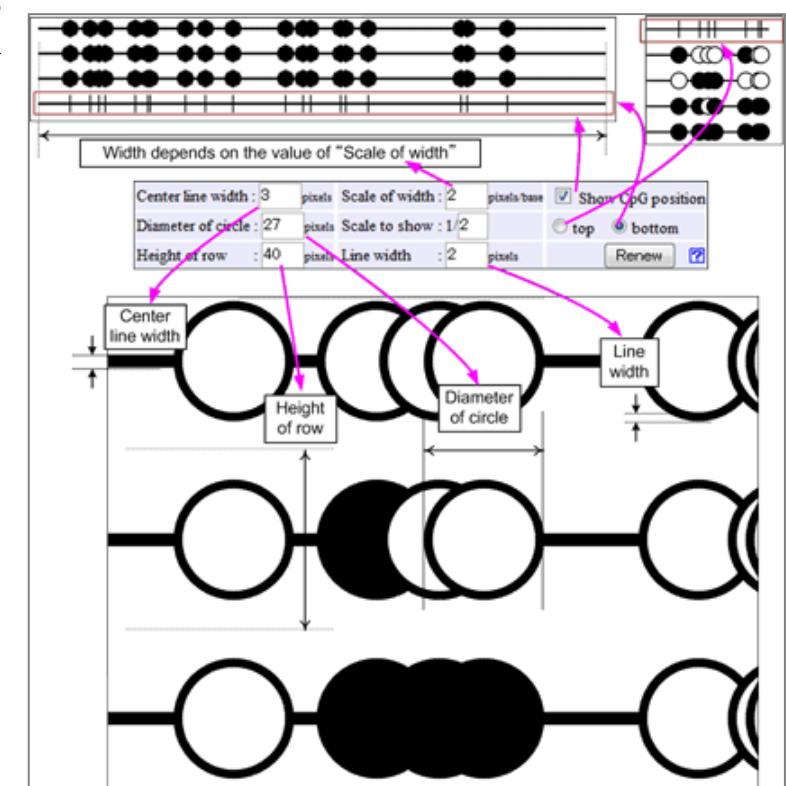
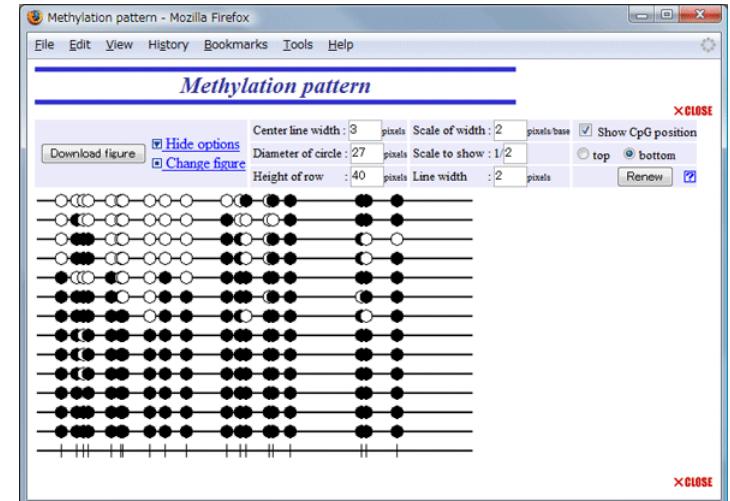
(CpG サイトの位置の差) × (“Scale of width”の値)

となり、

Center line の幅は

(塩基配列長) × (“Scale of width”の値)

となります。



5.8.11. 図の種類4

この図では、ゲノム配列上の CpG の位置をある程度は反映させていますが、CpG が隣接している場合に重ならないように表示しているため、正確な配置ではありません。

5.8.12. 図の種類4のオプション

各オプションパラメータの意味を左図に示します。また、“Scale to show”は実際の画像のサイズに対して、どれだけの大きさで画面で表示するかを意味します。“Renew”ボタンをクリックすると変更したオプションパラメータが反映されます。

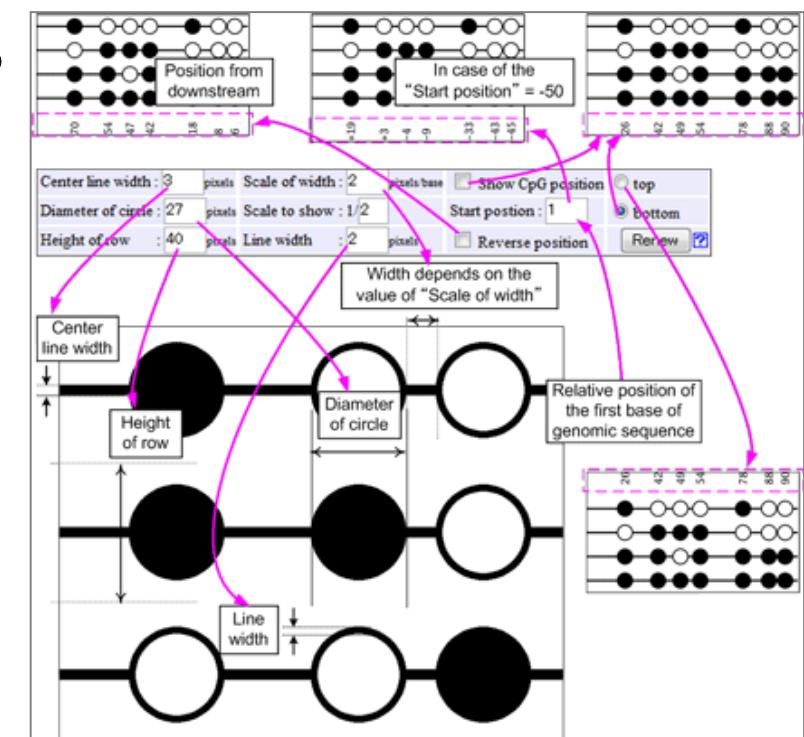
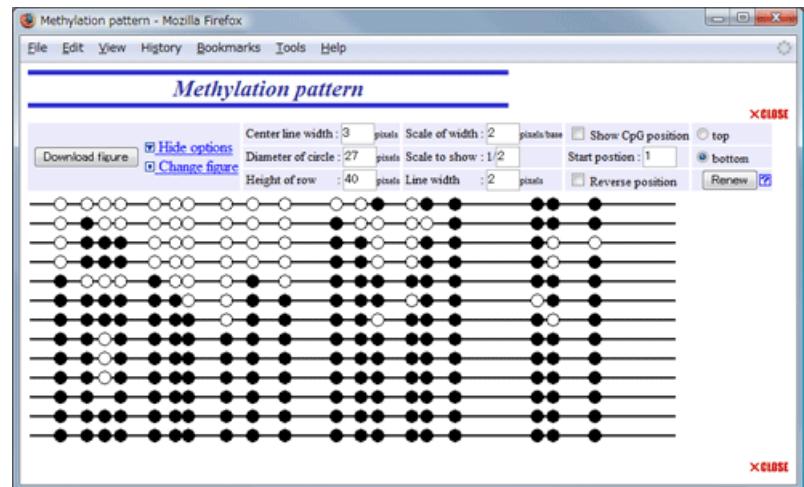
CpG サイトを意味する丸の間隔(丸自体を含まず)は
(CpG サイトの位置の差 - 2) × (“Scale of width”の値)

となり、

丸の中心間の間隔は

(CpG サイトの位置の差 - 2) × (“Scale of width”の値)
+ (“Diameter of circle”の値)

となります。

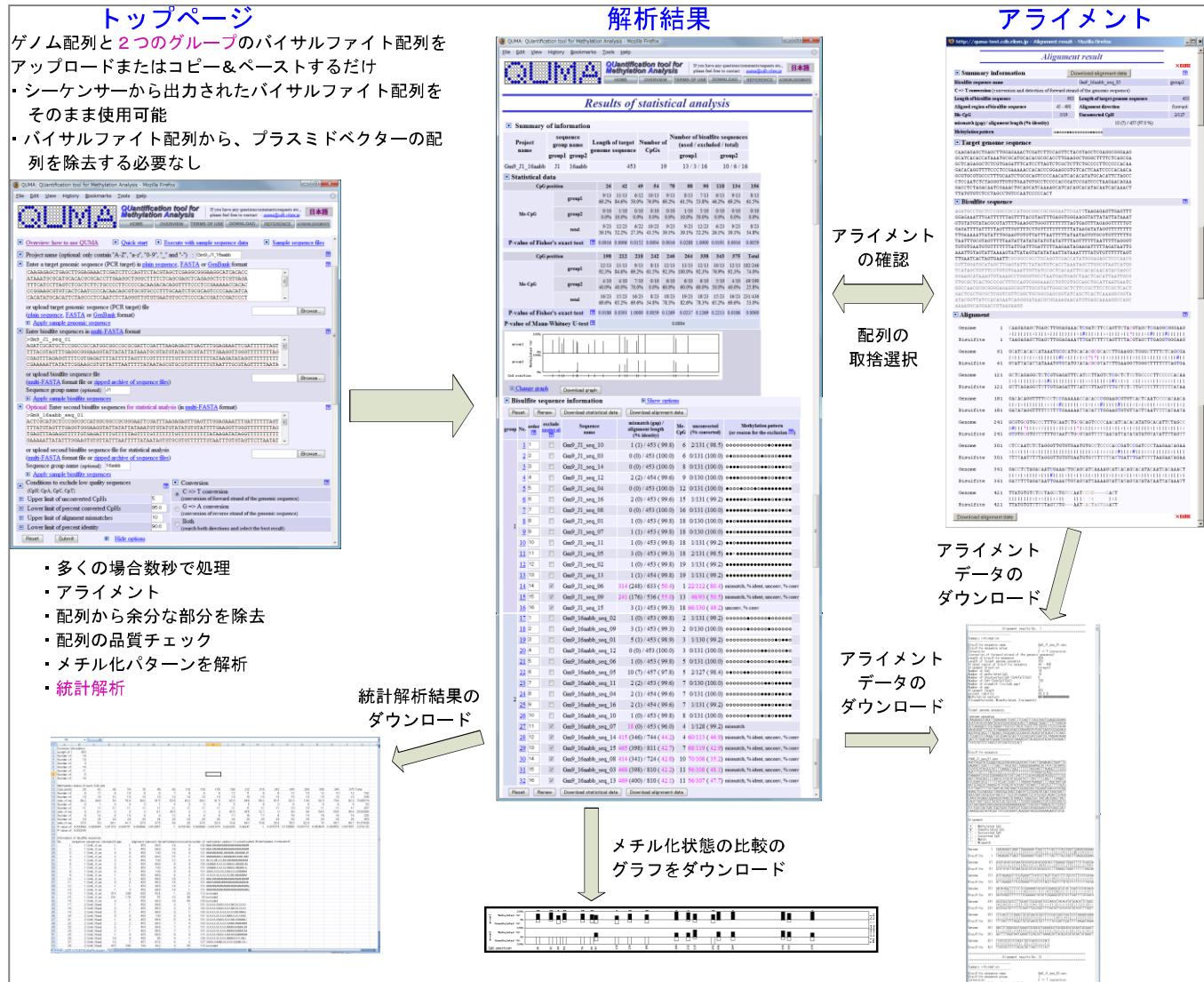


6. 統計解析モードの使い方

6.1. 画面構成と特徴

QUMA の統計解析モードは右図のような画面構成になっており、メチル化状態解析モードとは以下の違いが有ります。

- ゲノム配列と2つのグループのバイサルファイト配列を入力として使用
- メチル化状態比較の概要図を提供
- メチル化パターン図の作成機能は無し
- 各 CpG サイトのメチル化についての 2 つのグループ間での違いの統計的有意性は [9.1. フィッシャーの正確確率検定](#)で調べています
- 全ての CpG サイトを含めたメチル化についての 2 つのグループ間での違いの統計的有意性は [9.2. マンホイットニーの U 検定](#)で調べています



6.2. トップページ

6.2.1. オプションの表示

“オプションを表示する”のリンクをクリックしてオプションを表示します。
(下図)

The screenshot shows the QUMA homepage. At the bottom right of the main content area, there is a link labeled "Show options" with a red oval drawn around it.

6.2.2. オプション項目

オプションの項目が表示されます。(右図)

ゲノム配列と2つのグループのバイサルファイト配列を入力するための、
3つの配列入力フィールドが現れます。

The screenshot shows the "Options" page of QUMA. It features three main input fields:

- Upload target genomic sequence (PCR target) file:** (plain sequence, FASTA or GenBank format). Includes a "Browse..." button and a note: "The genomic sequence must be an unconverted sequence between PCR primer pair (not necessary to convert "C" to "T")."
- Upload bisulfite sequence file:** (multi-FASTA format file or zipped archive of sequence files). Includes a "Browse..." button and a note: "Raw sequence data can be used. Removal of plasmid vector sequence is not necessary."
- Optional: Enter second bisulfite sequences for statistical analysis (in multi-FASTA format):** Includes a "Browse..." button and a note: "upload second bisulfite sequence file for statistical analysis (multi-FASTA format file or zipped archive of sequence files). Sequence group name (optional):".

Below these fields is a section titled "Conditions to exclude low quality sequences (CpG, CpC, CpT)":

- Upper limit of unconverted CpGs: 5
- Lower limit of percent converted CpGs: 95.0
- Upper limit of alignment mismatches: 10
- Lower limit of percent identity: 90.0

On the right side, there is a "Conversion" section with three radio button options:

- C => T conversion (conversion of forward strand of the genomic sequence)
- G => A conversion (conversion of reverse strand of the genomic sequence)
- Both (search both directions and select the best result)

6.2.3. ゲノム配列の入力

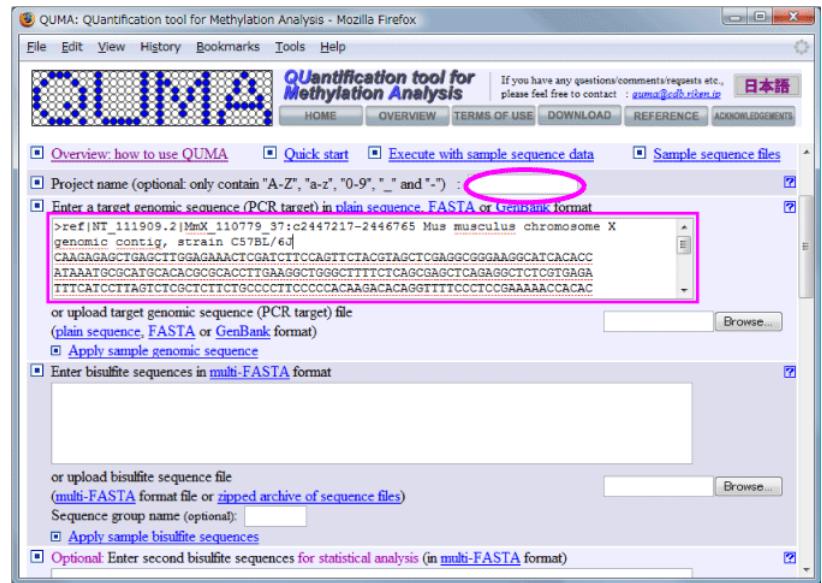
プロジェクト名を入力します(オプション)。入力された場合は、解析結果ファイル名等にプロジェクト名が含まれるようになりますので、後でどんなデータかの識別が行いやすくなりますが、空のままでも問題ありません。プロジェクト名には半角の英数字と“-”、“_”以外は使用できません。

次に、ゲノム配列を入力します。ゲノム配列の入力方法は、①直接入力する方法、②ファイルをアップロードする方法、の2種類の方法があります。

①直接入力する場合は、ゲノム配列をコピー & ペーストなどにより入力します。入力できるゲノム配列の形式は、[8.1. plain sequence 形式](#)、[8.2. FASTA 形式](#)または[8.3. GenBank 形式](#)になります。詳細は「[7.1. ゲノム配列について](#)」をご覧ください。

6.2.4. ゲノム配列ファイルの選択1

②ファイルをアップロードしてゲノム配列を入力する場合は、アップロードするファイルを選択するために一つ目のボタンをクリックします。
(この画面では“Browse...”ボタンですが、使用するブラウザによって表示が異なります。)



