

2018.05.08版

講義資料PDFが講義のページからダウンロード可能です。講義資料の印刷物はありません。課題用のA4一枚はあります。第2回出席予定の持込みPCの方は、当日までにJavaのインストールをしておいてください

機能ゲノム学第1回

¹大学院農学生命科学研究科
アグリバイオインフォマティクス教育研究プログラム

²微生物科学イノベーション連携研究機構

門田幸二(かどた こうじ)

kadota@iu.a.u-tokyo.ac.jp

<http://www.iu.a.u-tokyo.ac.jp/~kadota/>

prerequisite

デスクトップ上にhogeフォルダを作成してください。①
本科目のウェブページにいき、②今日の講義で用いる
ファイルをhogeフォルダ上にダウンロードしておいて
ください。③講義資料PDFをざっと眺めておきましょう

9.機能ゲノム学

①

授業の目標・概要

細胞中で発現している全転写物（トランスクリプトーム）解析手法について、特に発現データ解析部分を中心に解説します。また、Rのスキルアップを目指します。

担当教員

門田幸二（東大・農・アグリバイオ / 准教授）

お知らせ

講義では、Rの様々なパッケージを利用します。持ち込み用PC利用希望者は [インストール | について](#) を参考にしてR本体および必要なパッケージ群を**必ずインストール**しておいてください。

フリーソフトウェアRの基本的な利用法を習得済みであることを前提として行いますので、[基本的な利用方法](#)を参考にして基礎的な事柄を理解しておいてください。

参考図書

門田幸二 著 (金明哲 編)、「シリーズ Useful R ⑦ トランスクリプトーム解析」、共立出版、2014。ISBN:978-4-320-12370-0

坊農香盛 著、生命科学データ解析、MEDSi、2017

講義日程（平成30年度）

- 平成30年05月08日
講義資料PDF
.gff3ファイル (約1.3MB)
.faファイル (約2.2MB)
(Rで)塩基配列解析
(Rで)マイクロアレイデータ解析
plasmid1.gff3(課題用)
plasmid2.gff3(課題用)
- 平成30年05月15日
講義資料PDF
- 平成30年05月22日
講義資料PDF
- 平成30年05月29日
講義資料PDF

講義日程（平成30年度）

- 平成30年05月08日
③ 講義資料PDF
.gff3ファイル (約1.3MB)
.faファイル (約2.2MB)
(Rで)塩基配列解析
(Rで)マイクロアレイデータ解析
plasmid1.gff3(課題用)
plasmid2.gff3(課題用)
②
- 平成30年05月15日
講義資料PDF
- 平成30年05月22日
講義資料PDF
- 平成30年05月29日
講義資料PDF

確認

①デスクトップ上のhogeフォルダ内がこんな感じになっていれば最低限OK

File Explorer window showing the contents of a folder named 'hoge' on the desktop. The address bar shows the path 'C:\Users\%kojik\Desktop\hoge' with a red arrow pointing to it. The file list contains four items:

名前	更新日時	サイズ	種類
Lactobacillus_hokkaidonensis_jcm_18461.GCA_000829395.1.30.chromosome.Chromosome.gff3	2016/02/09 14:00	1,343 KB	GFF3 ファイル
Lactobacillus_hokkaidonensis_jcm_18461.GCA_000829395.1.30.dna.chromosome.Chromosome.fa	2015/11/04 2:13	2,262 KB	FA ファイル
plasmid1.gff3	2017/04/18 15:06	55 KB	GFF3 ファイル
plasmid2.gff3	2017/04/18 15:06	28 KB	GFF3 ファイル

4 個の項目

講義予定

細胞中で発現している全転写物(トランスクリプトーム)解析手法について、特に発現データ解析部分を中心に解説します。また、Rのスキルアップを目指します。。**できるだけRNA-seqの内容を取り入れます。第3回以降は変更の可能性大。**
①ナノポアシーケンサーを用いたRNA-seqもホットピック!

■ 第1回(2018年05月08日)

- 原理(マイクロアレイとRNA-seq)、データ解析の概要
- トランスクリプトーム配列解析、公共データベース(DB)

■ 第2回(2018年05月15日)

- 公共DB関連のTips、FASTQ、ウェブブラウザに注意
- クオリティコントロール(FastQCなど)

■ 第3回(2018年05月22日)

- 発現変動解析(多重比較問題とFDR)、各種プロット(M-A plot)
- 参考書の3.2節と4.2節周辺

■ 第4回(2018年05月29日)

- 発現変動解析(デザイン行列や3群間比較)
- 機能解析(Gene Ontology解析やパスウェイ解析)



Contents

- トランスクリプトーム解析技術の原理や特徴
 - マイクロアレイとRNA-seq
 - 遺伝子 ≠ 転写物
- RNA-seqデータ解析のイメージ
 - マッピング → 新規転写物の同定
- 様々な解析目的
 - ショートリードのIllumina、ロングリードのPacBioとMinION
 - データ解析の全体像（入出力の関係や代表的なツール）
- アノテーションファイルの読み込みと課題1
 - Rで転写物配列取得のイントロ
- Rで転写物配列取得と課題2
 - アノテーションファイルとゲノム情報ファイルから
- 公共データベース
 - NGS全体 (NCBI SRA, EMBL-EBI ENA, DDBJ SRA)
 - DRAの概要、クオリティスコアなど

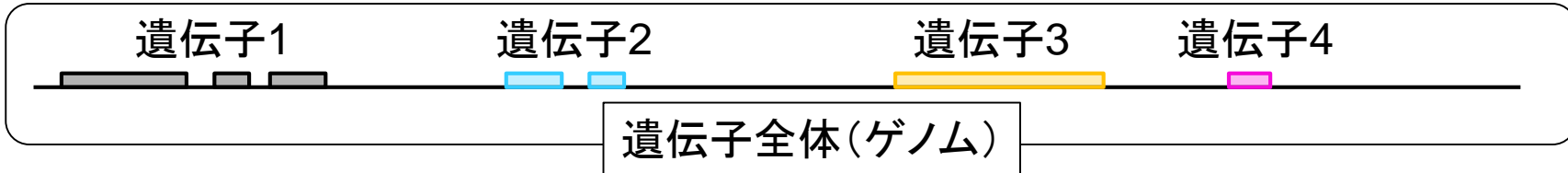
イントロダクション

調べたいサンプルでゲノム中のどの領域が、
どういう時期に、どの程度転写されている
(発現している)かを調べるのがトランスクリ
プトーム解析。遺伝子発現解析や発現解
析は、トランスクリプトーム解析の一部

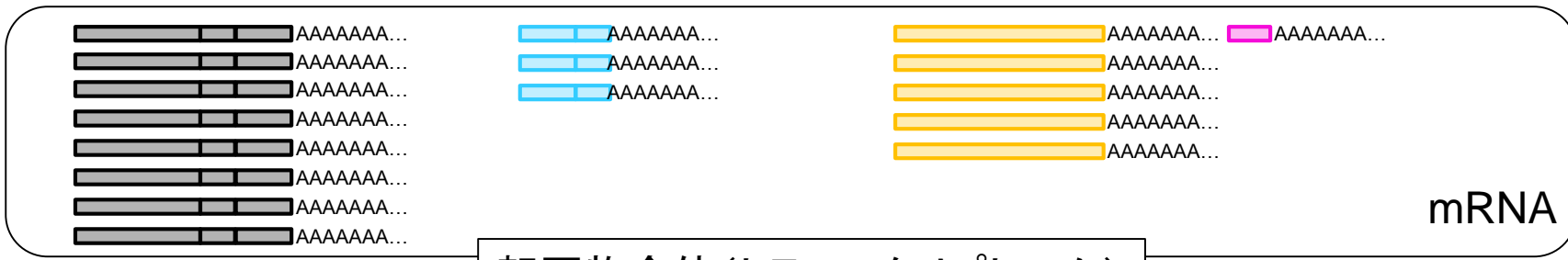
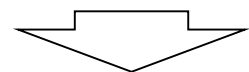
- トランスクリプトームとは
 - ある特定の状態の組織や細胞中に存在する全RNA(転写物、transcripts)の総体
- 様々なトランスクリプトーム解析技術
 - マイクロアレイ(配列既知の生物種)
 - Affymetrix GeneChip、Illumina BeadArrayなど
 - 配列決定に基づく方法(配列未知でもよい)
 - EST、SAGE、CAGE、RNA-seqなど

トランスクリプトーム解析

- ある状態のあるサンプル(例:目)のあるゲノムの領域



・どの染色体上のどの領域にどの遺伝子があるかは調べる個体(例:ヒト)が同じなら不変(目だろうが心臓だろうが...)



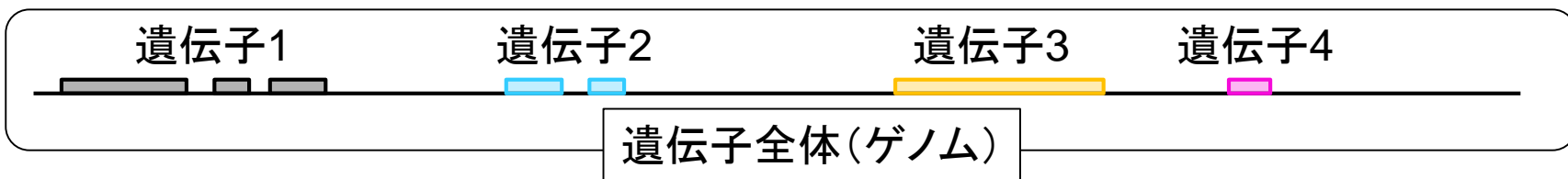
- ・遺伝子1は沢山転写されている(発現している)
- ・遺伝子4はごくわずかしか転写されてない
- ・...

働いているRNAの種類
や量を調べるのが目的

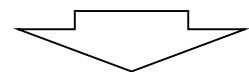
光刺激

トランスクリプトーム解析

- ある状態のあるサンプル(例:目)のあるゲノムの領域



・どの染色体上のどの領域にどの遺伝子があるかは調べる個体(例:ヒト)が同じなら不変(目だろうが心臓だろうが...)

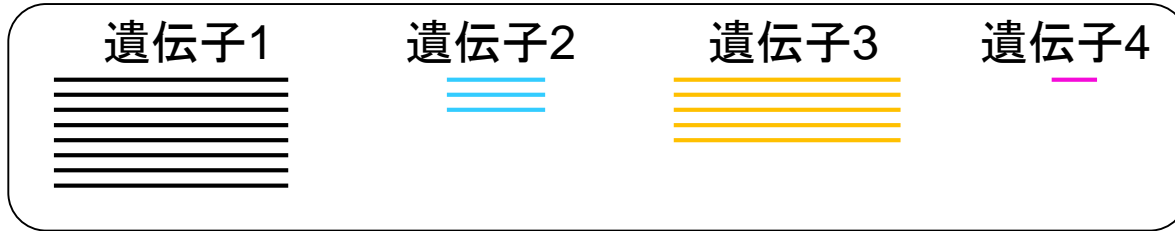


・光刺激に応答して発現亢進するのは遺伝子2と4

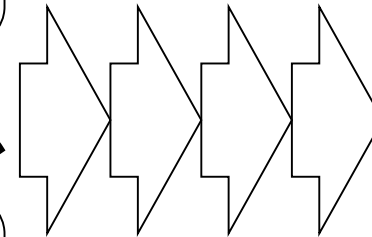
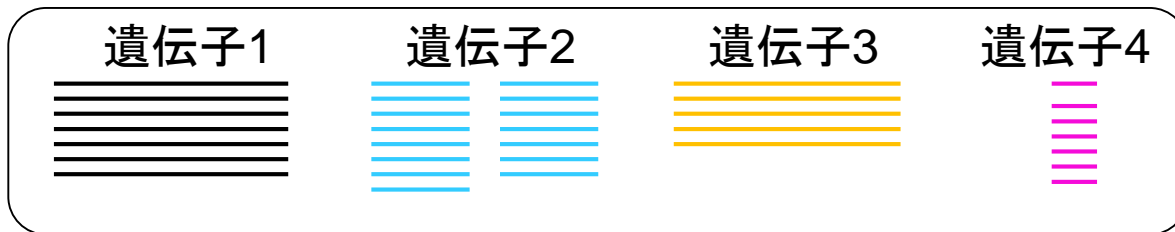
状態の異なる複数サンプルのデータを取得して解析するのが一般的。サンプル間比較。

トランスクリプトーム解析

■ 光刺激前 (T1) の目のトランスクリプトーム



■ 光刺激後 (T2) の目のトランスクリプトーム

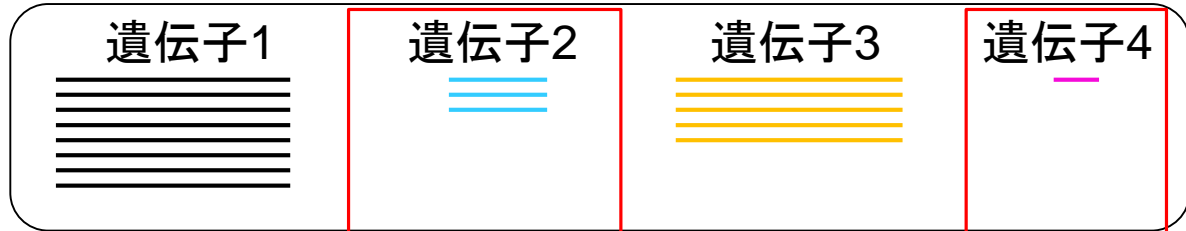


	T1	T2
遺伝子1	8	7
遺伝子2	3	15
遺伝子3	5	5
遺伝子4	1	7
...

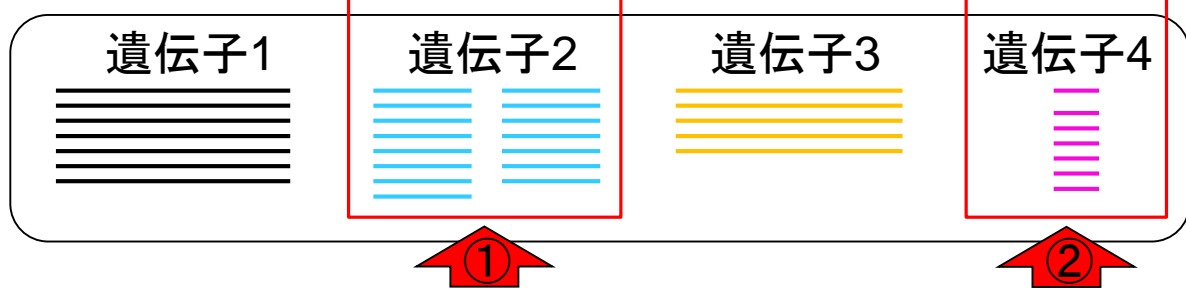
具体的な目的は、①や②の発現変動遺伝子同定など。

トランスクリプトーム解析

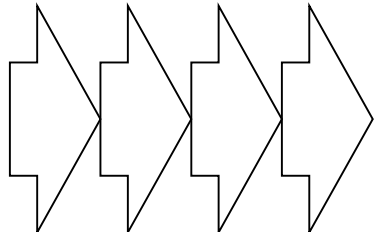
■ 光刺激前 (T1) の目のトランスクリプトーム



■ 光刺激後 (T2) の目のトランスクリプトーム



これがいわゆる「遺伝子発現行列」

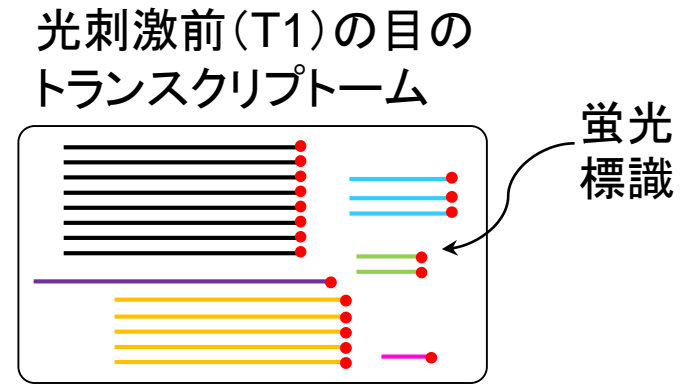
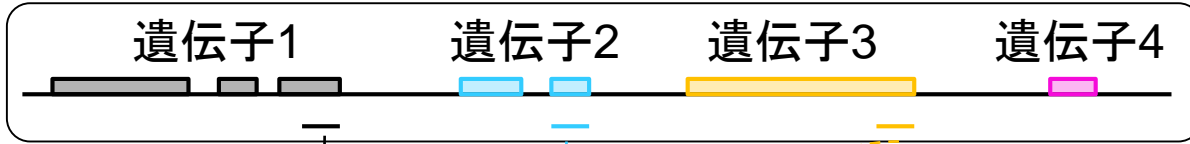


	T1	T2
遺伝子1	8	7
遺伝子2	3	15
遺伝子3	5	5
遺伝子4	1	7
...

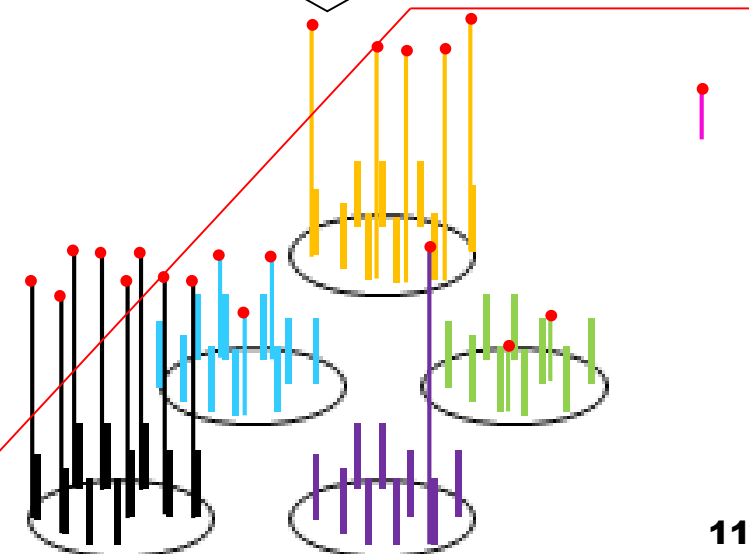
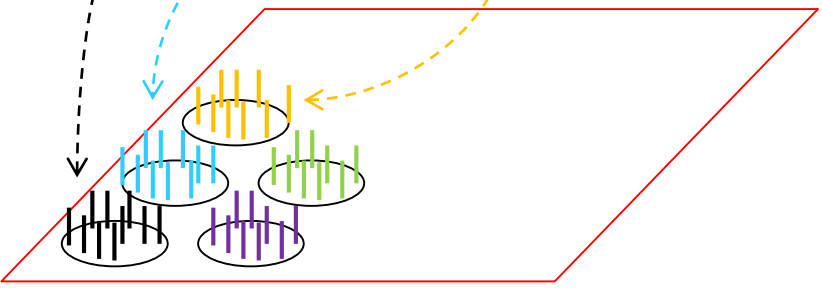
マイクロアレイ

搭載遺伝子数や種類はメーカー次第。
遺伝子4など、搭載されていない遺伝子
や未知遺伝子の発現情報は測定不可...