6.2.5. ゲノム配列ファイルの選択2

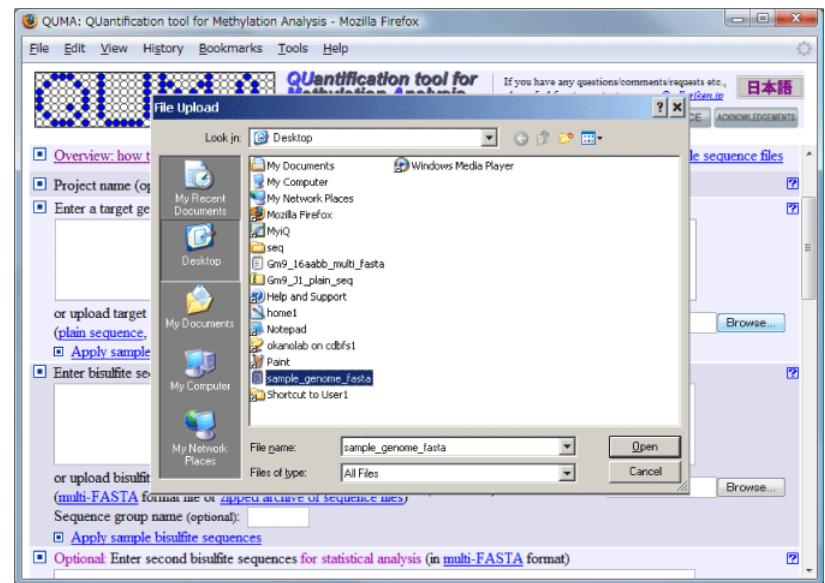
ファイル選択のためのダイアログが表示されますので、アップロードするゲノム配列ファイルを選択します。使用できるゲノム配列の形式についての詳細は「[7.1. ゲノム配列について](#)」をご覧ください。

6.2.6. バイサルファイト配列1の入力

1つのグループのバイサルファイト配列のグループ名を入力します(オプション)。入力された場合は、解析結果ファイル内にグループ名が含まれるようになりますので、後でどんなデータかの識別が行いやすくなりますが、空のままでも問題ありません。

次に、1つのグループのバイサルファイト配列を入力します。バイサルファイト配列の入力方法も、①直接入力する方法、②ファイルをアップロードする方法、の2種類の方法があります。

①直接入力する場合は、バイサルファイト配列をコピー & ペーストなどにより入力します。入力できるバイサルファイト配列の形式は、[8.4. Multi-FASTA 形式](#)のみです。詳細は「[7.2. バイサルファイト配列について](#)」をご覧ください。



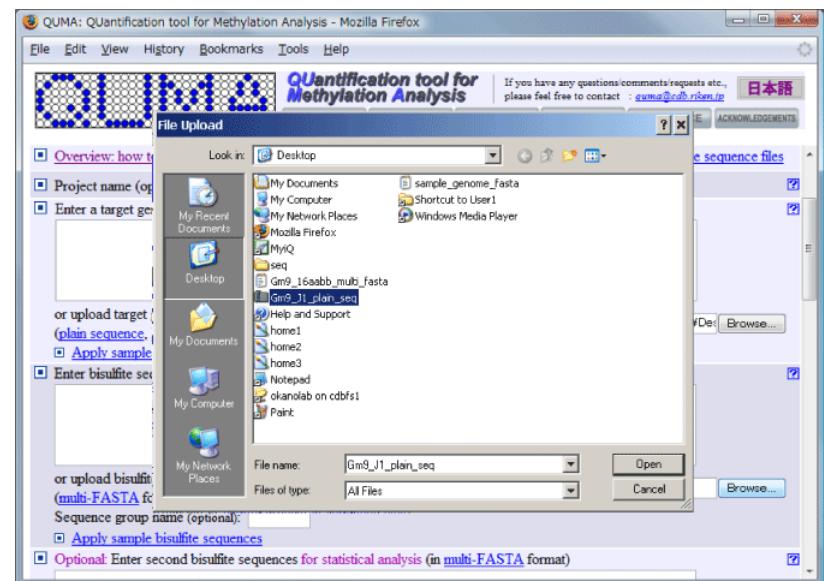
6.2.7. バイサルファイル配列ファイル1の選択1

②ファイルをアップロードして1つ目のグループのバイサルファイル配列を入力する場合は、アップロードするファイルを選択するために二つのボタンをクリックします。



6.2.8. バイサルファイル配列ファイル1の選択2

ファイル選択のためのダイアログが表示されますので、アップロードするバイサルファイル配列ファイルを選択します。使用可能なファイル形式は [8.4. Multi-FASTA 形式](#) または [8.5. 配列ファイルが入った zip 形式のアーカイブ\(圧縮フォルダ\)](#) です。使用できるバイサルファイル配列の形式についての詳細は、「[7.2. バイサルファイル配列について](#)」、「[8.6. zip 形式のアーカイブの作成方法\(マック\)](#)」、「[8.7. zip 形式の圧縮フォルダの作成方法\(Windows\)](#)」をご覧下さい。



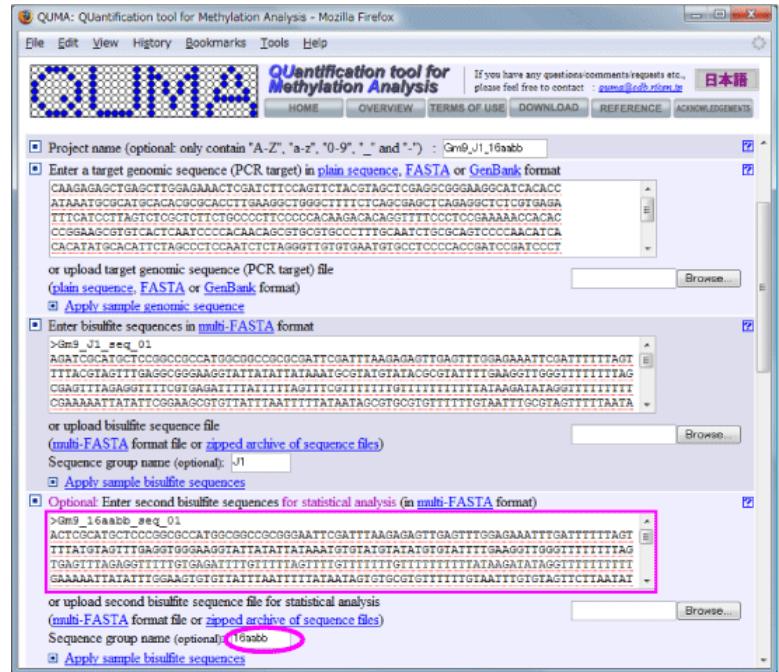
6.2.9. バイサルファイト配列2の入力

2つ目のグループのバイサルファイト配列のグループ名を入力します(オプション)。

次に、2つ目のグループのバイサルファイト配列を入力します。

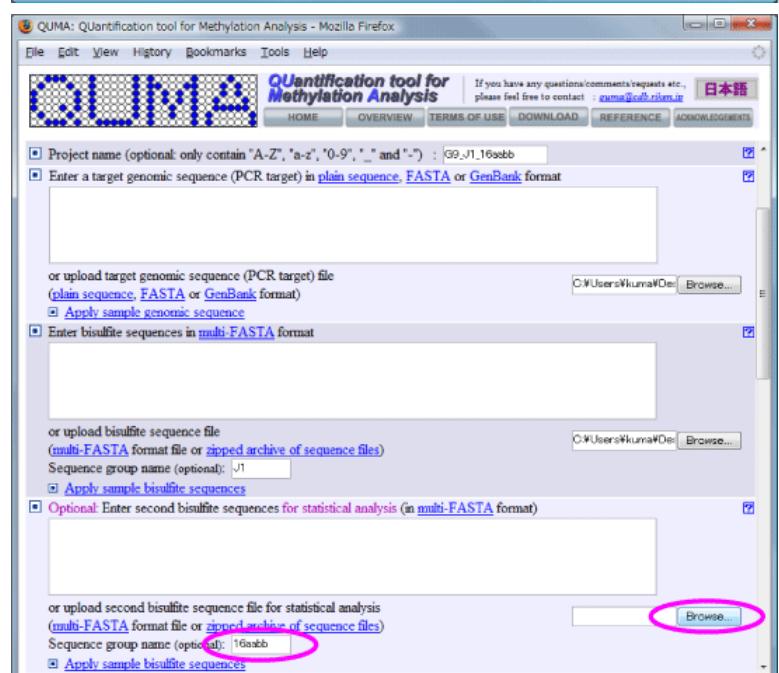
①直接入力する場合

バイサルファイト配列をコピー＆ペーストなどにより入力します。入力できるバイサルファイト配列の形式は、1つ目のバイサルファイト配列と同じです。



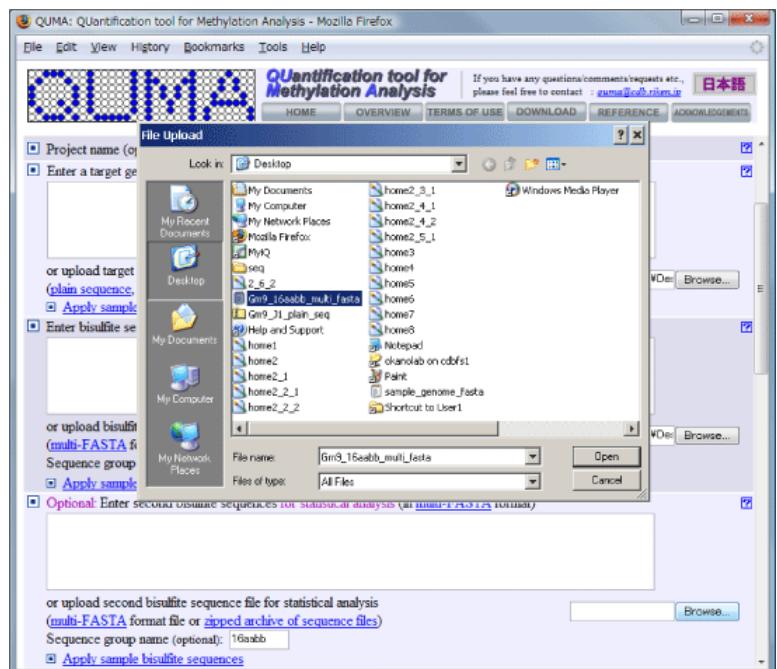
6.2.10. バイサルファイト配列ファイル2の選択1

②ファイルをアップロードして2つ目のグループのバイサルファイト配列を入力する場合は、アップロードするファイルを選択するために三つのボタンをクリックします。



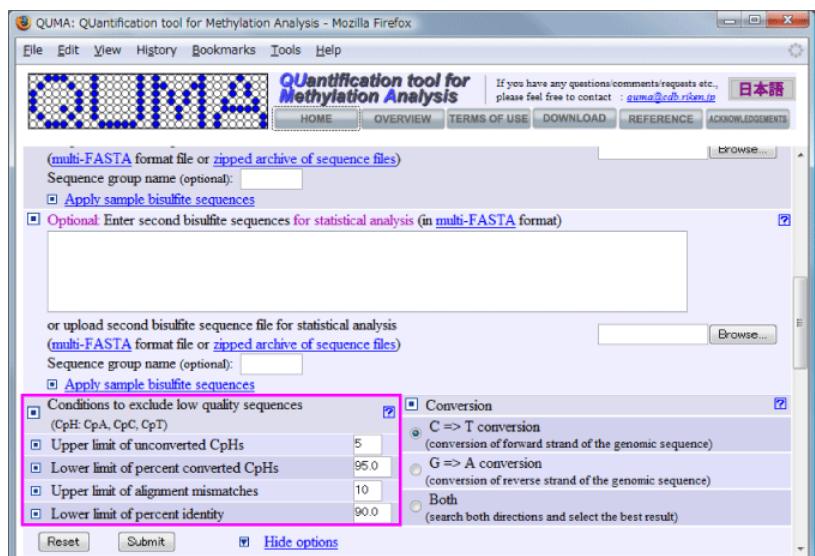
6.2.11. バイサルファイト配列ファイル2の選択2

ファイル選択するためのダイアログが表示されますので、アップロードするバイサルファイト配列ファイルを選択します。使用可能なファイル形式は1つ目のバイサルファイト配列と同様です。



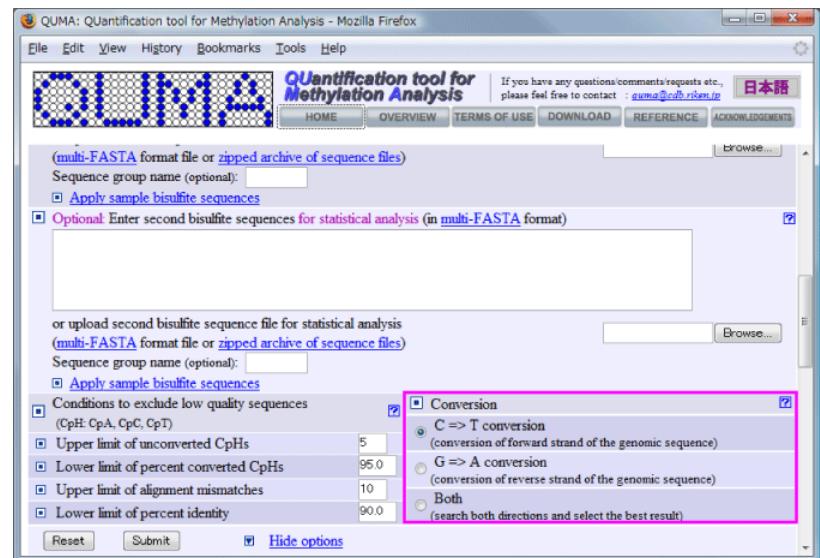
6.2.12. バイサルファイト配列除外条件

- 質の低いバイサルファイト配列の除去のための以下のパラメータを必要に応じて変更して下さい。
 - バイサルファイト変換されなかった塩基の数の上限
 - ✓ 変換されなかった CpH (CpA, CpC, CpT) の数の上限です
 - バイサルファイト変換効率の下限(%)
 - “変換された CpH の数/すべての CpH の数”の下限値です
 - ミスマッチの数の上限
 - ✓ ゲノム配列とのアライメントでのミスマッチ塩基数(ギャップを含む)の上限です
 - 相同性の下限(%)
 - ✓ ゲノム配列とのアライメントでの相同性の下限値です



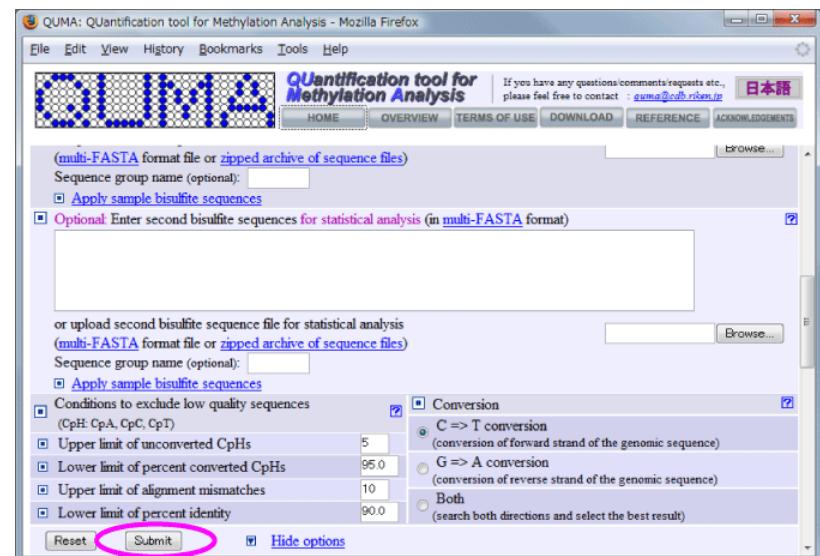
6.2.13. バイサルファイト変換方向

バイサルファイト変換が C=>T, G=>A のどちらの向きか、つまり入力したゲノム配列の forward/reverse 鎖のどちらの鎖がバイサルファイト変換されているとするか(どちらの側の鎖をバイサルファイト PCR で増幅しているか)を指定します。入力したゲノム配列に対してバイサルファイト PCR のプライマーが設計されている場合は“C=>T 変換”になります。ゲノム配列の逆鎖に対して PCR プライマーが設計されている場合は“G=>A 変換”を選択して下さい。“両方”を選択した場合は、両側鎖について解析が行われ、より確からしい結果が自動的に選択されます。



6.2.14. 解析の実行

“実行”ボタンをクリックして解析を開始します。多くの場合、数秒で結果が出ます。



6.3. 統計解析結果ページ

6.3.1. 統計解析結果ページ概要1

解析結果ページは以下の3つのセクションで構成されます。

A. 概要

B. 統計的な情報

C. 各バイサルファイト配列についての情報



6.3.2. 統計解析結果ページ概要2

A) 概要

ゲノム配列長、CpG サイトの数、入力されたバイサルファイト配列の数、除外されたバイサルファイト配列の数等の情報が示されます。

B) 統計的な情報

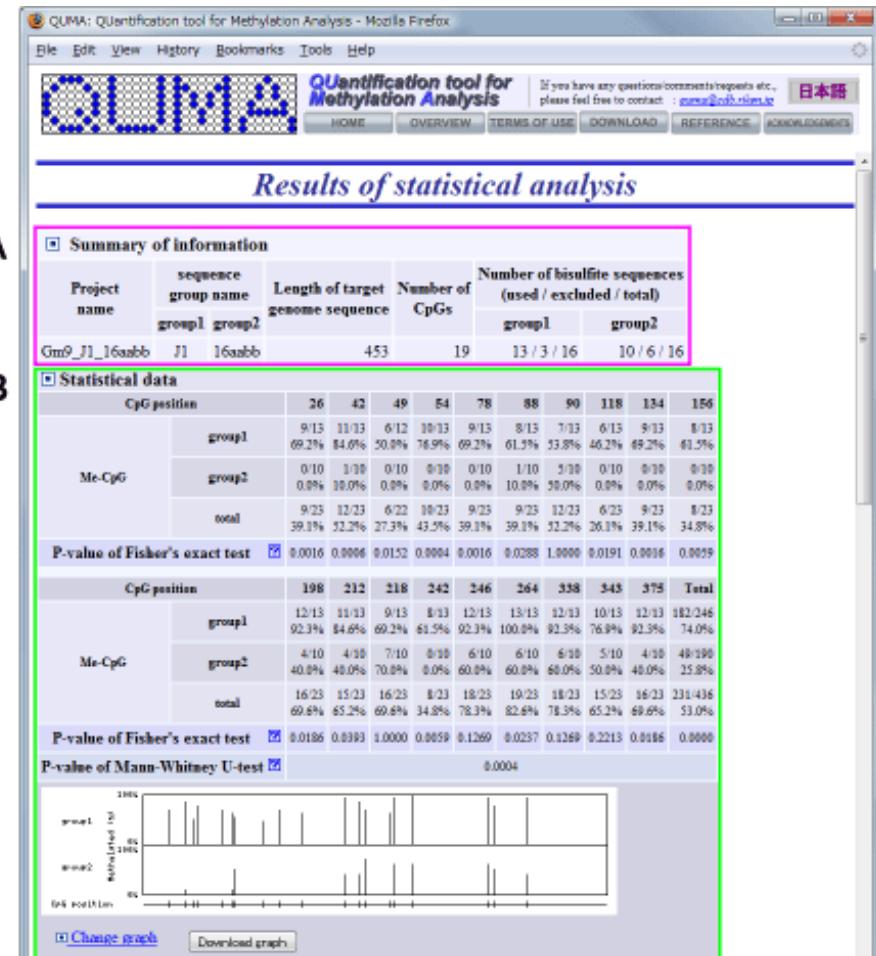
各 CpG サイトについてのメチル化されていた CpG の割合とともに、2 つのグループ間でのメチル化の状態の違いの統計的な有意性 (p-value) が示されます。

フィッシャーの正確確率検定: 各 CpG サイトについてのメチル化割合が 2 つのバイサルファイト配列のグループ間で異なっているかどうかの統計的有意性を、フィッシャーの正確確率検定で求めています。フィッシャーの正確確率検定は 2 つのカテゴリーのデータが関連しているかどうかを検定するためのノンパラメトリックな統計手法です。（メチル化の偏りが偶然で生じ得る確率が求められます。）詳細は“9.1. フィッシャーの正確確率検定”をご覧ください。

マン・ホイットニーの U 検定: 領域全体の CpG のメチル化の割合について、2 つのバイサルファイト配列のグループ間で異なっているかどうかの統計的有意性を、マン・ホイットニーの U 検定で求めています。マン・ホイットニーの U 検定は、分布した 2 群のデータ間の独立性を検定するためのノンパラメトリックな統計手法です。（2 群それぞれのメチル化割合の平均値の違いが偶然で生じ得る確率が求められます。）詳細は“9.2. マン・ホイットニーの U 検定”をご覧ください。

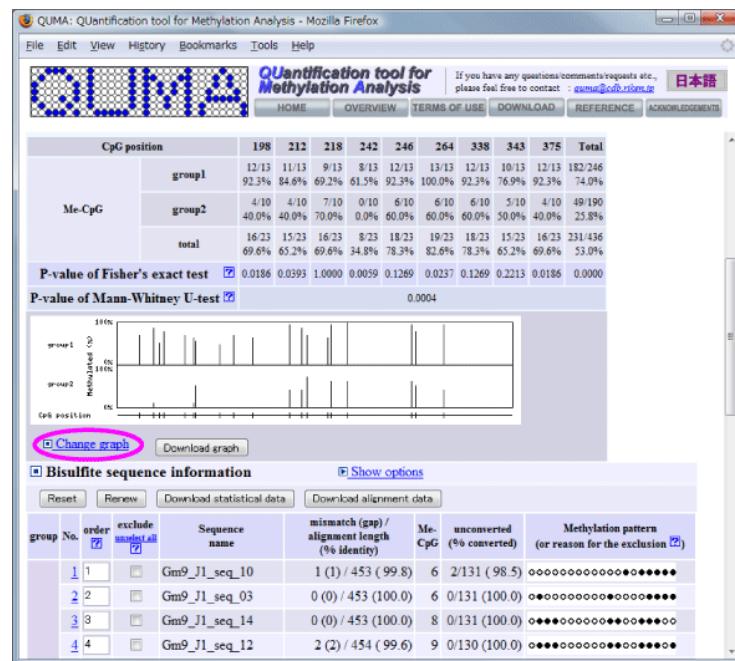
どちらの統計手法でも、メチル化のパターンの違いは考慮されません。また、インプリンティングのようなアレル特異的な DNA メチル化の違いは検出できません。（具体的には、(1)ランダムな 50% のメチル化、(2)0% メチル化と 100% メチル化が半分ずつ、の 2 群を区別できません。）

また、各 CpG サイトのメチル化の状態を比較した概要図も表示されます。



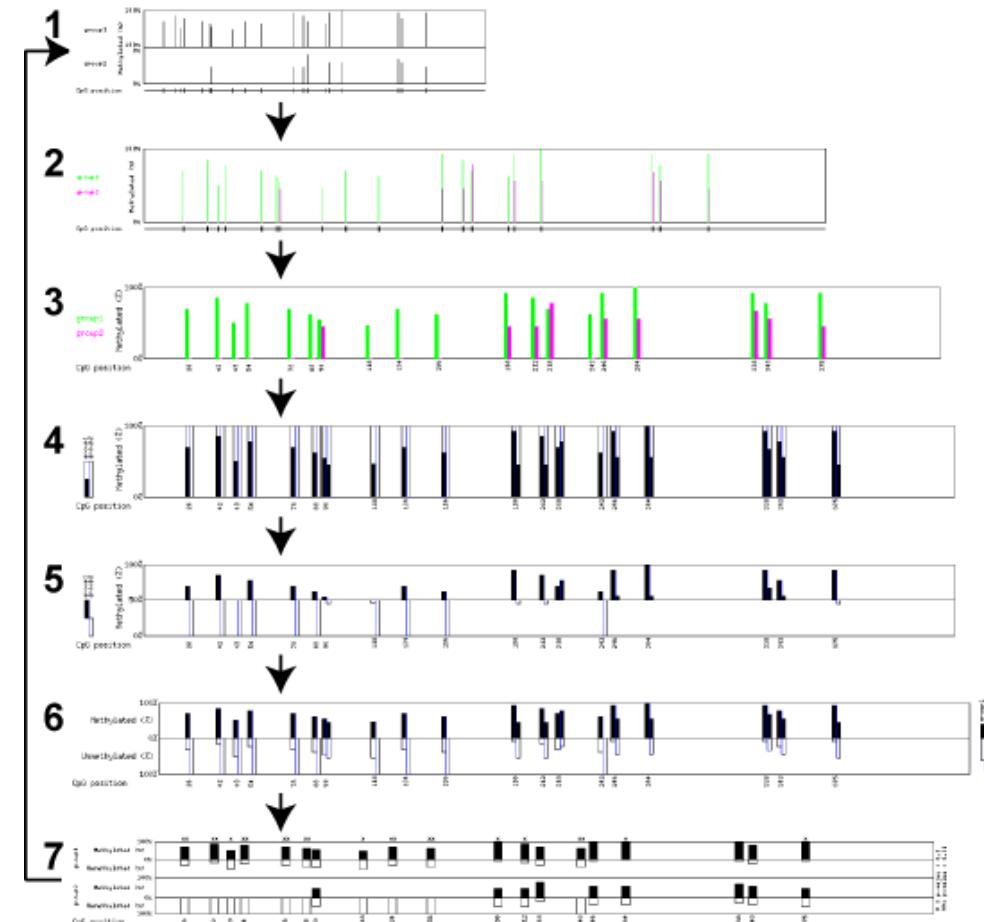
6.3.3. メチル化状態比較の概要図の切り替え1

メチル化状態比較の概要図は“Change graph”的リンクをクリックすることで切り替えることが可能です。(左下図)



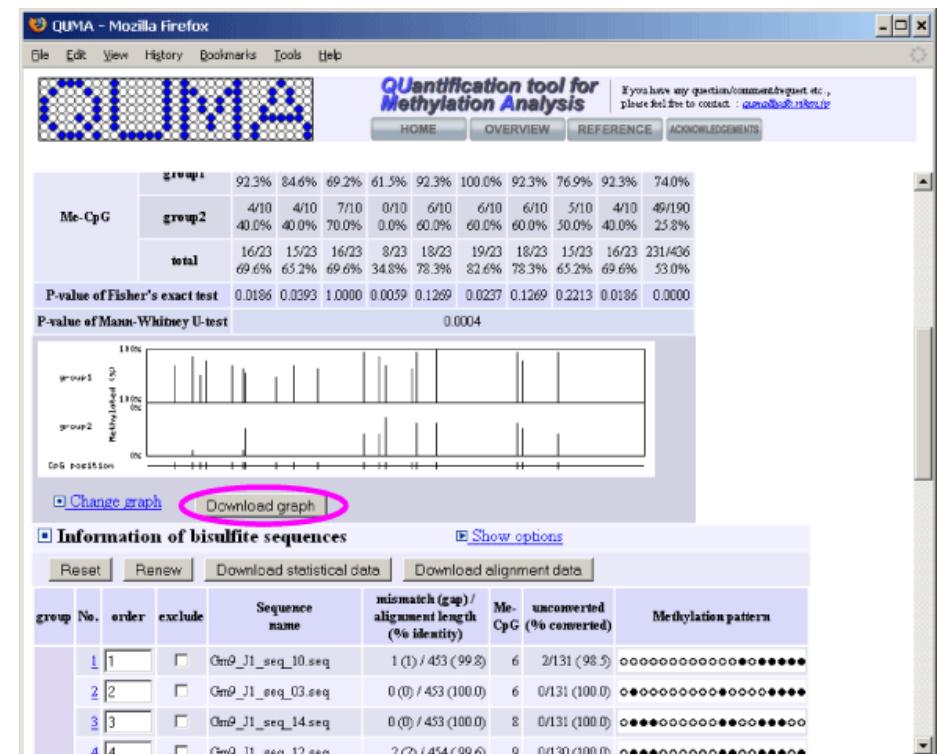
6.3.4. メチル化状態比較の概要図の切り替え2

“Change graph”的リンクをクリックすることに図が切り替わります。1と2の図は CpG の位置関係をほぼ正確に反映させた図ですが、3 – 7の図は正確な位置関係を反映させた図ではありません。(右図)



6.3.5. メチル化状態比較の概要図のダウンロード

“Download graph”ボタンをクリックすることでメチル化状態比較の概要図をダウンロードすることができます(その時点で表示されている図がダウンロードされます)。



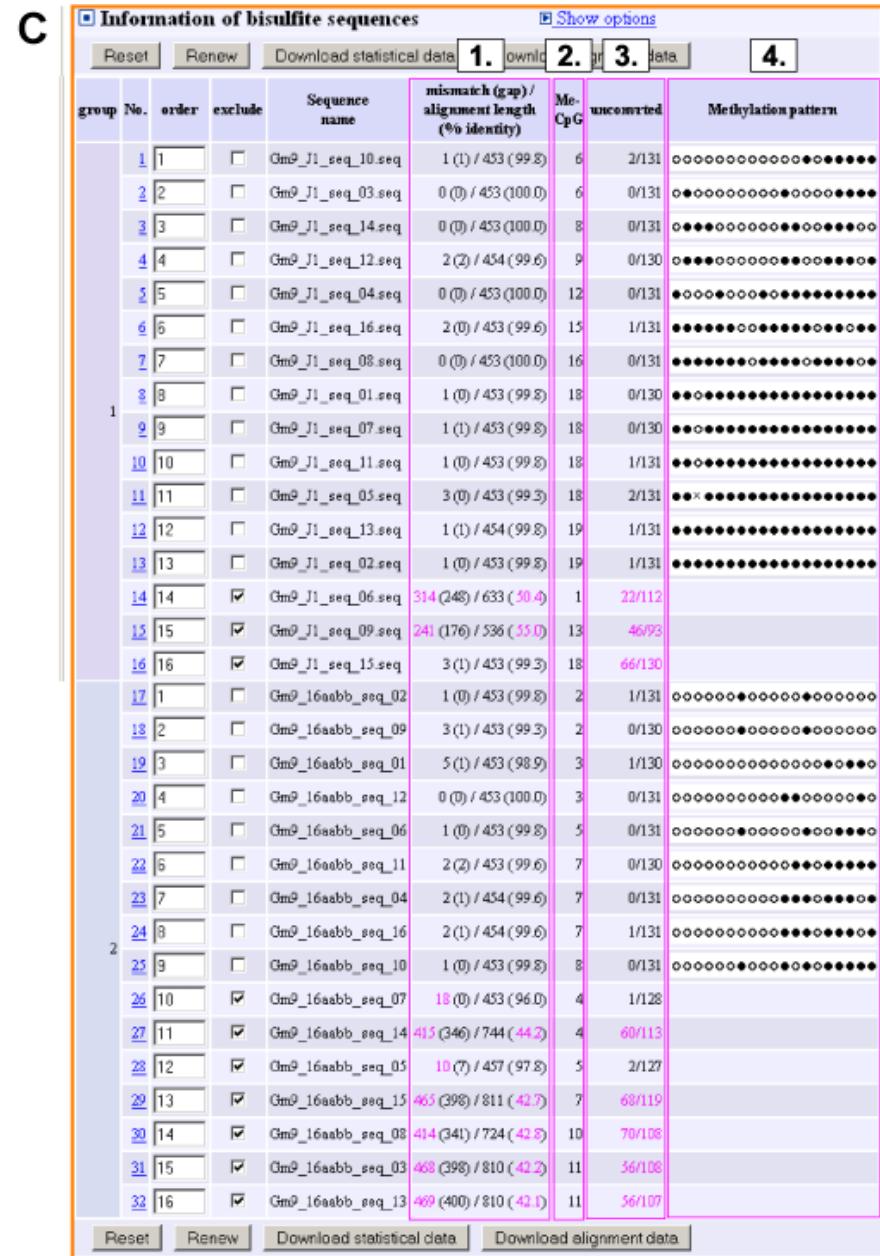
6.3.6. 統計解析結果ページ概要3

C) 各バイサルファイト配列についての情報

バイサルファイト配列はグループごとに分けて表示されます。

1. ゲノム配列とのアライメントでのミスマッチの数、相同意性など
2. メチル化されている CpG の数
3. バイサルファイト変換されなかった CpA, CpC, CpT の数
4. CpG のメチル化のパターン(黒丸がメチル化された CpG, 白丸がメチル化されていない CpG)

質が低いと判定されたバイサルファイト配列については、メチル化のパターン(4.)は表示されず、また、条件に引っかかった値が赤紫色で示されます(1.及び3.)。

C 

Information of bisulfite sequences

Show options

Reset Renew Download statistical data **1. ownid** **2. jf** **3. data** **4.**

group No. order exclude Sequence name mismatch (gap) / alignment length (% identity) Me-CpG unconverted Methylation pattern