- よく研究されている生き物は多数の遺伝子 (の配列情報) がわかっている



ハイブリダイゼーション

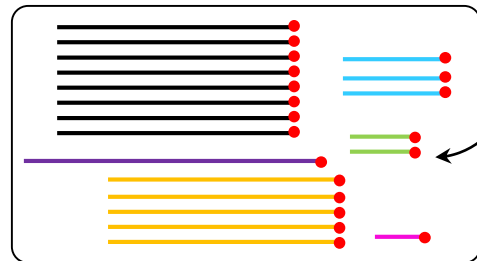


既知遺伝子 (の配列の相補鎖) のプローブを搭載した”チップ”。12mm × 12mm程度

マイクロアレイ

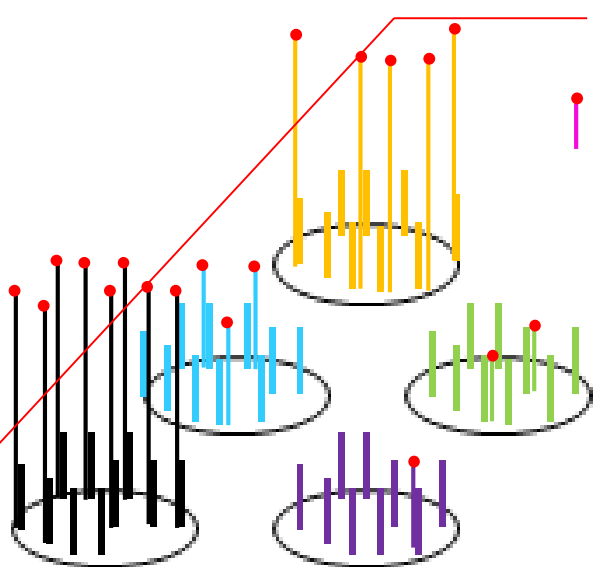
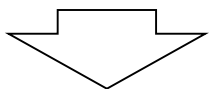
光刺激前(T1)と光刺激後(T2)の状態の数値データを比較して、サンプル(状態)間で発現に差がある遺伝子(発現変動遺伝子; DEG)を同定

光刺激前(T1)の目の
トランスクリプトーム



蛍光
標識

ハイブリダイゼーション

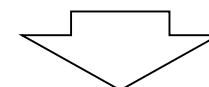
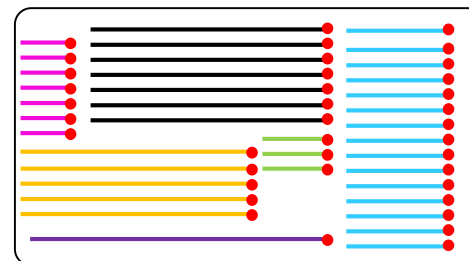


専用の検出器で各
遺伝子に対応する
領域の蛍光シグナ
ル強度を測定

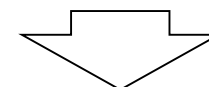


	T1
遺伝子1	8
遺伝子2	3
遺伝子3	5
遺伝子4	?
遺伝子5	...
...	...

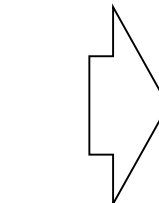
光刺激後(T2)の目の
トランスクリプトーム



ハイブリダイゼーション
とシグナル検出



T2
7
15
5
?
...
...



データ解析

RNA-seq

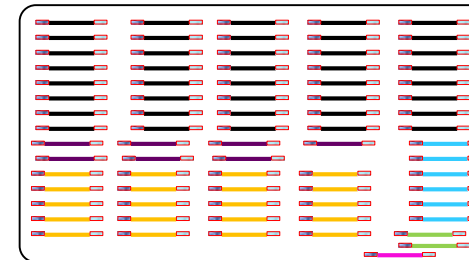
入力: 抽出されたRNA



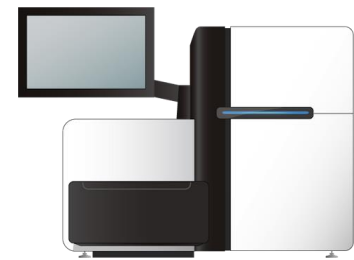
断片化
→



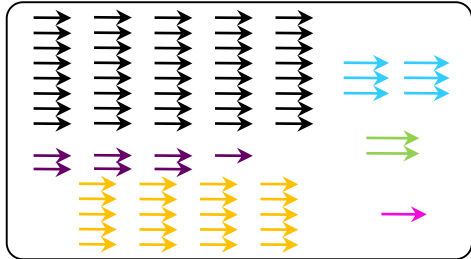
アダプター付加
↓



NGSで
配列決定
←



出力: 塩基配列



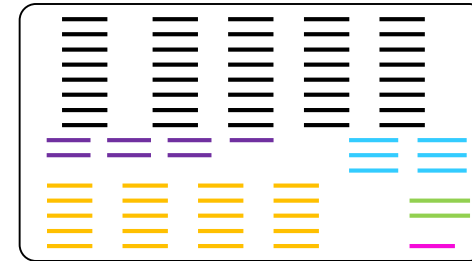
RNA-seq

NGSの出力は、リードと呼ばれる数百塩基程度の配列が延々と続く巨大なファイル。各矢印が1つのリードに相当。この段階では、まだどのリードがどの転写物由来かは不明(なので灰色一色)

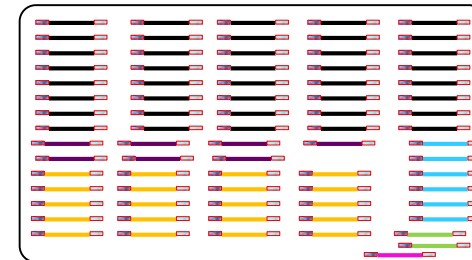
入力: 抽出されたRNA



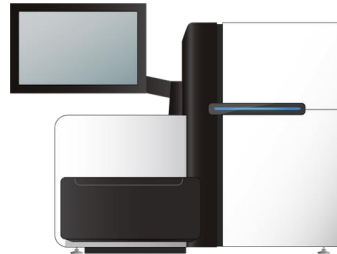
断片化



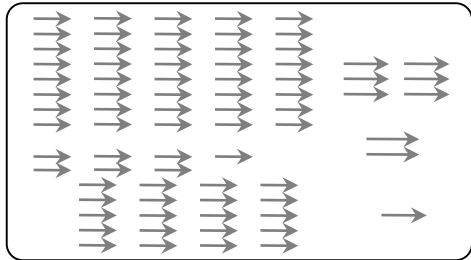
アダプター付加



NGSで
配列決定



出力: 塩基配列



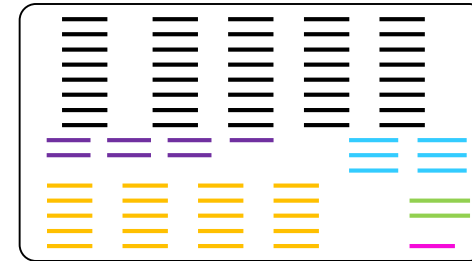
RNA-seq

Illuminaの場合は、両側から読むpaired-endと片側のみ読むsingle-endの2つのやり方が存在する。①の出カイメージはsingle-endの場合

入力: 抽出されたRNA



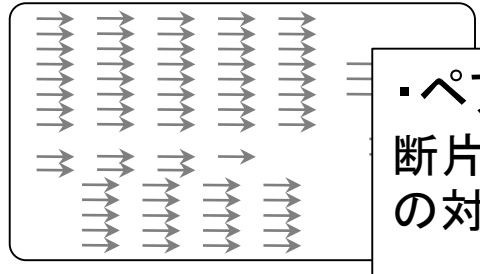
断片化



アダプター付加



出力: 塩基配列



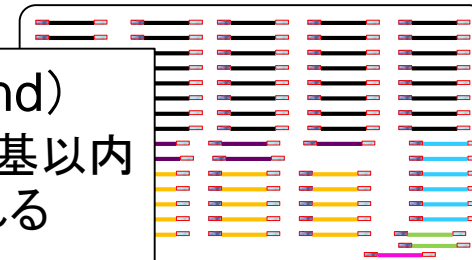
NGSで

・ペアードエンド (paired-end)
断片配列の両末端が数百塩基以内の対の2種類の配列が得られる



約50-250塩基

・シングルエンド (single-end)



the gallery by DBCLS is Licensed

under a Creative Commons 表示 2.1 日本 (c)