1	1		Gm9_J1_seq_10.seq	1 (1) / 453 (99.8)	6	2/131	oooooooooooooooooooooo
2		Gm9_J1_seq_03.seq	0 (0) / 453 (100.0)	6	0/131	oooooooooooooooooooooo	
3		Gm9_J1_seq_14.seq	0 (0) / 453 (100.0)	8	0/131	oooooooooooooooooooooo	
4		Gm9_J1_seq_12.seq	2 (2) / 454 (99.6)	9	0/130	oooooooooooooooooooooo	
5		Gm9_J1_seq_04.seq	0 (0) / 453 (100.0)	12	0/131	oooooooooooooooooooooo	
6		Gm9_J1_seq_16.seq	2 (0) / 453 (99.6)	15	1/131	oooooooooooooooooooooo	
7		Gm9_J1_seq_08.seq	0 (0) / 453 (100.0)	16	0/131	oooooooooooooooooooooo	
8		Gm9_J1_seq_01.seq	1 (0) / 453 (99.8)	18	0/130	oooooooooooooooooooooo	
9		Gm9_J1_seq_07.seq	1 (1) / 453 (99.8)	18	0/130	oooooooooooooooooooooo	
10		Gm9_J1_seq_11.seq	1 (0) / 453 (99.8)	18	1/131	oooooooooooooooooooooo	
11		Gm9_J1_seq_05.seq	3 (0) / 453 (99.3)	18	2/131	oooxxxxoooooooooooooo	
12		Gm9_J1_seq_13.seq	1 (1) / 454 (99.8)	19	1/131	oooooooooooooooooooooo	
13		Gm9_J1_seq_02.seq	1 (0) / 453 (99.8)	19	1/131	oooooooooooooooooooooo	
14		Gm9_J1_seq_06.seq	314 (248) / 633 (**50.4**)	1	22/112		
15		Gm9_J1_seq_09.seq	241 (176) / 536 (**55.1**)	13	46/93		
16		Gm9_J1_seq_15.seq	3 (1) / 453 (99.3)	18	66/130		
2	17		Gm9_16aabb_seq_02	1 (0) / 453 (99.8)	2	1/131	oooooooooooooooooooooo
18		Gm9_16aabb_seq_09	3 (1) / 453 (99.3)	2	0/130	oooooooooooooooooooooo	
19		Gm9_16aabb_seq_01	5 (1) / 453 (98.9)	3	1/130	oooooooooooooooooooooo	
20		Gm9_16aabb_seq_12	0 (0) / 453 (100.0)	3	0/131	oooooooooooooooooooooo	
21		Gm9_16aabb_seq_06	1 (0) / 453 (99.8)	5	0/131	oooooooooooooooooooooo	
22		Gm9_16aabb_seq_11	2 (2) / 453 (99.6)	7	0/130	oooooooooooooooooooooo	
23		Gm9_16aabb_seq_04	2 (1) / 454 (99.6)	7	0/131	oooooooooooooooooooooo	
24		Gm9_16aabb_seq_16	2 (1) / 454 (99.6)	7	1/131	oooooooooooooooooooooo	
25		Gm9_16aabb_seq_10	1 (0) / 453 (99.8)	8	0/131	oooooooooooooooooooooo	
26		Gm9_16aabb_seq_07	18 (0) / 453 (96.0)	4	1/128		
27		Gm9_16aabb_seq_14	415 (346) / 744 (**44.2**)	4	60/113		
28		Gm9_16aabb_seq_05	10 (?) / 457 (97.8)	5	2/127		
29		Gm9_16aabb_seq_15	465 (398) / 811 (**42.2**)	7	68/119		
30		Gm9_16aabb_seq_08	414 (341) / 724 (**42.2**)	10	70/108		
31		Gm9_16aabb_seq_03	468 (398) / 810 (**42.2**)	11	56/108		
32		Gm9_16aabb_seq_13	469 (400) / 810 (**42.1**)	11	56/107		

Reset Renew Download statistical data Download alignment data

6.3.7. アライメントの表示

数字のリンクをクリックするとアライメントページが開き、ゲノム配列とバイサルファイト配列のアライメント情報が表示されます。アライメントページについては、「[6.5. アライメントページ](#)」で解説されています。

group	No.	order	exclude	Sequence name	mismatch (gap) / alignment length (% identity)	Me-CpG	unconverted	Methylation pattern
1	1		<input type="checkbox"/>	Gm0_J1_seq_10.seq	1 (1) / 453 (99.8)	6	2/131	oooooooooooooo●oooooooo
2	2		<input type="checkbox"/>	Gm0_J1_seq_03.seq	0 (0) / 453 (100.0)	6	0/131	oooooooooooooo●oooooooo
3	3		<input type="checkbox"/>	Gm0_J1_seq_14.seq	0 (0) / 453 (100.0)	8	0/131	oooooooooooooo●oooooooo
4	4		<input type="checkbox"/>	Gm0_J1_seq_12.seq	2 (2) / 454 (99.6)	9	0/130	oooooooooooooo●oooooooo
5	5		<input type="checkbox"/>	Gm0_J1_seq_04.seq	0 (0) / 453 (100.0)	12	0/131	oooooooooooooo●oooooooo
6	6		<input type="checkbox"/>	Gm0_J1_seq_16.seq	2 (0) / 453 (99.6)	15	1/131	oooooooooooooo●oooooooo
7	7		<input type="checkbox"/>	Gm0_J1_seq_08.seq	0 (0) / 453 (100.0)	16	0/131	oooooooooooooo●oooooooo
8	8		<input type="checkbox"/>	Gm0_J1_seq_01.seq	1 (0) / 453 (99.8)	18	0/130	oooooooooooooo●oooooooo
9	9		<input type="checkbox"/>	Gm0_J1_seq_07.seq	1 (1) / 453 (99.8)	18	0/130	oooooooooooooo●oooooooo
10	10		<input type="checkbox"/>	Gm0_J1_seq_11.seq	1 (0) / 453 (99.8)	18	1/131	oooooooooooooo●oooooooo
11	11		<input type="checkbox"/>	Gm0_J1_seq_05.seq	3 (0) / 453 (99.3)	18	2/131	●●●oooooooooooooo●oooooooo
12	12		<input type="checkbox"/>	Gm0_J1_seq_13.seq	1 (1) / 454 (99.8)	19	1/131	oooooooooooooo●oooooooo
13	13		<input type="checkbox"/>	Gm0_J1_seq_02.seq	1 (0) / 453 (99.8)	19	1/131	oooooooooooooo●oooooooo
14	14		<input checked="" type="checkbox"/>	Gm0_J1_seq_06.seq	314 (248) / 533 (30.4)	1	22/112	
15	15		<input checked="" type="checkbox"/>	Gm0_J1_seq_09.seq	241 (176) / 536 (35.0)	13	46/93	
16	16		<input checked="" type="checkbox"/>	Gm0_J1_seq_15.seq	3 (1) / 453 (99.3)	18	66/130	

6.3.8. バイサルファイト配列の除外／非除外1

解析から除外したいバイサルファイト配列がある場合は、“exclude”チェックボックスをチェックします。また、既に除外されているバイサルファイト配列を解析に加える場合は、“exclude”チェックボックスのチェックを外します。そして、“Renew”ボタンをクリックします(二つある“Renew”ボタンのどちらでも構いません)。

group	No.	order	exclude	Sequence name	mismatch (gap) / alignment length (% identity)	Me-CpG	unconverted	Methylation pattern
15	15		<input checked="" type="checkbox"/>	Gm0_J1_seq_09.seq	241 (176) / 536 (35.0)	13	46/93	
16	16		<input checked="" type="checkbox"/>	Gm0_J1_seq_15.seq	3 (1) / 453 (99.3)	18	66/130	
17	1		<input type="checkbox"/>	Gm0_16asbb_seq_02	1 (1) / 453 (99.8)	2	1/131	oooooooooooooo●oooooooo
18	2		<input type="checkbox"/>	Gm0_16asbb_seq_09	3 (1) / 453 (99.3)	2	0/130	oooooooooooooo●oooooooo
19	3		<input type="checkbox"/>	Gm0_16asbb_seq_01	5 (1) / 453 (98.9)	3	1/130	oooooooooooooo●oooooooo
20	4		<input type="checkbox"/>	Gm0_16asbb_seq_12	0 (0) / 453 (100.0)	3	0/131	oooooooooooooo●oooooooo
21	5		<input type="checkbox"/>	Gm0_16asbb_seq_06	1 (0) / 453 (99.8)	5	0/131	oooooooooooooo●oooooooo
22	6		<input type="checkbox"/>	Gm0_16asbb_seq_11	2 (2) / 453 (99.6)	7	0/130	oooooooooooooo●oooooooo
23	7		<input type="checkbox"/>	Gm0_16asbb_seq_04	2 (1) / 454 (99.6)	7	0/131	oooooooooooooo●oooooooo
24	8		<input type="checkbox"/>	Gm0_16asbb_seq_16	2 (1) / 454 (99.6)	7	1/131	oooooooooooooo●oooooooo
25	9		<input type="checkbox"/>	Gm0_16asbb_seq_10	1 (0) / 453 (99.8)	8	0/131	oooooooooooooo●oooooooo
26	10		<input checked="" type="checkbox"/>	Gm0_16asbb_seq_07	18 (1) / 453 (96.0)	4	1/128	
27	11		<input checked="" type="checkbox"/>	Gm0_16asbb_seq_14	412 (346) / 744 (44.2)	4	60/113	
28	12		<input checked="" type="checkbox"/>	Gm0_16asbb_seq_05	10 (7) / 457 (97.8)	5	2/127	
29	13		<input checked="" type="checkbox"/>	Gm0_16asbb_seq_15	461 (390) / 811 (42.7)	7	68/119	
30	14		<input checked="" type="checkbox"/>	Gm0_16asbb_seq_08	414 (341) / 724 (42.3)	10	70/108	
31	15		<input checked="" type="checkbox"/>	Gm0_16asbb_seq_03	469 (396) / 810 (42.3)	11	56/108	
32	16		<input checked="" type="checkbox"/>	Gm0_16asbb_seq_13	469 (400) / 810 (42.1)	11	56/107	

Copyright© 2007 RIKEN Center for Developmental Biology All right reserved.

6.3.9. バイサルファイト配列の除外／非除外2 変更結果が反映されます。

The screenshot shows the QUMA software interface with a list of bisulfite sequences. The sequence 'Gm9_J1_seq_07.seq' is highlighted with a pink border. The table includes columns for group number, order, exclude, sequence name, mismatch (gap)/alignment length, Me-CpG, unconverted, and Methylation pattern.

group No.	order	exclude	Sequence name	mismatch (gap)/alignment length	Me-CpG	unconverted	Methylation pattern
1	9	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_10.seq	1 (1) / 453 (99.3)	6	2/131	oooooooooooooooooooo
2	8	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_03.seq	0 (0) / 453 (100.0)	6	0/131	oooooooooooooooooooo
3	7	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_14.seq	0 (0) / 453 (100.0)	8	0/130	oooooooooooooooooooo
4	6	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_12.seq	2 (2) / 454 (99.6)	9	0/130	oooooooooooooooooooo
5	5	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_04.seq	0 (0) / 453 (100.0)	12	0/131	oooooooooooooooooooo
6	4	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_16.seq	2 (0) / 453 (99.6)	15	1/131	oooooooooooooooooooo
7	3	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_08.seq	0 (0) / 453 (100.0)	16	0/131	oooooooooooooooooooo
8	2	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_01.seq	1 (0) / 453 (99.3)	18	0/130	oooooooooooooooooooo
9	1	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_07.seq	1 (1) / 453 (99.3)	18	0/130	oooooooooooooooooooo
10	10	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_11.seq	1 (0) / 453 (99.3)	18	1/131	oooooooooooooooooooo
11	11	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_05.seq	3 (0) / 453 (99.3)	18	2/131	oooooooooooooooooooo
12	12	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_13.seq	1 (1) / 454 (99.3)	19	1/131	oooooooooooooooooooo
13	13	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_02.seq	1 (0) / 453 (99.3)	19	1/131	oooooooooooooooooooo
14	14	<input checked="" type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_06.seq	34 (248) / 633 (31.9)	1	22/112	oooooooooooooooooooo
15	15	<input checked="" type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_09.seq	34 (176) / 536 (31.9)	13	46/93	oooooooooooooooooooo
16	16	<input checked="" type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_15.seq	3 (1) / 453 (99.3)	18	66/130	oooooooooooooooooooo
17	1	<input type="checkbox"/>	Gm9_16sabb_seq_02	1 (0) / 453 (99.3)	2	1/131	oooooooooooooooooooo
18	2	<input type="checkbox"/>	Gm9_16sabb_seq_09	3 (1) / 453 (99.3)	2	0/130	oooooooooooooooooooo
19	3	<input type="checkbox"/>	Gm9_16sabb_seq_01	5 (1) / 453 (98.9)	3	1/130	oooooooooooooooooooo
20	4	<input type="checkbox"/>	Gm9_16sabb_seq_12	0 (0) / 453 (100.0)	3	0/131	oooooooooooooooooooo
21	5	<input type="checkbox"/>	Gm9_16sabb_seq_06	1 (0) / 453 (99.3)	5	0/131	oooooooooooooooooooo
22	6	<input type="checkbox"/>	Gm9_16sabb_seq_11	2 (2) / 453 (99.6)	7	0/130	oooooooooooooooooooo
23	7	<input type="checkbox"/>	Gm9_16sabb_seq_04	2 (1) / 454 (99.6)	7	0/131	oooooooooooooooooooo
24	8	<input type="checkbox"/>	Gm9_16sabb_seq_16	2 (1) / 454 (99.6)	7	1/131	oooooooooooooooooooo
25	9	<input type="checkbox"/>	Gm9_16sabb_seq_10	1 (0) / 453 (99.3)	8	0/131	oooooooooooooooooooo
26	10	<input type="checkbox"/>	Gm9_16sabb_seq_07	10 (0) / 453 (96.0)	4	1/128	oooooooooooooooooooo
27	11	<input type="checkbox"/>	Gm9_16sabb_seq_05	10 (0) / 457 (97.8)	5	2/127	oooooooooooooooooooo
28	12	<input checked="" type="checkbox"/>	Gm9_16sabb_seq_14	413 (346) / 746 (41.2)	4	60/113	oooooooooooooooooooo
29	13	<input checked="" type="checkbox"/>	Gm9_16sabb_seq_15	360 (356) / 811 (43.1)	7	60/119	oooooooooooooooooooo
30	14	<input checked="" type="checkbox"/>	Gm9_16sabb_seq_08	414 (341) / 724 (42.3)	10	70/108	oooooooooooooooooooo
31	15	<input checked="" type="checkbox"/>	Gm9_16sabb_seq_03	408 (396) / 810 (42.2)	11	56/108	oooooooooooooooooooo
32	16	<input checked="" type="checkbox"/>	Gm9_16sabb_seq_13	409 (400) / 810 (42.1)	11	56/107	oooooooooooooooooooo

Buttons at the bottom: Reset, Renew, Download statistical data, Download alignment data.

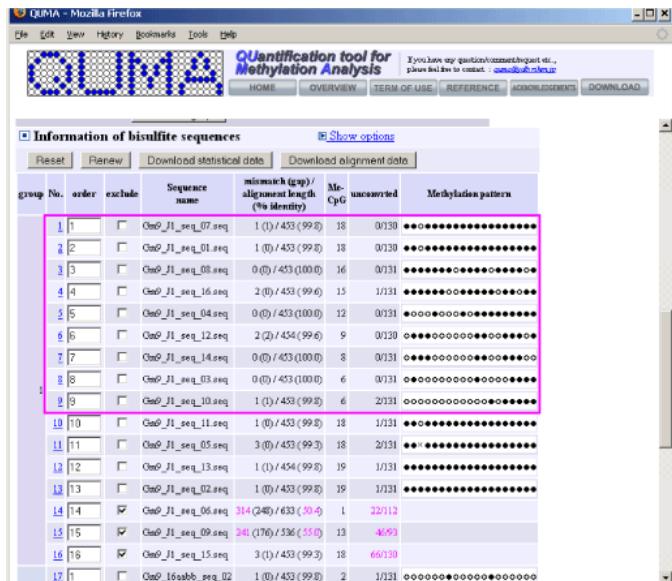
The screenshot shows the QUMA software interface with a list of bisulfite sequences. The sequence 'Gm9_J1_seq_07.seq' is highlighted with a pink border. The table includes columns for group number, order, exclude, sequence name, mismatch (gap)/alignment length, Me-CpG, unconverted, and Methylation pattern. A 'Renew' button is circled in pink.

group No.	order	exclude	Sequence name	mismatch (gap)/alignment length	Me-CpG	unconverted	Methylation pattern
1	9	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_10.seq	1 (1) / 453 (99.3)	6	2/131	oooooooooooooooooooo
2	8	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_03.seq	0 (0) / 453 (100.0)	6	0/131	oooooooooooooooooooo
3	7	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_14.seq	0 (0) / 453 (100.0)	8	0/130	oooooooooooooooooooo
4	6	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_12.seq	2 (2) / 454 (99.6)	9	0/130	oooooooooooooooooooo
5	5	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_04.seq	0 (0) / 453 (100.0)	12	0/131	oooooooooooooooooooo
6	4	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_16.seq	2 (0) / 453 (99.6)	15	1/131	oooooooooooooooooooo
7	3	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_08.seq	0 (0) / 453 (100.0)	16	0/131	oooooooooooooooooooo
8	2	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_01.seq	1 (0) / 453 (99.3)	18	0/130	oooooooooooooooooooo
9	1	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_07.seq	1 (1) / 453 (99.3)	18	0/130	oooooooooooooooooooo
10	10	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_11.seq	1 (0) / 453 (99.3)	18	1/131	oooooooooooooooooooo
11	11	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_05.seq	3 (0) / 453 (99.3)	18	2/131	oooooooooooooooooooo
12	12	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_13.seq	1 (1) / 454 (99.3)	19	1/131	oooooooooooooooooooo
13	13	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_02.seq	1 (0) / 453 (99.3)	19	1/131	oooooooooooooooooooo
14	14	<input checked="" type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_06.seq	34 (248) / 633 (31.9)	1	22/112	oooooooooooooooooooo
15	15	<input checked="" type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_09.seq	34 (176) / 536 (31.9)	13	46/93	oooooooooooooooooooo
16	16	<input checked="" type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_15.seq	3 (1) / 453 (99.3)	18	66/130	oooooooooooooooooooo
17	1	<input type="checkbox"/>	Gm9_16sabb_seq_02	1 (0) / 453 (99.3)	2	1/131	oooooooooooooooooooo

Buttons at the bottom: Reset, Renew, Download statistical data, Download alignment data.

6.3.11. バイサルファイト配列の並べ替え2

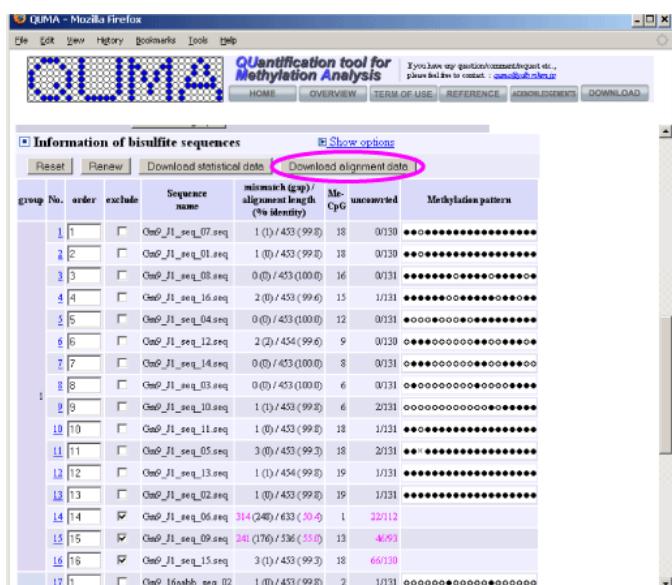
並べ替え結果が反映されます。それぞれのバイサルファイト配列のグループは独立して並べ替えられます。



group No.	order	exclude	Sequence name	mismatch (gap) / alignment length (% identity)	Me-CpG	unmethylated	Methylation pattern
1	1	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_07.seq	1 (1)/453 (99.8)	18	0/130	oooooooooooooooooooo
2	2	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_01.seq	1 (0)/453 (99.8)	18	0/130	oooooooooooooooooooo
3	3	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_03.seq	0 (0)/453 (100.0)	16	0/131	oooooooooooooooooooo
4	4	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_16.seq	2 (0)/453 (99.6)	15	1/131	oooooooooooooooooooo
5	5	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_04.seq	0 (0)/453 (100.0)	12	0/131	oooooooooooooooooooo
6	6	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_12.seq	2 (2)/454 (99.6)	9	0/130	oooooooooooooooooooo
7	7	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_14.seq	0 (0)/453 (100.0)	8	0/131	oooooooooooooooooooo
8	8	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_03.seq	0 (0)/453 (100.0)	6	0/131	oooooooooooooooooooo
9	9	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_10.seq	1 (1)/453 (99.8)	6	2/131	oooooooooooooooooooo
10	10	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_11.seq	1 (0)/452 (99.8)	18	1/131	oooooooooooooooooooo
11	11	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_05.seq	3 (0)/453 (99.3)	18	2/131	ooo.....oooooooooooo
12	12	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_13.seq	1 (1)/454 (99.8)	19	1/131	oooooooooooooooooooo
13	13	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_02.seq	1 (0)/453 (99.8)	19	1/131	oooooooooooooooooooo
14	14	<input checked="" type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_06.seq	314 (248)/633 (30.8)	1	22/112	oooooooooooooooooooo
15	15	<input checked="" type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_09.seq	341 (176)/536 (55.0)	13	46/93	oooooooooooooooooooo
16	16	<input checked="" type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_15.seq	3 (1)/453 (99.3)	18	66/130	oooooooooooooooooooo
17	1	<input type="checkbox"/>	Gm9_16aabb_seq_02	1 (0)/453 (99.8)	2	1/131	oooooooooooooooooooo

6.3.12. アライメントデータダウンロード

“Download alignment data”ボタンをクリックすると、全バイサルファイト配列についてのアライメントデータがダウンロードされます。



group No.	order	exclude	Sequence name	mismatch (gap) / alignment length (% identity)	Me-CpG	unmethylated	Methylation pattern
1	1	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_07.seq	1 (1)/453 (99.8)	18	0/130	oooooooooooooooooooo
2	2	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_01.seq	1 (0)/453 (99.8)	18	0/130	oooooooooooooooooooo
3	3	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_03.seq	0 (0)/453 (100.0)	16	0/131	oooooooooooooooooooo
4	4	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_16.seq	2 (0)/453 (99.6)	15	1/131	oooooooooooooooooooo
5	5	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_04.seq	0 (0)/453 (100.0)	12	0/131	oooooooooooooooooooo
6	6	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_12.seq	2 (2)/454 (99.6)	9	0/130	oooooooooooooooooooo
7	7	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_14.seq	0 (0)/453 (100.0)	8	0/131	oooooooooooooooooooo
8	8	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_03.seq	0 (0)/453 (100.0)	6	0/131	oooooooooooooooooooo
9	9	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_10.seq	1 (1)/453 (99.8)	6	2/131	oooooooooooooooooooo
10	10	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_11.seq	1 (0)/453 (99.8)	18	1/131	oooooooooooooooooooo
11	11	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_05.seq	3 (0)/453 (99.3)	18	2/131	ooo.....oooooooooooo
12	12	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_13.seq	1 (1)/454 (99.8)	19	1/131	oooooooooooooooooooo
13	13	<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_02.seq	1 (0)/453 (99.8)	19	1/131	oooooooooooooooooooo
14	14	<input checked="" type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_06.seq	314 (248)/633 (30.8)	1	22/112	oooooooooooooooooooo
15	15	<input checked="" type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_09.seq	341 (176)/536 (55.0)	13	46/93	oooooooooooooooooooo
16	16	<input checked="" type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_15.seq	3 (1)/453 (99.3)	18	66/130	oooooooooooooooooooo
17	1	<input type="checkbox"/>	Gm9_16aabb_seq_02	1 (0)/453 (99.8)	2	1/131	oooooooooooooooooooo

6.3.13. アライメントデータ

ダウンロードしたライメントデータのファイルはテキストエディット(マック)やメモ帳(Windows)などのテキストエディタで開くことができます。



6.3.14. 統計解析結果データダウンロード

“Download statistical data”ボタンをクリックすると、統計解析結果データがダウンロードされます。

QUMA - Quantification tool for Methylation Analysis

You have any question/comment/bug report etc.,
please don't hesitate to contact: guna@zhaw.ch

HOME OVERVIEW TERM OF USE REFERENCE ACKNOWLEDGMENTS DOWNLOAD

Information of bisulfite sequences [Show options](#)

[Reset](#) [Renew](#) [Download statistical data](#) [Download alignment data](#)

group	No.	order	exclude	Sequence name	mismatches (gap?)	alignment length	Me-CpG	unconverted	Methylation pattern
1	1		<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_07.seq	1 (1) / 453 (99.8)	18	0/130	0/130	oooooooooooooooooooo
2	2		<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_01.seq	1 (0) / 453 (99.8)	18	0/130	0/130	oooooooooooooooooooo
3	3		<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_08.seq	0 (0) / 453 (100.0)	16	0/131	0/131	oooooooooooooooooooo
4	4		<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_16.seq	2 (0) / 453 (99.6)	15	1/131	0/131	oooooooooooooooooooo
5	5		<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_04.seq	0 (0) / 453 (100.0)	12	0/131	0/131	oooooooooooooooooooo
6	6		<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_12.seq	2 (2) / 454 (99.6)	9	0/130	0/130	oooooooooooooooooooo
7	7		<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_14.seq	0 (0) / 453 (100.0)	8	0/131	0/131	oooooooooooooooooooo
8	8		<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_03.seq	0 (0) / 453 (100.0)	6	0/131	0/131	oooooooooooooooooooo
9	9		<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_10.seq	1 (1) / 453 (99.8)	6	2/131	0/131	oooooooooooooooooooo
10	10		<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_11.seq	1 (0) / 453 (99.8)	18	1/131	0/131	oooooooooooooooooooo
11	11		<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_05.seq	3 (0) / 453 (99.3)	18	2/131	0/131	ooo-oooooooooooooooo
12	12		<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_13.seq	1 (1) / 454 (99.8)	19	1/131	0/131	oooooooooooooooooooo
13	13		<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_02.seq	1 (0) / 453 (99.8)	19	1/131	0/131	oooooooooooooooooooo
14	14		<input checked="" type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_06.seq	314 (248) / 633 (30.4)	1	22/112	0/130	oooooooooooooooooooo
15	15		<input checked="" type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_09.seq	241 (176) / 536 (35.0)	13	46/93	0/130	oooooooooooooooooooo
16	16		<input type="checkbox"/>	Gm9_J1_seq_15.seq	3 (1) / 453 (99.3)	18	66/130	0/130	oooooooooooooooooooo
17	1		<input type="checkbox"/>	Gm9_16asbb_seq_02	1 (0) / 453 (99.8)	2	1/131	0/131	oooooooooooooooooooo

6.3.15. 統計解析結果データ

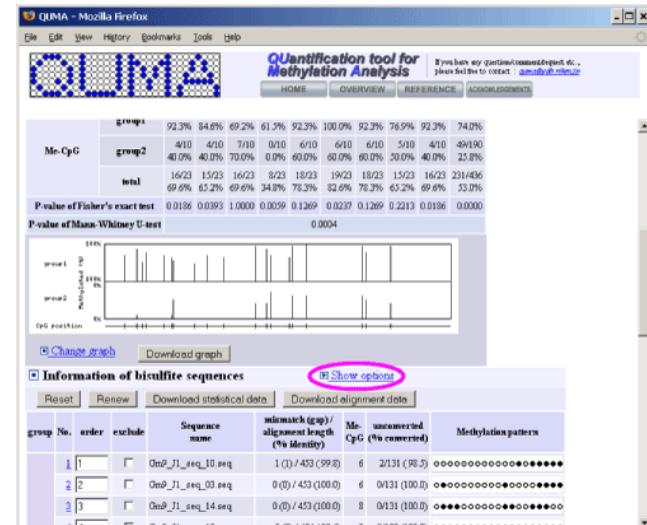
ダウンロードした統計解析結果データのファイルはマイクロソフトエクセルなどで開くことができます(CSVファイル)。

A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R	S	T	U
1	Summary Information																			
2	Length of I	453																		
3	Number of C	19																		
4	Number of G	13																		
5	Number of T	3																		
6	Number of A	16																		
7	Number of N	11																		
8	Number of S	5																		
9	Number of H	16																		
10																				
11	Methylation status of each CpG site																			
12	CpG position	26	42	48	54	70	80	90	110	134	156	166	212	218	242	246	264	308	349	375 Total
13	OpG position	9	11	6	10	8	7	6	9	8	12	11	9	8	12	13	12	10	12	182
14	Number of me	13	13	12	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	246
15	ratio of me	0.92	0.84	0.50	0.76	0.69	0.62	0.15	0.53	0.46	0.62	0.65	0.92	0.84	0.69	0.65	0.92	1.00	0.92	0.923 73.98374
16	Number of 0	0	1	0	0	0	1	5	0	0	0	5	5	8	0	6	6	6	4	53
17	Number of 1	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	10	11	11	207
18	ratio of me	0.0	0.91	0.0	0.0	0.9	0.1	0.45	0.0	0.0	0.45	0.45	0.75	0.0	0.60	0.55	0.54	0.55	0.55	25.60303
19	Number of 2	9	12	6	10	9	9	12	6	9	9	12	16	8	18	19	18	16	16	207
20	Number of 3	24	24	23	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	23	23	24	24	453
21	ratio of me	0.75	0.50	0.26	0.41	0.7	0.75	0.50	0.25	0.75	0.33	0.67	0.70	0.33	0.67	0.70	0.33	0.67	0.70	51.87636
22	P-value of me	0.000689	0.000644	0.001373	0.000151	0.000689	0.0013067	1	0.001682	0.000689	0.0001974	0.002365	0.008247	1	0.0001974	0.0126869	0.0023715	0.0060804	0.0390452	0.007087 2.31E-25
23	P-value of 0	0.0004949																		
24																				
25	Information of basecall sequence																			
26	No.	sequence	sequence	sequence	immatch	gap	alignment	percent	de)methylated	unconvert	number of	methylation	pattern	(U)unmethylated,	(M)methylated,	(X)mismatch)				
27	1	G	m	B	J	se	1	1	453	99.8	18	0	130	MMU	MMU	MMU	MMU	MMU	MMU	MMU
28	2	1	G	m	B	J	se	1	0	453	99.8	18	0	130	MMU	MMU	MMU	MMU	MMU	MMU
29	3	1	G	m	B	J	se	0	0	453	100	16	0	131	MMU	MMU	MMU	MMU	MMU	MMU
30	4	1	G	m	B	J	se	2	0	453	99.6	15	0	131	MMU	MMU	MMU	MMU	MMU	MMU
31	5	1	G	m	B	J	se	0	0	453	100	12	0	131	MMU	UJU	UJU	UJU	UJU	UJU
32	6	1	G	m	B	J	se	2	2	454	99.6	9	0	130	UJM	UJM	UJM	UJM	UJM	UJM
33	7	1	G	m	B	J	se	0	0	453	100	8	0	131	UJM	UJM	UJM	UJM	UJM	UJM
34	8	1	G	m	B	J	se	0	0	453	100	6	0	131	UJM	UJM	UJM	UJM	UJM	UJM
35	9	1	G	m	B	J	se	1	1	453	99.8	6	2	131	UJM	UJM	UJM	UJM	UJM	UJM
36	10	1	G	m	B	J	se	1	0	453	99.8	18	1	131	UJM	UJM	UJM	UJM	UJM	UJM
37	11	1	G	m	B	J	se	3	0	453	99.3	18	2	131	MMU	MMU	MMU	MMU	MMU	MMU
38	12	1	G	m	B	J	se	1	1	454	99.8	19	1	131	MMU	MMU	MMU	MMU	MMU	MMU
39	13	1	G	m	B	J	se	1	0	453	99.8	19	1	131	MMU	MMU	MMU	MMU	MMU	MMU
40	14	1	G	m	B	J	se	314	248	259	504	1	22	112	excluded					
41	15	1	G	m	B	J	se	24	179	258	504	1	13	44	0	0	0	0		
42	16	1	G	m	B	J	se	3	1	453	99.3	18	66	130	excluded					
43	17	2	G	m	B	J	se	1	0	453	99.8	2	1	131	UUU	UUU	UUU	UUU	UUU	UUU
44	18	2	G	m	B	J	se	3	1	453	99.3	2	0	130	UUU	UUU	UUU	UUU	UUU	UUU
45	19	2	G	m	B	J	se	5	1	453	98.9	3	1	130	UUU	UUU	UUU	UUU	UUU	UUU
46	20	2	G	m	B	J	se	0	0	453	100	3	0	131	UUU	UUU	UUU	UUU	UUU	UUU
47	21	2	G	m	B	J	se	1	0	453	99.8	5	0	131	UUU	UUU	UUU	UUU	UUU	UUU
48	22	2	G	m	B	J	se	2	2	453	99.6	7	0	130	UUU	UUU	UUU	UUU	UUU	UUU
49	23	2	G	m	B	J	se	2	1	454	99.6	7	0	131	UUU	UUU	UUU	UUU	UUU	UUU
50	24	2	G	m	B	J	se	2	1	454	99.6	7	1	131	UUU	UUU	UUU	UUU	UUU	UUU
51	25	2	G	m	B	J	se	1	0	453	99.8	8	0	131	UUU	UUU	UUU	UUU	UUU	UUU
52	26	2	G	m	B	J	se	18	0	453	99	4	1	130	UUU	UUU	UUU	UUU	UUU	UUU
53	27	2	G	m	B	J	se	10	7	457	97.8	5	2	127	UJM	UJM	UJM	UJM	UJM	UJM
54	28	2	G	m	B	J	se	415	346	744	44.2	4	60	113	excluded					