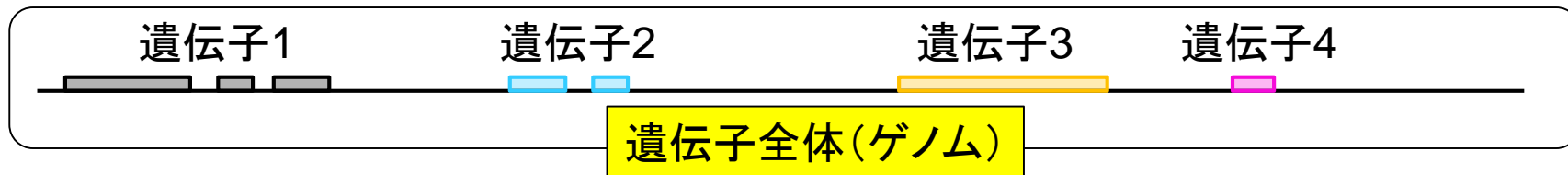
Contents

- トランスクリプトーム解析技術の原理や特徴
 - マイクロアレイとRNA-seq
 - 遺伝子 ≠ 転写物
- RNA-seqデータ解析のイメージ
 - マッピング → 新規転写物の同定
- 様々な解析目的
 - ショートリードのIllumina、ロングリードのPacBioとMinION
 - データ解析の全体像（入出力の関係や代表的なツール）
- アノテーションファイルの読み込みと課題1
 - Rで転写物配列取得のイントロ
- Rで転写物配列取得と課題2
 - アノテーションファイルとゲノム情報ファイルから
- 公共データベース
 - NGS全体 (NCBI SRA, EMBL-EBI ENA, DDBJ SRA)
 - DRAの概要、クオリティスコアなど

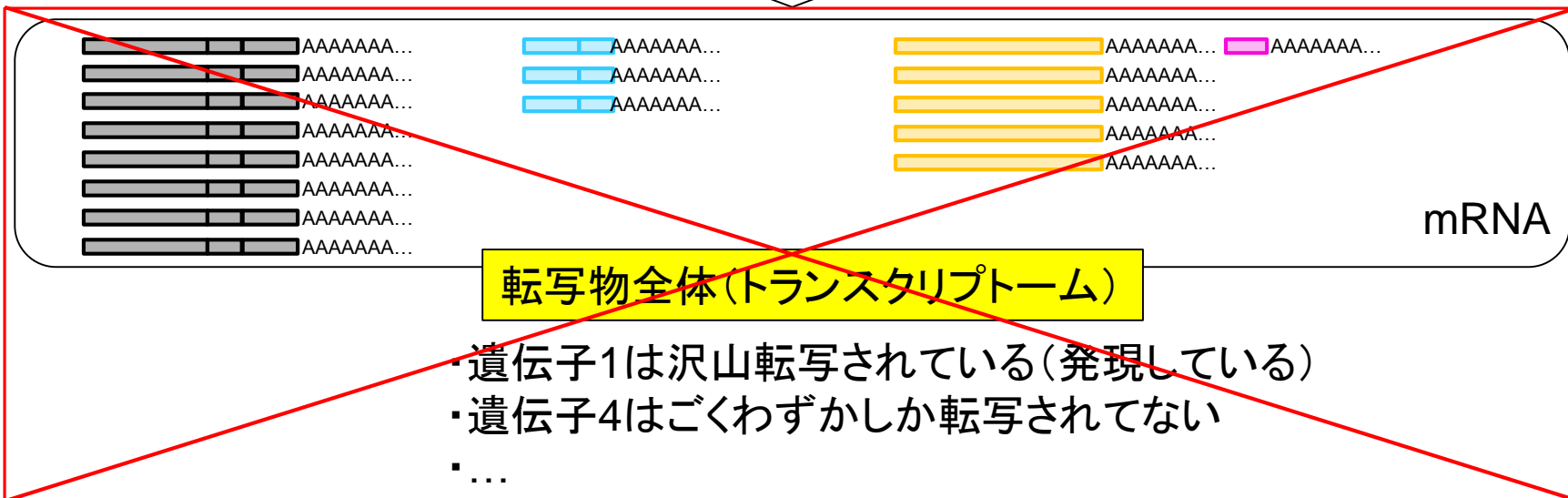
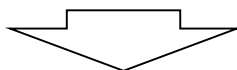
遺伝子 ≠ 転写物

①赤枠部分の表現は、本当は不正確。昔は実験機器の解像度が事実上遺伝子レベルだった。遺伝子発現解析という表現はその名残り

- ある状態のあるサンプル(例:目)のあるゲノムの領域



- ・どの染色体上のどの領域にどの遺伝子があるかは調べる個体(例:ヒト)が同じなら不変(目だろうが心臓だろうが...)



ある遺伝子領域から転写 (transcription) されている転写物 (transcript) は、1種類とは限らない

遺伝子 ≠ 転写物

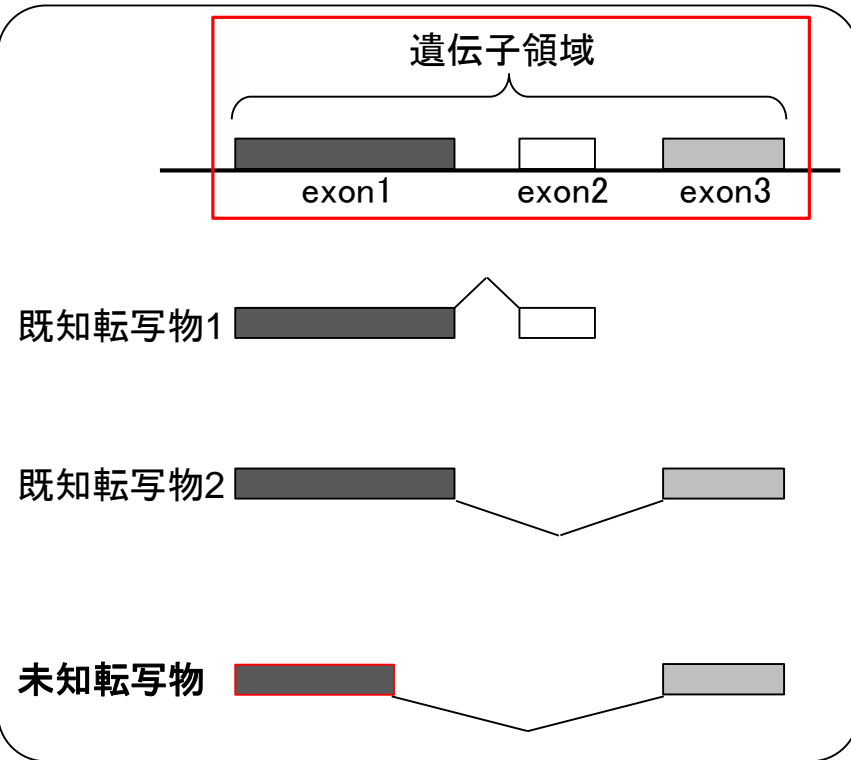
- ある状態のあるサンプル (例: 目) のあるゲノムの領域



例えば、①遺伝子1の領域では、3種類の真の転写物が存在し、そのうち2種類は既知とする

遺伝子 ≠ 転写物

- ある状態のあるサンプル(例:目)のあるゲノムの領域

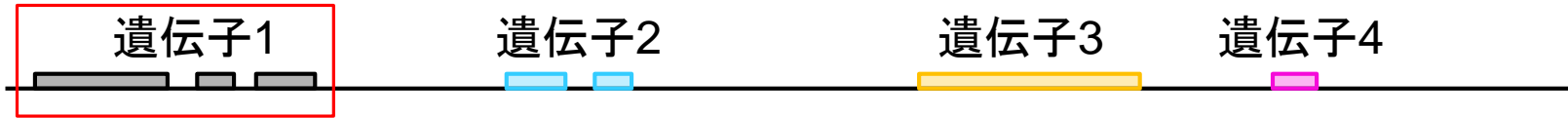


真の転写物情報

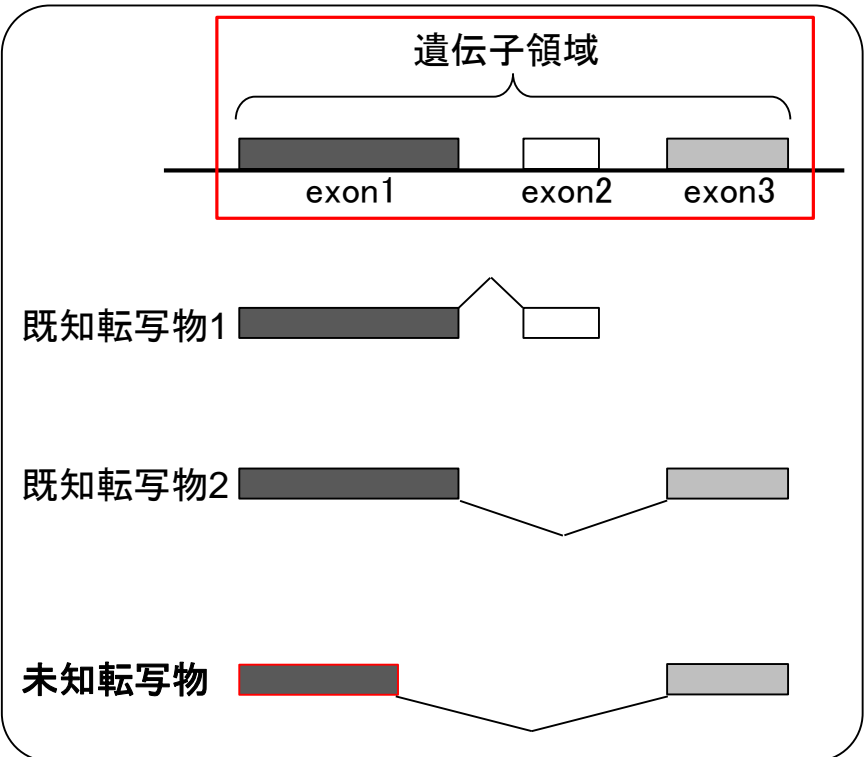
実際の細胞内(例:目のサンプル)での発現情報(働いている度合い)が①のような感じだったとする