6.4. 統計解析結果ページオプション

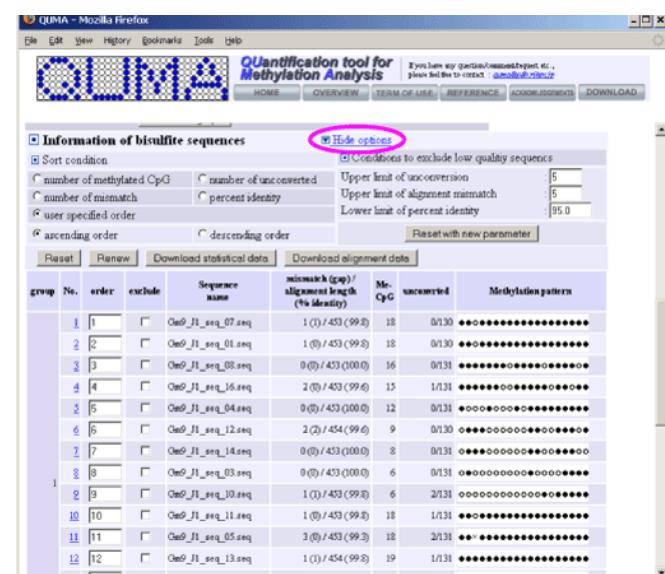
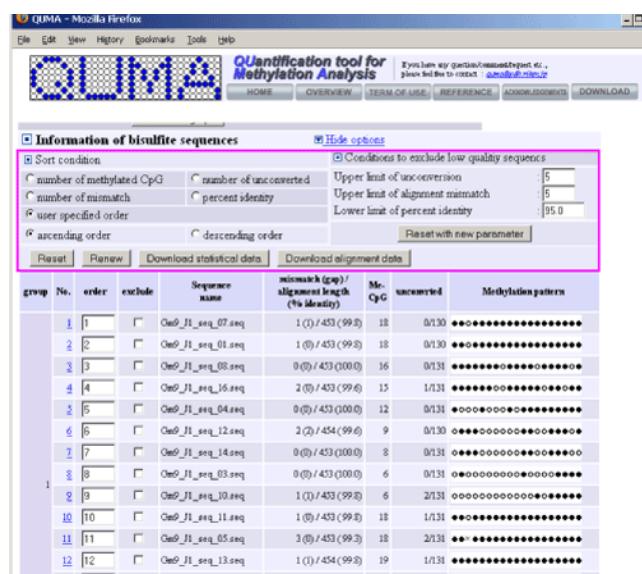
6.4.1. オプションの表示1

オプションを表示するには“Show options”のリンクをクリックします。(右上図)



6.4.2. オプションの表示2

オプション項目が表示されます。(左下図)



6.4.4. バイサルファイト配列の並べ替え1

色々な値での並べ替えが可能です。並べ替えに用いる項目及び昇順／降順を選びます。画面はアライメントでの相同性の降順で並べ替える例です。次に、“Renew”ボタンをクリックします(二つある“Renew”ボタンのどちらでも構いません)。

- user specified order
 - ✓ “order”欄の数値で並べ替え
- number of methylated CpGs
 - ✓ メチル化されている CpG の数で並べ替え
- number of unconvertions
 - ✓ バイサルファイト変換で未変換だった CpH (CpA, CpC, CpT) の数で並べ替え
- percent conversion
 - ✓ バイサルファイト変換効率(“変換された CpH の数/すべての CpH の数”)で並べ替え
- number of mismatches
 - ✓ ゲノム配列とのアライメントでのミスマッチ数で並べ替え
- percent identity
 - ✓ ゲノム配列とのアライメントでの相同性で並べ替え
- ascending order
 - ✓ 値の昇順で並べ替え
- descending order
 - ✓ 値の降順で並べ替え

6.4.5. バイサルファイト配列の並べ替え2

並べ替え結果が反映されます。それぞれのバイサルファイト配列のグループは独立して並べ替えられます。

group	No.	order	exclude	Sequence name	mismatch (gap) / alignment length (% identity)	Me-CpG	unconverted	Methylation pattern
1	1			Gm9_J1_seq_07.seq	1(1)/453 (99.0)	18	0/130	oooooooooooooooooo
2	2			Gm9_J1_seq_01.seq	1(0)/453 (99.0)	18	0/130	oooooooooooooooooo
3	3			Gm9_J1_seq_08.seq	0(0)/453 (100.0)	16	0/130	oooooooooooooooooo
4	4			Gm9_J1_seq_16.seq	2(0)/453 (99.6)	15	1/131	ooooooooooooo+oooooo
5	5			Gm9_J1_seq_04.seq	0(0)/453 (100.0)	12	0/130	oooooooooooooooooo
6	6			Gm9_J1_seq_12.seq	2(2)/454 (99.6)	9	0/130	oooooooooooo+oooooo
7	7			Gm9_J1_seq_14.seq	0(0)/453 (100.0)	8	0/130	oooooooooooo+oooooo
8	8			Gm9_J1_seq_03.seq	0(0)/453 (100.0)	6	0/130	oooooooooooooooooo
9	9			Gm9_J1_seq_10.seq	1(1)/453 (99.0)	6	2/131	oooooooooooooooooo
10	10			Gm9_J1_seq_11.seq	1(0)/453 (99.0)	18	1/131	oooooooooooooooooo
11	11			Gm9_J1_seq_05.seq	3(0)/453 (99.0)	18	2/131	ooo+oooooooooooooo
12	12			Gm9_J1_seq_13.seq	1(1)/454 (99.0)	19	1/131	oooooooooooooooooo
13	13			Gm9_J1_seq_09.seq	3(0)/453 (99.0)	18	1/131	oooooooooooooooooo

group	No.	order	exclude	Sequence name	mismatch (gap) / alignment length (% identity)	Me-CpG	unconverted	Methylation pattern
1	1			Gm9_J1_seq_08.seq	0(0)/453 (100.0)	16	0/131	oooooooooooooooooo
2	2			Gm9_J1_seq_14.seq	0(0)/453 (100.0)	8	0/131	oooooooooooooooooo
3	3			Gm9_J1_seq_05.seq	0(0)/453 (100.0)	6	0/131	oooooooooooooooooo
4	4			Gm9_J1_seq_04.seq	0(0)/453 (100.0)	12	0/131	oooooooooooooooooo
5	5			Gm9_J1_seq_02.seq	1(0)/453 (99.0)	19	1/131	oooooooooooooooooo
6	6			Gm9_J1_seq_13.seq	1(1)/454 (99.0)	19	1/131	oooooooooooooooooo
7	7			Gm9_J1_seq_11.seq	1(0)/453 (99.0)	18	1/131	oooooooooooooooooo
8	8			Gm9_J1_seq_10.seq	1(1)/453 (99.0)	6	2/131	oooooooooooooooooo
9	9			Gm9_J1_seq_07.seq	1(0)/453 (99.0)	18	0/130	oooooooooooooooooo
10	10			Gm9_J1_seq_01.seq	1(0)/453 (99.0)	18	0/130	oooooooooooooooooo
11	11			Gm9_J1_seq_16.seq	2(0)/453 (99.0)	15	1/131	oooooooooooooooooo
12	12			Gm9_J1_seq_12.seq	2(2)/454 (99.0)	9	0/130	oooooooooooooooooo
13	13			Gm9_J1_seq_09.seq	3(0)/453 (99.0)	18	1/131	oooooooooooooooooo

6.4.6. バイサルファイト配列除外条件1

質の低いバイサルファイト配列の除去のためのパラメータが変更できます。値を変更したら、“Reset with new parameters”ボタンをクリックします(並べ替えた順序や、配列の除外／非除外についてもリセットされます)。

- Upper limit of unconversion
 - ✓ バイサルファイト変換で未変換だった CpH(CpA, CpC, CpT) の数の上限です
- Lower limit of percent conversion
 - ✓ バイサルファイト変換効率(“変換された CpH の数/すべての CpH の数”)の下限値です
- Upper limit of alignment mismatch
 - ✓ ゲノム配列とのアライメントでのミスマッチ塩基数(ギャップを含む)の上限です
- Lower limit of percent identity
 - ✓ ゲノム配列とのアライメントでの相同性の下限値です

6.4.7. バイサルファイト配列除外条件2

変更した条件が反映されます。

group	No.	order	exclude	Sequence name	mismatch (gap)/alignment length (% identity)	Me-CpG	unconverted	Methylation pattern
1	1			Cn9_J1_seq_10.seq	1 (1) / 453 (99.0)	6	2/131	oooooooooooo*oooooooooooo
2	2			Cn9_J1_seq_03.seq	0 (0) / 453 (100.0)	6	0/131	oooooooooooooooooooooooo
3	3			Cn9_J1_seq_14.seq	0 (0) / 453 (100.0)	8	0/131	oooooooooooo*oooooooooooo
4	4			Cn9_J1_seq_12.seq	2 (2) / 454 (99.6)	9	0/130	oooooooooooo*oooooooooooo
5	5			Cn9_J1_seq_04.seq	0 (0) / 453 (100.0)	12	0/131	oooooooooooo*oooooooooooo
6	6			Cn9_J1_seq_16.seq	2 (0) / 453 (99.6)	15	1/131	*****oooo*oooooooooooo
7	7			Cn9_J1_seq_08.seq	0 (0) / 453 (100.0)	16	0/131	*****oooo*oooooooooooo
8	8			Cn9_J1_seq_01.seq	1 (1) / 453 (99.0)	18	0/130	oooooooooooooooooooooooo
9	9			Cn9_J1_seq_07.seq	1 (1) / 453 (99.0)	18	0/130	oooooooooooooooooooooooo
10	10			Cn9_J1_seq_11.seq	1 (0) / 453 (99.0)	18	1/131	oooooooooooooooooooooooo
11	11			Cn9_J1_seq_05.seq	3 (0) / 453 (99.0)	18	2/131	** *oooooooooooooooooooooooo
12	12			Cn9_J1_seq_13.seq	1 (1) / 454 (99.0)	19	1/131	oooooooooooooooooooooooo
13	13			Cn9_J1_seq_02.seq	1 (0) / 453 (99.0)	19	1/131	oooooooooooooooooooooooo
14	14			Cn9_J1_seq_06.seq	314 (240) / 633 (30.4)	1	22/112	oooooooooooooooooooooooo
15	15			Phen_H..._seq..._00..._00..._00..._00...	540 (195) / 633 (16.2)	19	46/46	oooooooooooooooooooooooo

group	No.	order	exclude	Sequence name	mismatch (gap)/alignment length (% identity)	Me-CpG	unconverted	Methylation pattern
1	1			Cn9_J1_seq_03.seq	0 (0) / 453 (100.0)	6	0/131	oooooooooooo*oooooooooooo
2	2			Cn9_J1_seq_14.seq	0 (0) / 453 (100.0)	8	0/131	oooooooooooo*oooooooooooo
3	3			Cn9_J1_seq_04.seq	0 (0) / 453 (100.0)	12	0/131	oooooooooooo*oooooooooooo
4	4			Cn9_J1_seq_08.seq	0 (0) / 453 (100.0)	16	0/131	oooooooooooo*oooooooooooo
5	5			Cn9_J1_seq_01.seq	1 (0) / 453 (99.0)	18	0/130	oooooooooooooooooooooooo
6	6			Cn9_J1_seq_07.seq	1 (1) / 453 (99.0)	18	0/130	oooooooooooooooooooooooo
7	7			Cn9_J1_seq_11.seq	1 (0) / 453 (99.0)	18	0/131	oooooooooooooooooooooooo
8	8			Cn9_J1_seq_13.seq	1 (1) / 454 (99.0)	19	1/131	oooooooooooooooooooooooo
9	9			Cn9_J1_seq_02.seq	1 (0) / 453 (99.0)	19	1/131	oooooooooooooooooooooooo
10	10			Cn9_J1_seq_06.seq	314 (240) / 633 (30.4)	1	22/112	oooooooooooooooooooooooo
11	11			Cn9_J1_seq_10.seq	1 (1) / 453 (99.0)	6	2/113	oooooooooooooooooooooooo
12	12			Cn9_J1_seq_12.seq	2 (2) / 454 (99.0)	9	0/130	oooooooooooooooooooooooo
13	13			Cn9_J1_seq_09.seq	540 (195) / 633 (16.2)	19	46/46	oooooooooooooooooooooooo

6.5. アライメントページ

6.5.1. アライメントページ概要

アライメントページには以下の4つの情報が表示されます。

A) 概要

アライメントに関する各種情報が表示されます

B) ゲノム配列

C) バイサルファイト配列

ゲノム配列とアライメントされなかった領域は薄い色で示されます。

D) アライメント

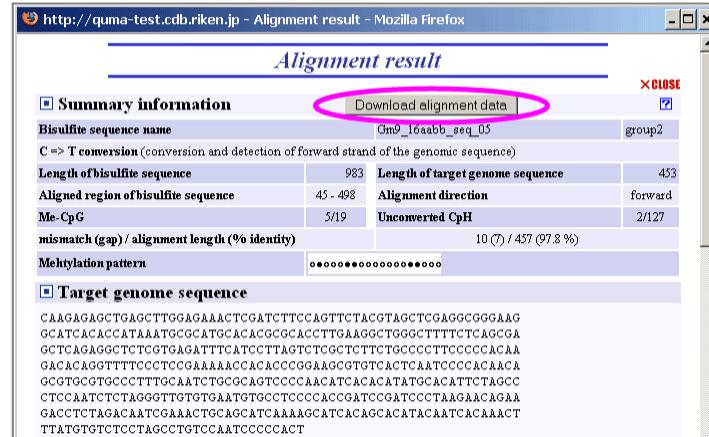
CpG サイトのメチル化されている C、CpG サイトのメチル化されていない C、バイサルファイト変換されなかった C(CpA, CpC, CpT)などは違う色で表示されます。

The screenshot shows the 'Alignment result' page from the QUMA web interface. It displays four panels of sequence data:

- A Summary information:** Shows details about the alignment, including the target genome (GenBank seq_31), source genome (Q. coccinea), lengths of both sequences (983 vs 473), aligned regions (41-69), and identity percentages (99.9% and 99.2%).
- B Target genome sequence:** Displays the target genome sequence with highlighted CpG sites.
- C Bisulfite sequence:** Displays the bisulfite-treated sequence with highlighted CpG sites.
- D Alignment:** Shows the alignment of the target genome sequence against the bisulfite sequence, with different colors indicating methylated (dark blue), unmethylated (light blue), and unconverted (white) CpG sites.

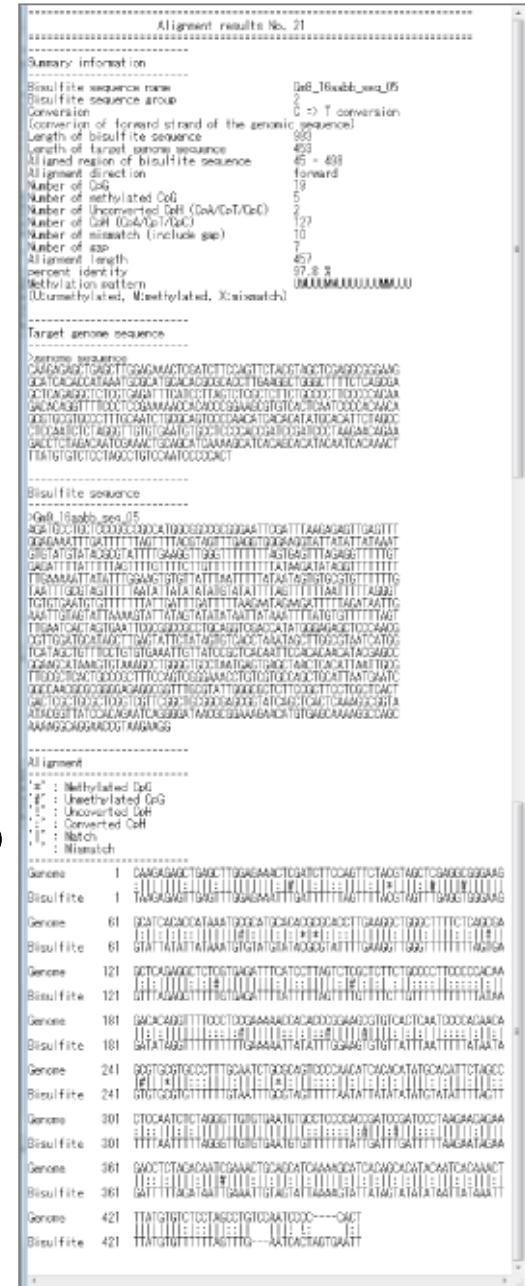
6.5.2. アライメントデータダウンロー

“Download alignment data”ボタンをクリックすると、このバイナルファイル配列についてのアライメントデータがダウンロードされます。



6.5.3. アライメントデータ

ダウンロードしたアライメントデータのファイルはテキストエディット(マック)やメモ帳(Windows)などのテキストエディタで開くことができます。



7. 入力配列について

7.1. ゲノム配列について

ファイルを選択してアップロードするか、テキストボックスにゲノム配列をコピー＆ペーストで張り付けます([5.4. 高機能トップページ](#))。ゲノム配列は、バイサルファイトPCRのターゲット領域の配列で、プライマー間のゲノム配列を用いて下さい。また、変換されていない配列でなければなりません(前もって“C”を“T”に変換する必要はありません)。

配列の形式としては、[8.1. plain sequence 形式](#)、[8.2. FASTA 形式](#)または[8.3. GenBank 形式](#)が使用可能です。

アップロードするファイルの形式としてはリッチテキスト形式（“.rtf”のファイル拡張子）またはプレーンテキスト形式のテキストファイルのみが使用可能です。例えばマイクロソフトワードのファイルなどバイナリファイルは使用できません。

リッチテキスト形式のファイルは、マックではテキストエディット、ウインドウズではワードパッドで作成できます。また、ほとんどのワープロソフトでも保存形式を選択することで作成可能です。プレーンテキスト形式のファイルは、マックではテキストエディット、ウインドウズではメモ帳で作成可能です。また、一般的なテキストエディタで作成できますし、ほとんどのワープロソフトでも保存形式を選択することで作成可能です。

7.2. バイサルファイト配列について

ファイルを選択してアップロードするか、テキストボックスにゲノム配列をコピー&ペーストで張り付けます（[5.4. 高機能トップページ](#)の場合）。バイサルファイト配列としては、DNA シークエンサーから出力されたファイルをそのまま使用可能で、プラスミドベクターの配列を除去しなくても大丈夫です。

アップロードするファイルとしては、[8.4. Multi-FASTA 形式](#)のバイサルファイト配列のファイルか、[8.5. 配列ファイルが入った zip 形式のアーカイブ\(圧縮フォルダ\)](#)が使用可能です。テキストボックスに張り付けるバイサルファイト配列としては、[8.4. Multi-FASTA 形式](#)の配列が使用可能です。

Multi-FASTA 形式のファイルをアップロードする場合、ファイルの形式としては[リッチテキスト形式（“.rtf”のファイル拡張子）](#)または[プレーンテキスト形式のテキストファイル](#)のみが使用可能です。例えばマイクロソフトワードのファイルなど[バイナリファイル](#)は使用できません。

リッチテキスト形式のファイルは、マックではテキストエディット、ウインドウズではワードパッドで作成できます。また、ほとんどのワープロソフトでも保存形式を選択することで作成可能です。プレーンテキスト形式のファイルは、マックではテキストエディット、ウインドウズではメモ帳で作成可能です。また、一般的なテキストエディタで作成できますし、ほとんどのワープロソフトでも保存形式を選択することで作成可能です。

8. 配列形式について

8.1. plain sequence 形式

Plain sequence 形式は配列を表す文字と改行のみで構成されます。一つのファイルには一つの配列しか記述できません。

例)

```
CAGTCCGGCAGCGCCGGGTTAACGCGGCCAAGTAAACGTAGCGCAGCGA  
TCGGCGCCGGAGATTCGCGAACCGACACTCCGCGCCGCCGGCCAG  
GACCCGCGCGCGATCGCGCGCCGCGCTACAGCCAGCCTCACTGGCGCG  
CGGGCGAGCGCACGGCGCTC
```

8.2. FASTA 形式

FASTA 形式の配列は行頭が(">") で始まるコメントの行があり、その次の行以降に配列が記述されます。

[FASTA 形式についての詳細な説明 \(英語版 Wikipedia\)](#)

例)

```
>Dnmt3a partial sequence  
ACTCCCCGTGCGCGCCCGGCCGTAGCGTCCTCGTCGCCGCCCTCGTCT  
CGCAGCCGCAGCCCGCGTGGACGCTCTGCCTGAGCGCCGCGACTAGCC  
CGGGTGGCCCCTGGCGCGCGGCGAGCGCACGGCGCTCCAGTCCGGCA  
GCGCCGGGGTTAACGCGGCCAAGTAAACGTAGCGCAGCGATGGCGCCGG  
AGATTGCGAACCCGACACTCCGCGCCGCCGGCCAGGACCCGCGGC  
GCGATCGCGGGCGCCGCGCTACAGCCAGCCTCACGACAGGCGCTGAGGC  
TTGTGCCAGACCTTGGAAACCTCAGGTATATACTTCCAGACGCGGGAT  
CTCCCTCCCCATCCATAGTGCCTGGGACCAAATCCAGGGCTTCTTT  
CAGGAAACAATGAAGGGAGACAGCAGACATCTGAATGAAGAAGAGGGTGC  
CAGCGGGTATGAGGAGTGCATTATCGTTAATGGGAACCTCAGTGACCACT  
CCTCAGACACGAAGGATGCTCCCTACCCCCAGTCTGGAGGCAATCTGC  
ACAGAGCCAGTCTGCACACC
```

8.3. GenBank 形式

GenBank 形式(または GenBank Flat File 形式) は行頭の”LOCUS”から始まるアノテーション部分と、行頭の”ORIGIN”から始まる配列部分で構成されており、アノテーション部分の次に配列部分が続き、その後の”//”のみの行によって、一つの配列のエントリが終わりになります。

[GenBank 形式についての NCBI による詳細な説明 \(英語\)](#)

例)							
LOCUS	AF068625	200 bp	mRNA	linear	ROD	06-DEC-1999	
DEFINITION	Mus musculus DNA cytosine-5 methyltransferase 3A (Dnmt3a) mRNA, complete cds.						
ACCESSION	AF068625	REGION:	1..200				
VERSION	AF068625.2	GI:	6449467				
KEYWORDS							
SOURCE	Mus musculus (house mouse)						
ORGANISM	Mus musculus						
REFERENCE							
AUTHORS	Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi; Mammalia; Eutheria; Euarchontoglires; Glires; Rodentia; Sciurognathi; Muroidea; Muridae; Murinae; Mus.						
TITLE	1 (bases 1 to 200)						
JOURNAL	Okano, M., Xie, S. and Li, E.						
PUBMED	Cloning and characterization of a family of novel mammalian DNA (cytosine-5) methyltransferases						
REFERENCE	Nat. Genet. 19 (3), 219-220 (1998)						
AUTHORS	9662389						
TITLE	2 (bases 1 to 200)						
JOURNAL	Xie, S., Okano, M. and Li, E.						
REFERENCE	Direct Submission						
AUTHORS	Submitted (28-MAY-1998) CVRC, Mass. Gen. Hospital, 149 13th Street, Charlestown, MA 02129, USA						
TITLE	3 (bases 1 to 200)						
JOURNAL	Okano, M., Chijiwa, T., Sasaki, H. and Li, E.						
REMARK	Direct Submission						
COMMENT	Submitted (04-NOV-1999) CVRC, Mass. Gen. Hospital, 149 13th Street, Charlestown, MA 02129, USA						
FEATURES	Sequence update by submitter						
source	On Nov 18, 1999 this sequence version replaced gi:3327977.						
	Location/Qualifiers						
	1..200						
	/organism="Mus musculus"						
	/mol_type="mRNA"						
	/db_xref="taxon:10090"						
	/chromosome="12"						
	/map="4.0 cM"						
gene	1..>200						
	/gene="Dnmt3a"						
ORIGIN							
	1 gaattccggc ctgctgccgg gccgccccac ccgcggggcc acacggcaga gccgcctgaa						
	61 gcccagcgct gaggctgcac ttttccgagg gcttgacatc agggtctatg tttaagtctt						
	121 agctcttgct tacaaagacc acggcaattc cttctctgaa gccctcgtag ccccacagcg						
	181 ccctcgacg cccagcctgc						
//							

8.4. Multi-FASTA 形式

Multi-FASTA 形式は複数の [8.2. FASTA 形式](#) の配列によって構成されます。

例)

```
>sequence1
ACTCCCGTGCAGCGCCGGCCGTAGCGTCCTCGTCGCCGCCCCTCGTCTCGCAGCCGCA
GCCCGCGTGGACGCTCTCGCCTGAGCGCCGCGGACTAGCCCGGTGGCC
>sequence2
CAGTCCGGCAGCGCCGGGTTAACGCGGCCAAGTAAACGTAGCGCAGCGATCGGCGCCGG
AGATTCGCGAACCCGACACTCCCGCGCCGCCGGCCAGGACCCGCGCGATCGCGG
CGCCGCGCTACAGCCAGCCTCACTGGCGCGGGCGAGCGCACGGCGCTC
>sequence3
CACGACAGGCCCCGCTGAGGCTTGTGCCAGACCTGGAAACCTCAGGTATATACTTCCA
GACGCGGGATCTCCCTCCCC
>sequence4
CAGCAGACATCTGAATGAAGAAGAGGGTGCCAGCGGGTATGAGGAGTGCATTATCGTTAA
TGGGAACCTCAGTGACCAAGTCCTCAGACACGAAGGATGCTCCCTCACCCCCAGTCTTGA
GGCAATCTGCACAGAGCCAGTCTGCACACC
```

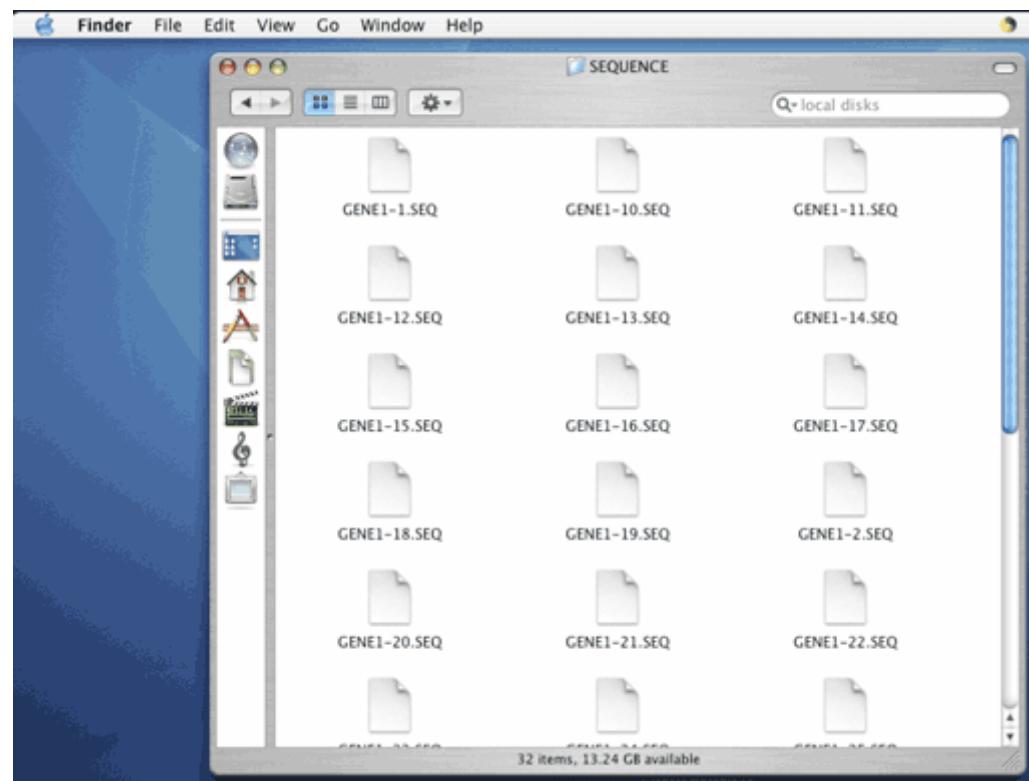
8.5. 配列ファイルが入った zip 形式のアーカイブ(圧縮フォルダ)

zip 形式のアーカイブとしては、[8.2. FASTA 形式](#)または[8.1. plain sequence 形式](#)の配列ファイルが入った一つのフォルダをアーカイブにしたもののが使用可能です。配列ファイルの拡張子としては、".seq", ".fa", ".fas", ".fasta"または".txt"が使用可能です。

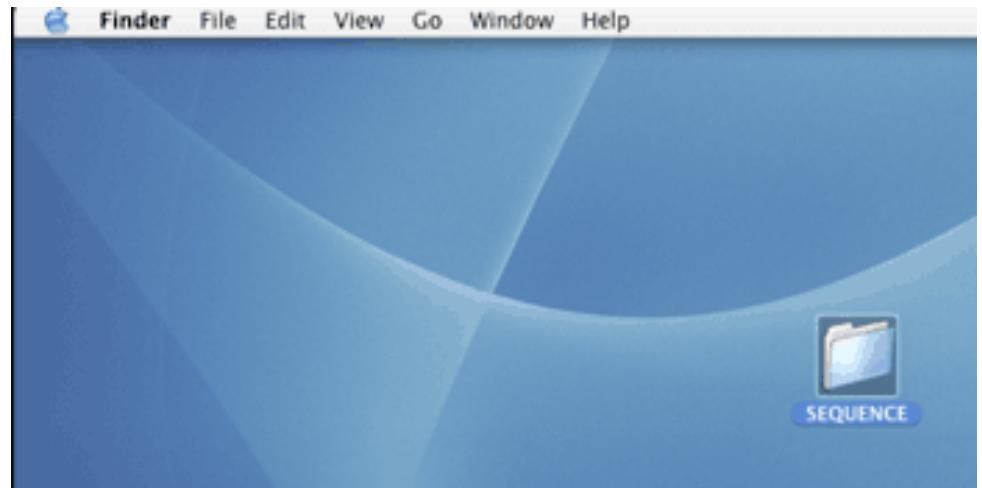
8.6. zip 形式のアーカイブの作成方法(マック)

8.6.1. マック OS X 10.3 以降の場合

1. [8.2. FASTA 形式](#)または[8.1. plain sequence 形式](#)のバイナルファイル配列のファイルをフォルダに入れます(配列ファイルの拡張子としては".seq", ".fa", ".fas", ".fasta"または".txt"が使用可能)



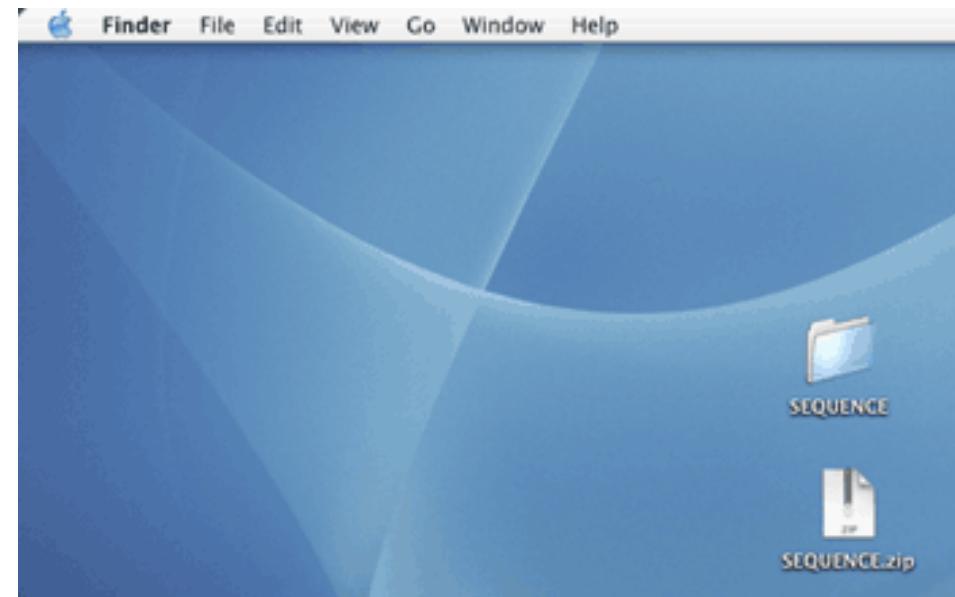
2. フォルダをクリックして選択し



3. Finder ツールバーの “ファイル” メニューから ““フォルダ名” のアーカイブを作成” を選択します



4. “.zip”の拡張子を持つ zip 形式のアーカイブが、元のフォルダの近くの場所に自動的に現れます



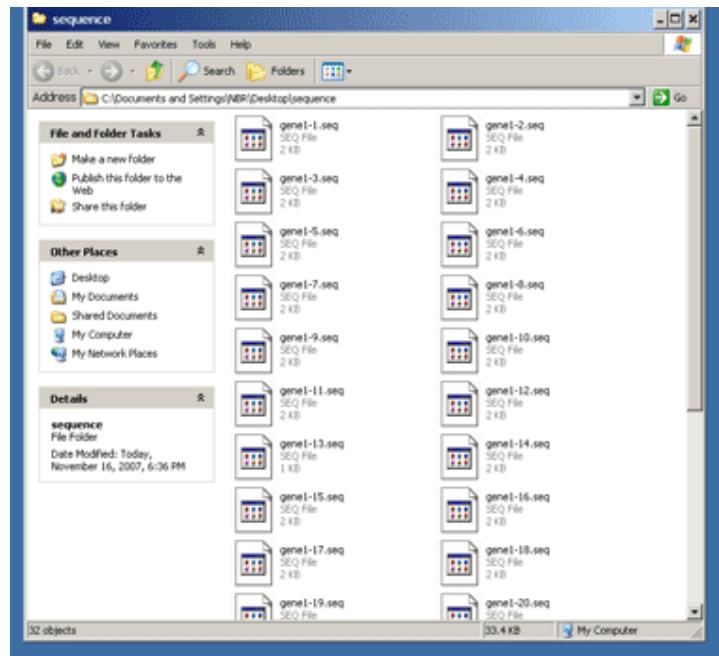
8.6.2. 他のマック OS の場合

[ZipIT!](#)、[CleanArchiver](#)、[MacZip](#)、[STUFFIT](#) 等のプログラムで zip 形式のアーカイブが作成可能です。

8.7. zip 形式の圧縮フォルダの作成方法(ウィンドウズ)