遺伝子 ≠ 転写物

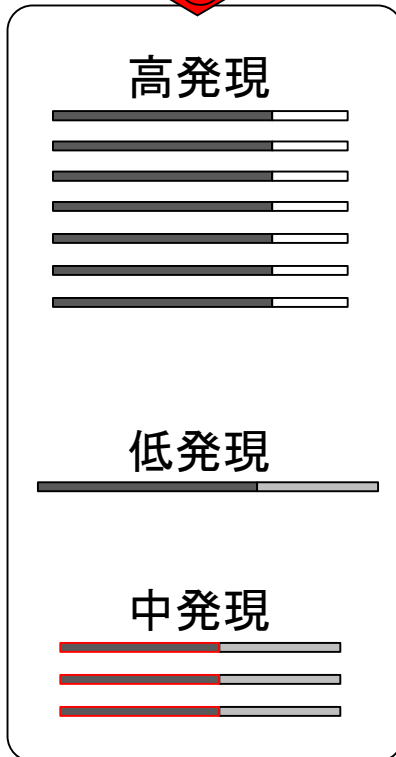
- ある状態のあるサンプル(例:目)のあるゲノムの領域



①



真の転写物情報

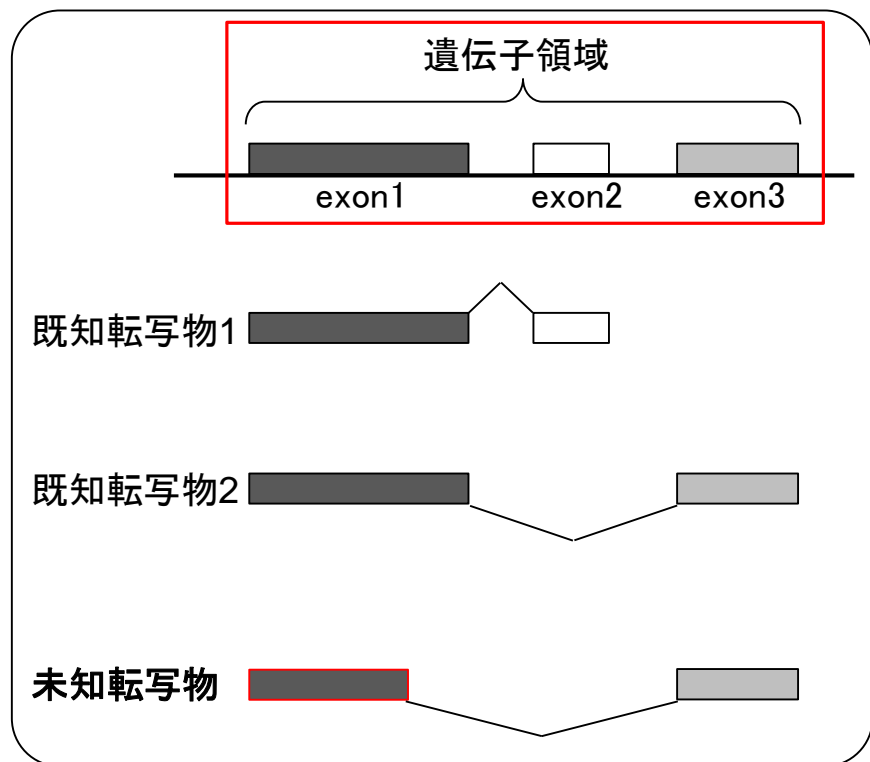
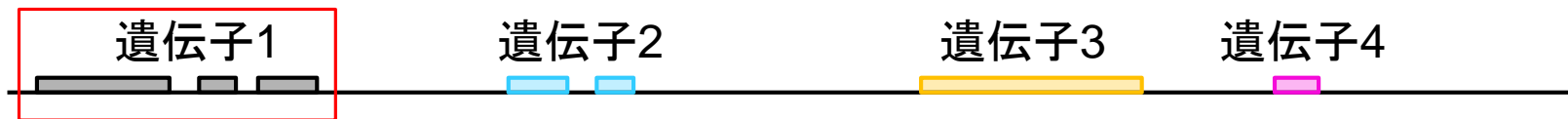


真の発現情報

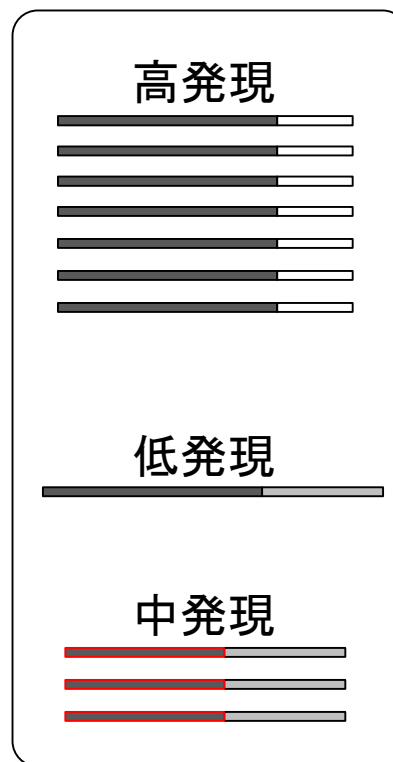
①NGS機器を用いて転写されているmRNA配列決定(RNA-seq)をした結果のイメージ

遺伝子 ≠ 転写物

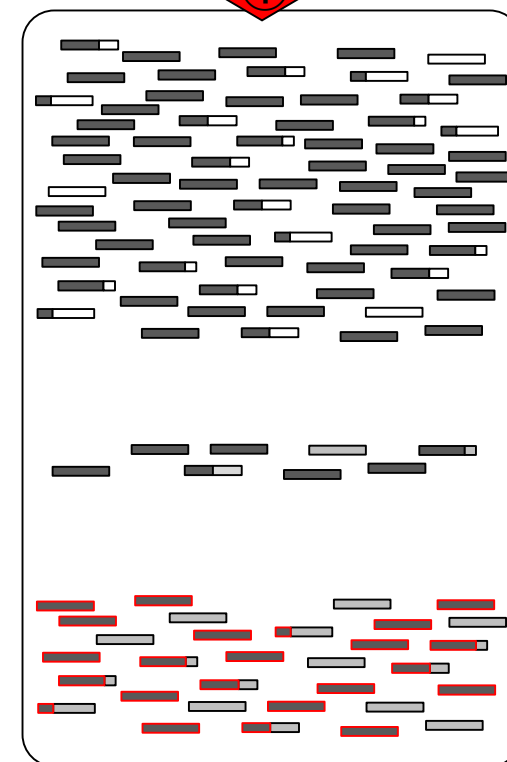
- ある状態のあるサンプル(例:目)のあるゲノムの領域



真の転写物情報



真の発現情報



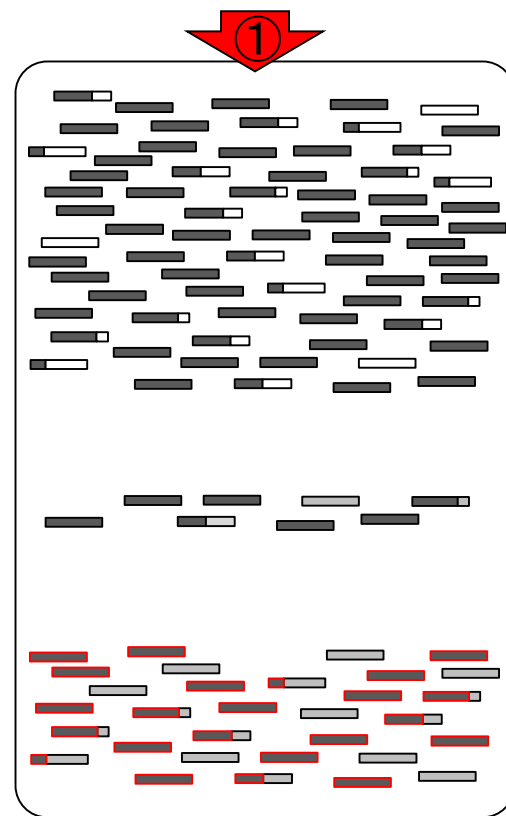
RNA-seqで得られるリード情報 (色は不明)

Contents

- トランスクリプトーム解析技術の原理や特徴
 - マイクロアレイとRNA-seq
 - 遺伝子 ≠ 転写物
- RNA-seqデータ解析のイメージ
 - マッピング → 新規転写物の同定
- 様々な解析目的
 - ショートリードのIllumina、ロングリードのPacBioとMinION
 - データ解析の全体像（入出力の関係や代表的なツール）
- アノテーションファイルの読み込みと課題1
 - Rで転写物配列取得のイントロ
- Rで転写物配列取得と課題2
 - アノテーションファイルとゲノム情報ファイルから
- 公共データベース
 - NGS全体（NCBI SRA, EMBL-EBI ENA, DDBJ SRA）
 - DRAの概要、クオリティスコアなど

データ解析の出発点

トランスクリプトーム (RNA-seq) データ解析の出発点は、①RNA-seqデータファイル、

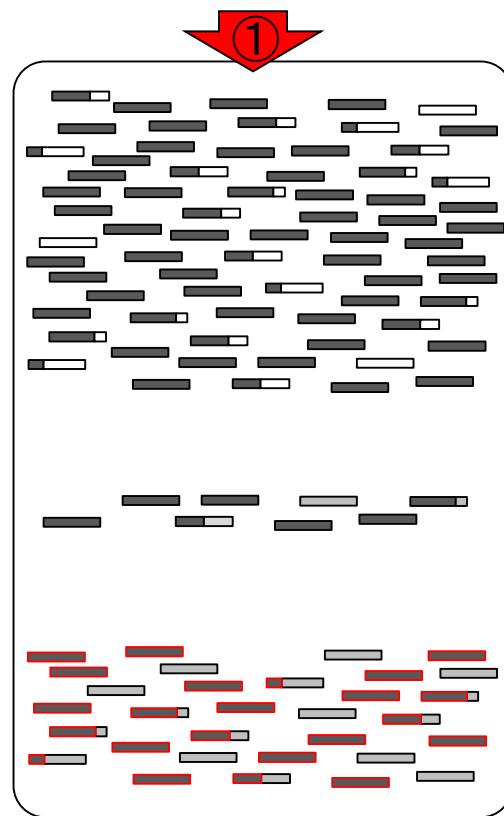


RNA-seqデータ

データ解析の出発点

トランスクリプトーム (RNA-seq) データ解析の出発点は、①RNA-seqデータファイル、②ゲノム配列情報。本当はゲノム配列でなくてもよく、リファレンス配列のほうが正確

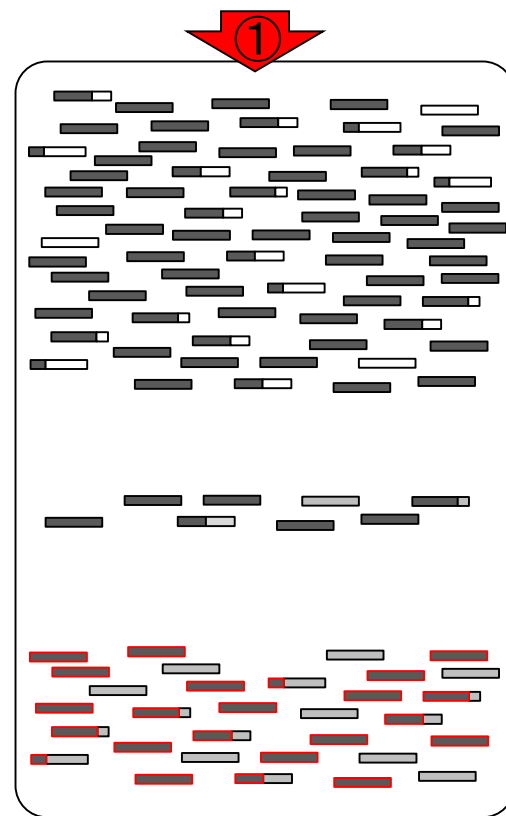
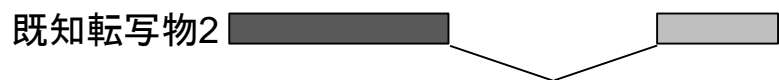
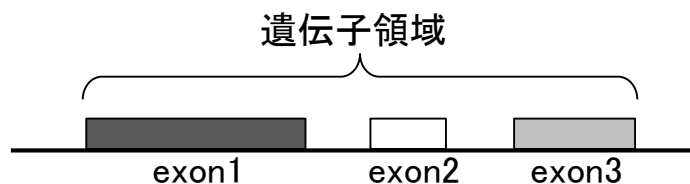
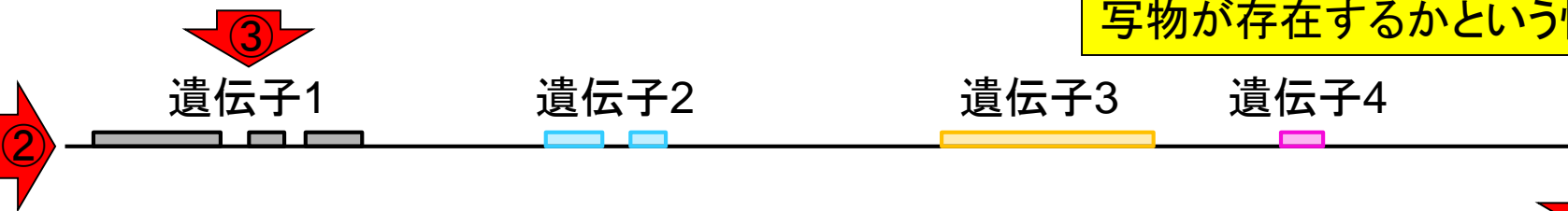
②



RNA-seqデータ

データ解析の出発点

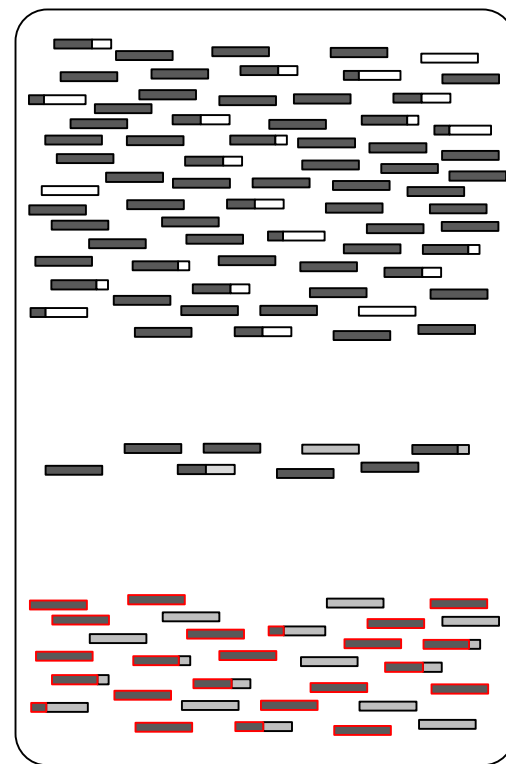
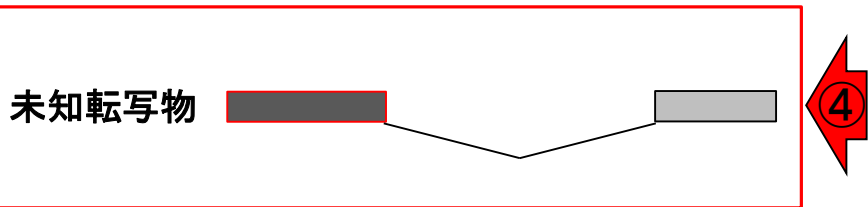
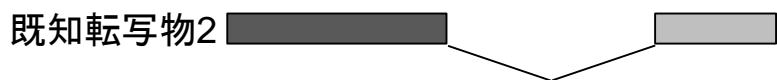
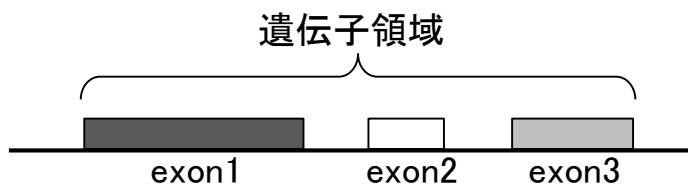
トランスクリプトーム (RNA-seq) データ解析の出発点は、①RNA-seqデータファイル、②ゲノム配列情報、③アノテーション情報(ゲノム上のどこにどんな遺伝子、exon、転写物が存在するかという情報)