8.7.1. ウィンドウズ Me/XP/ビ스타の場合

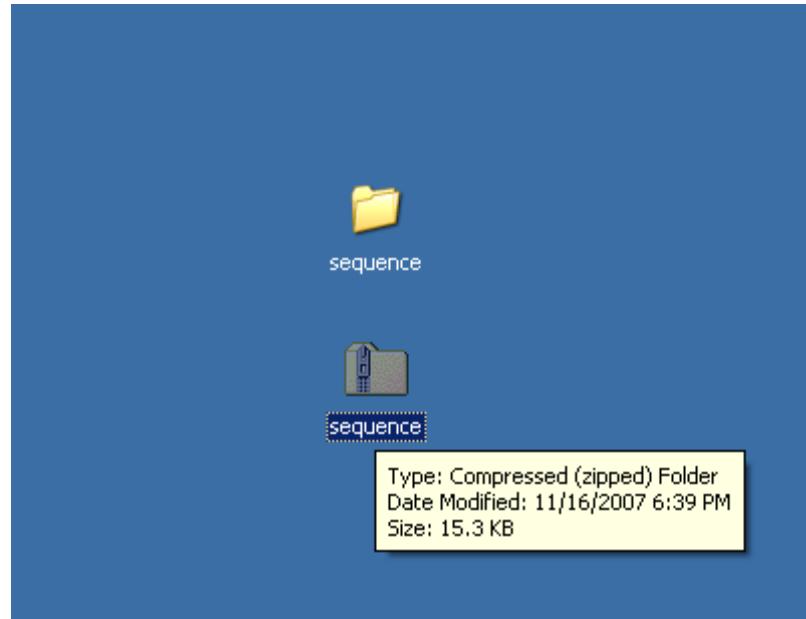
1. [8.2. FASTA 形式](#)または[8.1. plain sequence 形式](#)のバイタルファイル配列のファイルをフォルダに入れます(配列ファイルの拡張子としては".seq", ".fa", ".fas", ".fasta"または".txt"が使用可能)



2. フォルダを右クリックし、マウスを“送る”に移動させ、“圧縮(zip 形式)フォルダ”を選択します



3. zip 形式の圧縮フォルダが、元のフォルダの近くの場所に自動的に現れます



8.7.2. 他のウインドウズの場合

7-Zip、WinZip 等のプログラムで zip 形式の圧縮フォルダが作成可能です。

9. 統計処理

9.1. フィッシャーの正確確率検定

各 CpG サイトについて、二つのバイサルファイト配列のグループ間で、メチル化割合に違いがあるかどうかの統計的有意性は、[フィッシャーの正確確率検定](#)を用いて求めています。フィッシャーの正確確率検定は、ノンパラメトリックな統計手法で、2 つのカテゴリーのデータ間にランダムではない相関があるかを統計的に検定するための方法です。基本的には、フィッシャーの正確確率検定はカイニ乗検定と同様に独立性の検定に用いることができますが、CpG のメチル化解析のように、少ない数のメチル化または未メチル化のデータに対しては、フィッシャーの正確確率検定の方が正確です。データから 2×2 の分割表を作成した場合に、いずれかの升目の値が 5 以下ぐらいの小さい値の場合は、カイニ乗検定は不適当です。カイニ乗検定では近似を用いていますが、フィッシャーの正確確率検定は近似を用いていないため、フィッシャーの正確確率検定の方が(計算量は大きいですが)正確に検定することができます。サンプル数が十分に多い場合には、フィッシャーの正確確率検定とカイニ乗検定の 検定結果は同じになります。フィッシャーの正確確率検定における両側検定での P 値は、下記に示すような 各 CpG サイトのメチル化状態についての 2×2 の分割表から計算します。この P 値は 2 つのグループ間での CpG のメチル化の状態が独立している(違いがある)かどうかを示すのに用います。

□ CpG メチル化状態の 2×2 の分割表の例

- a: ある CpG サイトにおけるグループ 1 でのメチル化 CpG の数
- b: ある CpG サイトにおけるグループ 1 での未メチル化 CpG の数
- c: ある CpG サイトにおけるグループ 2 でのメチル化 CpG の数
- d: ある CpG サイトにおけるグループ 2 での未メチル化 CpG の数

	メチル化 CpG	未メチル化 CpG
グループ 1	a	b
グループ 2	c	d

実例として、表1のようなサンプルデータについて、まず、表2のように変換します。

表1

CpG サイトの位置		375
メチル化 CpG	グループ 1	12/13 (92.3%)
	グループ 2	4/10 (40.0%)
	計	16/23 (69.6%)

表2

	メチル化 CpG	未メチル化 CpG	計
グループ 1	12	1	13
グループ 2	4	6	10
計	16	7	23

この事象の確率 p は以下のように求められます：

$$p = \frac{a+b}{a+b+c+d} \cdot \frac{c+d}{a+b+c+d} = \frac{13}{375} \cdot \frac{10}{23} = (13! \cdot 10!) / (12! \cdot 1! \cdot 4! \cdot 6! \cdot 23!) = 0.0111357212$$

ここで、記号 ! は階乗を意味します。

a	b	c	d	ad - bc	確率 p
6	7	10	0	70	0.0069995962
7	6	9	1	47	0.0699959618
8	5	8	2	24	0.2362363710
9	4	7	3	1	0.3499798089
10	3	6	4	22	0.2449858662
11	2	5	5	45	0.0801771926
12	1	4	6	68	0.0111357212
13	0	3	7	91	0.0004894823

周辺度数(2x2分割表の外側の、13, 10, 16, 7)を固定したとき、全部で左表の9種類の組み合わせが考えられます。

これらの組み合わせのうち、"ad - bc"の絶対値がサンプルの事象での値(68)以下となる組み合わせについて、その確率 p を合計したものが両側検定での P 値になります。この例では、a = 6, 12, 13 の場合が該当し、両側検定での P 値は以下のように求まります。

$$P\text{-value} = 0.0069995962 + 0.0111357212 + 0.0004894823 = 0.0186257997$$

9.2. マン・ホイットニーの U 検定

二つのバイサルファイト配列のグループについて、全ての CpG サイトを含んだ形で、統計的な有意差があるかどうかについては[マン・ホイットニーの U 検定](#)を用いて P 値を求めていきます。マン・ホイットニーの U 検定は、ウィルコクソンの順位和検定とも呼ばれ、2 群の分布したデータ間に統計的な有意差があるかどうか調べるのに用いられるノンパラメトリックな統計手法です。マン・ホイットニーの U 検定はスチューデントの t 検定と同様の状況で用いられますが、特に CpG メチル化の解析での hyper または hypo メチル化の場合のように、分布が明らかに正規分布から外れるような場合には、パラメトリックな方法であるスチューデントの t 検定よりも、ノンパラメトリックな方法であるマン・ホイットニーの U 検定の方が適していると思われます。マン・ホイットニーの U 検定における両側検定の P 値は、各バイサルファイト配列でのメチル化率(配列中の全ての CpG に対するメチル化された CpG の割合)についての順位から求めます(下記参照)。この P 値は、バイサルファイト配列の 2 つのグループ間での、メチル化率の分布が独立しているか(違があるか)を示します。

重要な点として、マン・ホイットニーの U 検定は、2 つのグループそれぞれのメチル化率の平均値に違いがあるかどうかを検定する方法であるため、インプリンティング領域の CpG のメチル化のようなアレル特異的なメチル化については検定できません。具体的には、(1)ランダムな 50% のメチル化、(2)0% メチル化のアレルと 100% メチル化のアレルが半分ずつ、の 2 群を区別できません。また、メチル化率から求めていくので、メチル化のパターンの違いは考慮されません。

□ 例

右のサンプルデータセット(QUMA のサンプル配列の解析結果)について、メチル化率の平均値、0.7409 と 0.2579 の違いが有意かどうかを調べます。

	各配列についての メチル化 CpG/全 CpG (メチル化 CpG の数 / CpG の数)	メチル化率の 平均値	配列数
グループ 1	6/19, 6/19, 8/19, 9/19 12/19, 15/19, 16/19, 18/19, 18/19, 18/19, 18/18, 19/19, 19/19	0.7409	13 (= n ₁)
グループ 2	2/19, 2/19, 3/19, 3/19 5/19, 5/19, 7/19, 7/19, 7/19, 8/19	0.2579	10 (= n ₂)

最初に、値(この場合メチル化率)の順位を決めます。もし同順位が複数ある場合は、順位の平均値を用います。たとえば、このサンプルデータでは二つの配列でメチル化率が3/19で順位が3位と4位ですが、この場合は、平均値の3.5を両方の配列の順位として用います。

次に、それぞれのグループの順位和、 R_1 と R_2 を求めます。

位置 i	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	順位和
メチル化 CpG/全 CpG	2/19	3/19	5/19	6/19	7/19	8/19	9/19	12/19	15/19	16/19	18/19	1	
順位	1,2	3,4	5,6	7,8	9-11	12,13	14	15	16	17	18-20	21-23	
順位(平均)	1.5	3.5	5.5	7.5	10	12.5	14	15	16	17	19	22	
	グループ1	0	0	0	2	0	1	1	1	1	3	3	212.5 (=R ₁)
配列数	グループ2	2	2	2	0	3	1	0	0	0	0	0	63.5 (=R ₂)
	計	2	2	2	2	3	2	1	1	1	3	3	

そして、それぞれのグループごとの U 値である U_1 と U_2 を下記の式から求めます。

$$U_1 = n_1 * n_2 + n_1 * (n_1 + 1) / 2 - R_1 = 8.5$$

$$U_2 = n_1 * n_2 + n_2 * (n_2 + 1) / 2 - R_2 = 121.5$$

U_1 と U_2 のうち、より小さい値を U として採用します。このデータでは $U = 8.5$ となります。

最後に、両側検定の P 値を U 値から求めます。配列数が多い場合(20 配列以上)は、正規分布による近似を用いて P 値を求めています。配列数が少ない場合(20 配列以下)は、直接計算により正確な確率を求めています(マン・ホイットニーの正確確率 U 検定)。

正規分布による近似は以下のように行っています。

$$z = |U - E(U)| / \sqrt{V(U)}$$

ここで、 z は標準正規分布に従うとしています。 $E(U)$ は U 値の平均値、 $V(U)$ は U 値の分散で、以下のように求めます。

$$E(U) = n_1 n_2 / 2$$

$$V(U) = \frac{n_1 n_2}{12(n^2 - n)} \left\{ n^3 - n - \sum_{i=1}^m (t_i^3 - t_i) \right\}$$

ここで、 t_i は位置 i における配列数(同順位の配列の数)です。

このサンプルデータでは $E(U) = 65$, $V(U) = 257.812$, $z = 3.51879$ となります。そして標準正規分布の統計表から、両側検定の P 値は 0.0004 となります(両側検定では統計表から求めた上側確率の 2 倍)。

別のサンプルデータ(配列数 11)について、マン・ホイットニーの正確確率 U 検定で P 値を求めます。

表 1

	各配列についての メチル化 CpG/全 CpG (メチル化 CpG の数 / CpG の数)	メチル化率の平均値	配列数
グループ 1	6/19, 6/19, 9/19 12/19, 15/19, 18/19	0.5789	6 (= n_1)
グループ 2	3/19, 5/19, 5/19, 7/19, 7/19	0.2842	5 (= n_2)

表2

位置 i	1	2	3	4	5	6	7	8	配列数	順位和
メチル化 CpG/全 CpG	3/19	5/19	6/19	7/19	9/19	12/19	15/19	18/19		
順位	1	2,3	4,5	6,7	8	9	10	11		
順位(平均)	1	2.5	4.5	6.5	8	9	10	11		
	グループ1	0	0	2	0	1	1	1	6	47 (=R ₁)
配列数	グループ2	1	2	0	2	0	0	0	5	19 (=R ₂)
	計	1	2	2	2	1	1	1	11	

$$U_1 = n_1 * n_2 + n_1 * (n_1 + 1) / 2 - R_1 = 4$$

$$U_2 = n_1 * n_2 + n_2 * (n_2 + 1) / 2 - R_2 = 26$$

$$U = \min(U_1, U_2) = 4$$

周辺度数(各グループの配列数 6 と 5、及び、各メチル率についての配列数 1, 2, 2, 2, 1, 1, 1, 1)を固定した場合、176 の組み合わせがあり、そのうち、U 値がサンプルデータでの U 値である 4 以下の 11 通りの組み合わせは以下のようにになります。

位置 i	1	2	3	4	5	6	7	8	順位和	U 値	確率
メチル化 CpG/全 CpG	3/19	5/19	6/19	7/19	9/19	12/19	15/19	18/19			
順位	1	2,3	4,5	6,7	8	9	10	11			
順位(平均)	1	2.5	4.5	6.5	8	9	10	11			
グループ 1/グループ 2	1/0	2/0	2/0	1/1	0/1	0/1	0/1	0/1	21.5/44.5	0.5	0.00433
グループ 1/グループ 2	1/0	2/0	2/0	0/2	1/0	0/1	0/1	0/1	23/43	2	0.00216
グループ 1/グループ 2	1/0	2/0	2/0	0/2	0/1	1/0	0/1	0/1	24/42	3	0.00216
グループ 1/グループ 2	1/0	2/0	2/0	0/2	0/1	0/1	1/0	0/1	25/41	4	0.00216
グループ 1/グループ 2	1/0	2/0	1/1	2/0	0/1	0/1	0/1	0/1	23.5/42.5	2.5	0.00433
グループ 1/グループ 2	1/0	2/0	1/1	1/1	1/0	0/1	0/1	0/1	25/41	4	0.00866
グループ 1/グループ 2	0/1	1/1	0/2	1/1	1/0	1/0	1/0	1/0	47/19	4	0.00866
グループ 1/グループ 2	0/1	0/2	2/0	0/2	1/0	1/0	1/0	1/0	47/19	4	0.00216
グループ 1/グループ 2	0/1	0/2	1/1	2/0	0/1	1/0	1/0	1/0	47.5/18.5	3.5	0.00433
グループ 1/グループ 2	0/1	0/2	1/1	1/1	1/0	1/0	1/0	1/0	49/17	2	0.00866
グループ 1/グループ 2	0/1	0/2	0/2	2/0	1/0	1/0	1/0	1/0	51/15	0	0.00216

両側検定の P 値を求めるには、これらの 11 の組み合わせそれぞれの確率の合計値を求めます。このサンプルでは、両側検定の P 値は 0.0498 となります。

10. その他

10.1. CSV 形式のファイルの開き方

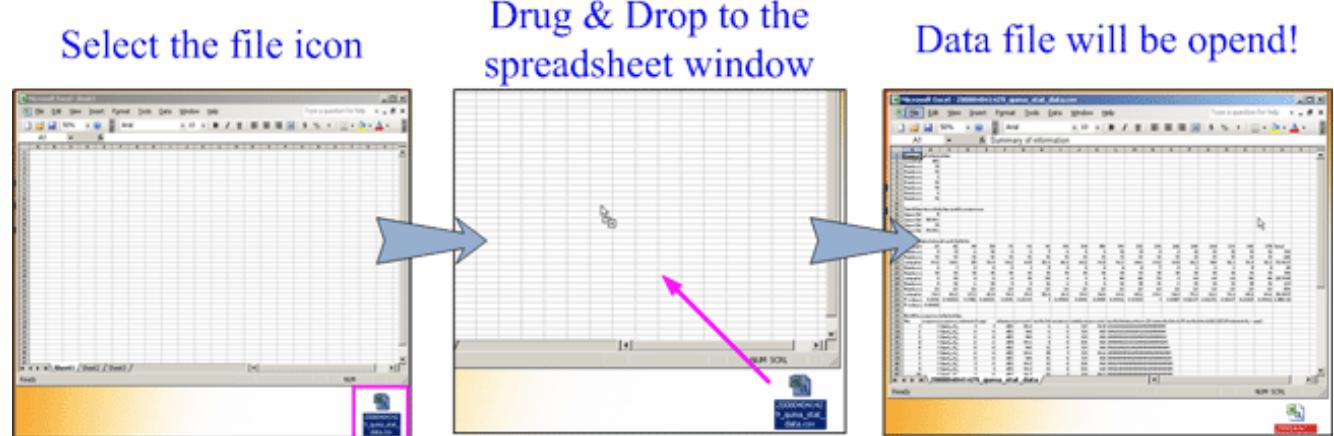
多くの場合、CSV 形式の解析データファイルのアイコンをダブルクリックすることで、マイクロソフトエクセルが起動してファイルが開かれます。もしダブルクリックで開けない場合は”ドラッグ & ドロップ”により開きます（下記参照）。

10.1.1. Mac OS

CSV 形式のデータファイルのアイコンをマイクロソフトエクセルやオープンオフィスのアイコンにドラッグ & ドロップします。

10.1.2. Windows

マイクロソフトエクセルやオープンオフィス／スタースHEETで新規ウィンドウを開きます。そして、CSV データファイルのアイコンを新規ウィンドウにドラッグ & ドロップします。



もしくは”ファイル”メニューの”開く”から開きます。ファイル選択ダイアログではファイルの種類を”全てのファイル”または”テキストファイル”に変更します。