RNA-seqデータ

解析結果のイメージ

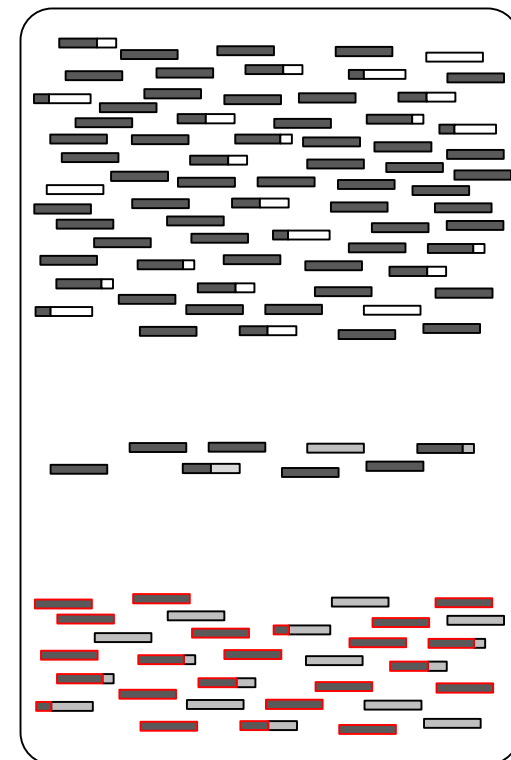
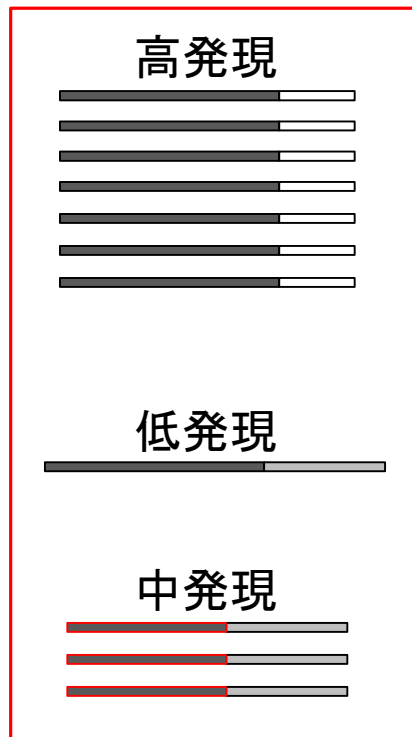
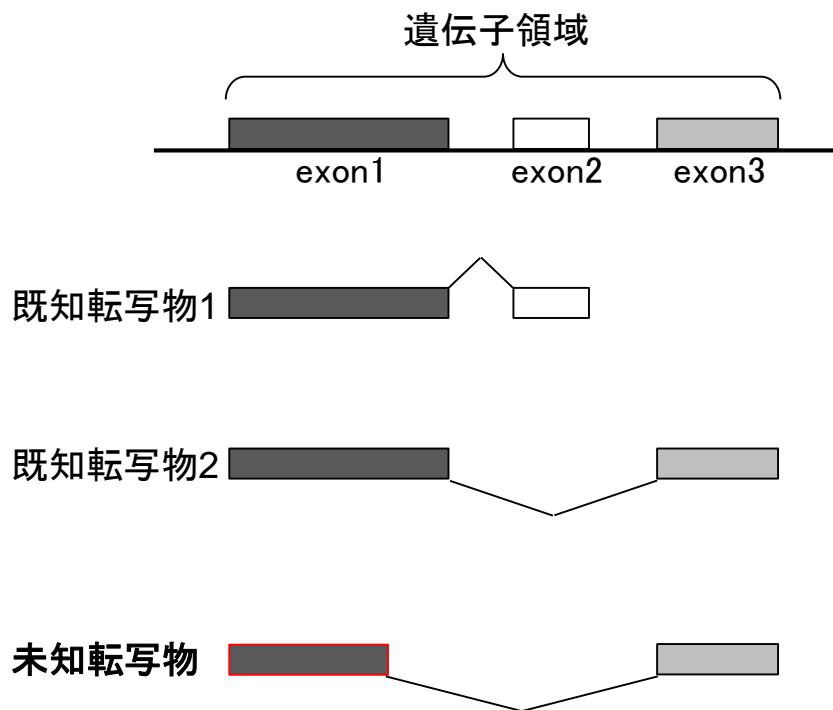
①RNA-seqデータ、②ゲノム配列情報、③アノテーション情報を利用して、④未知転写物(新規isoform)の同定ができる。



RNA-seqデータ

解析結果のイメージ

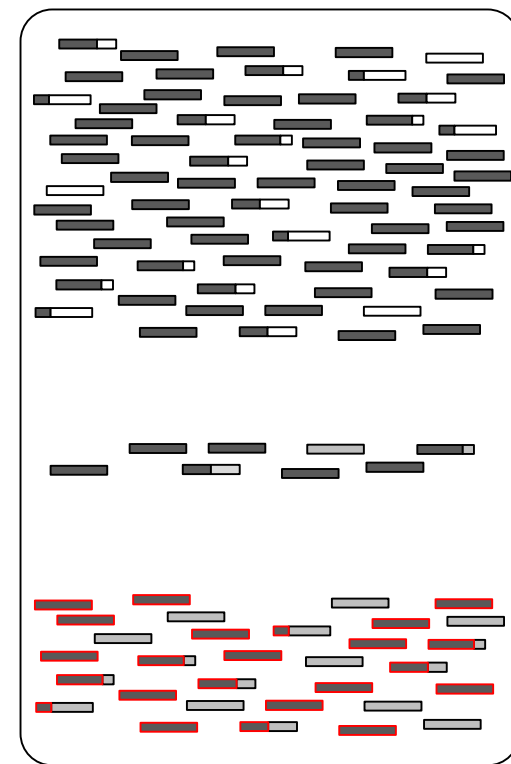
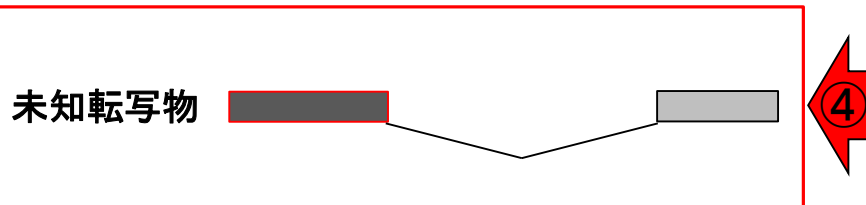
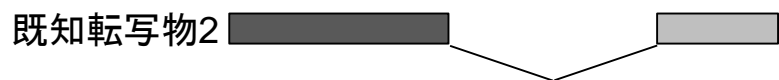
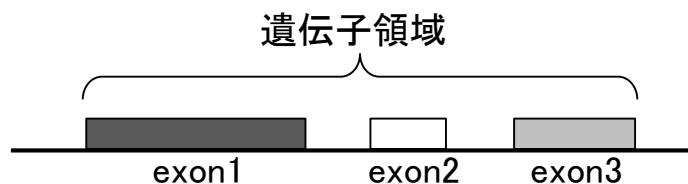
①RNA-seqデータ、②ゲノム配列情報、③アノテーション情報を利用して、④未知転写物(新規isoform)の同定ができる。⑤転写物の発現量(働いている度合い)推定も原理的に可能



RNA-seqデータ

具体的な戦略は？

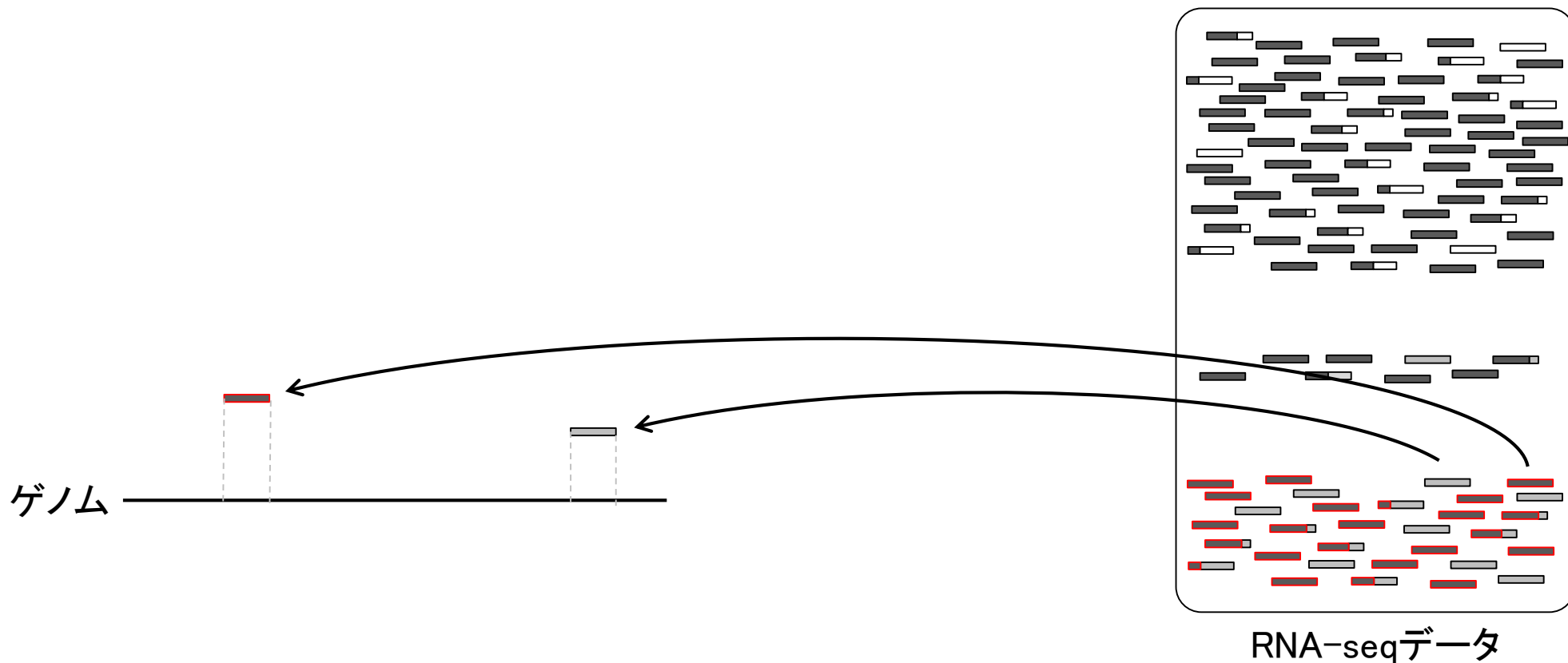
①RNA-seqデータ、②ゲノム配列情報、③アノテーション情報を利用して、④未知転写物(新規isoform)の同定ができる。



RNA-seqデータ

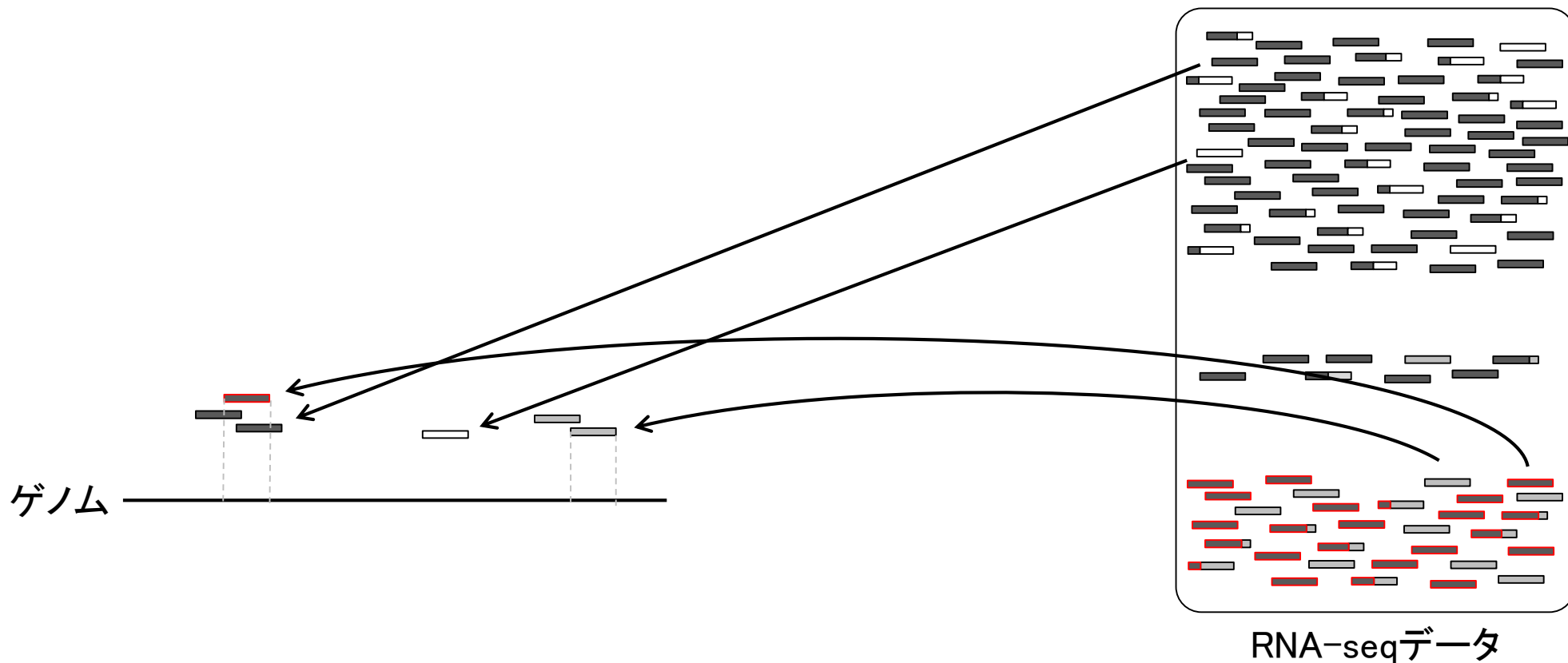
具体的な戦略

RNA-seqデータ中の1本1本のリード(横棒)がゲノム上のどの領域から転写されたのかを調べる。文字列検索と本質的に同じであり、これがマッピングという作業に相当する



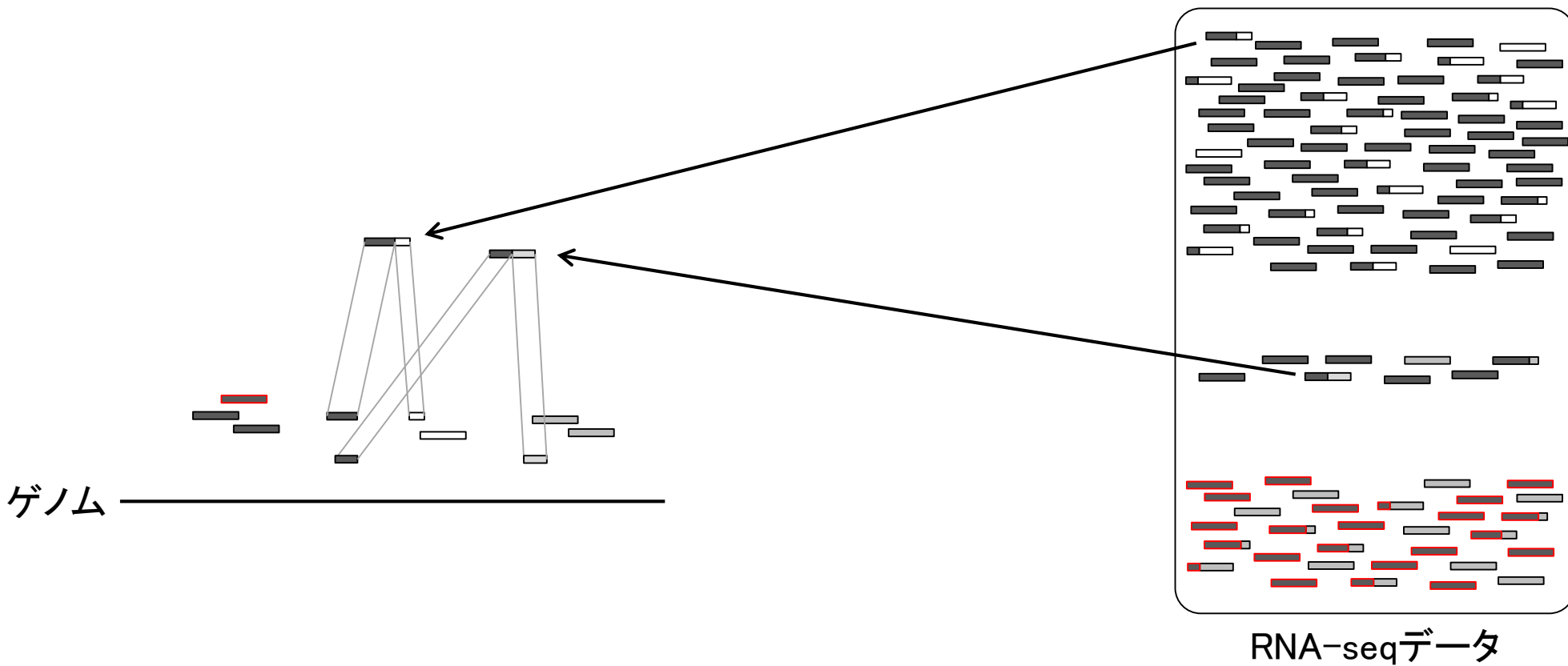
具体的な戦略

RNA-seqデータ中の1本1本のリード(横棒)がゲノム上のどの領域から転写されたのかを調べる。文字列検索と本質的に同じであり、これがマッピングという作業に相当する



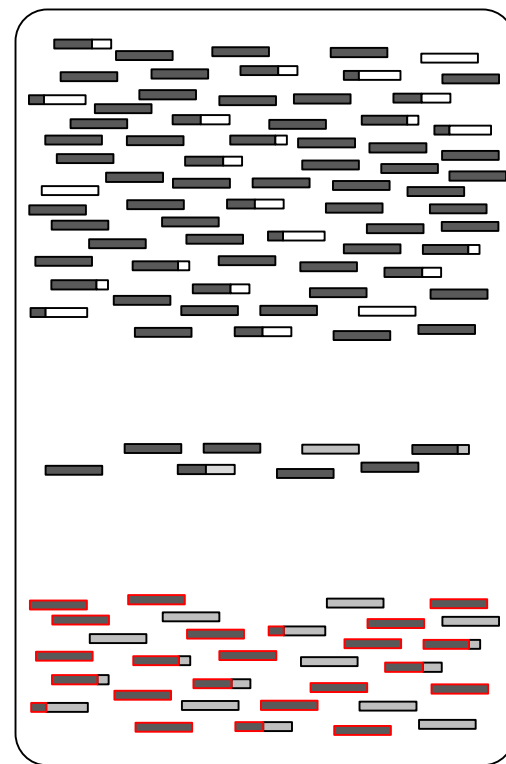
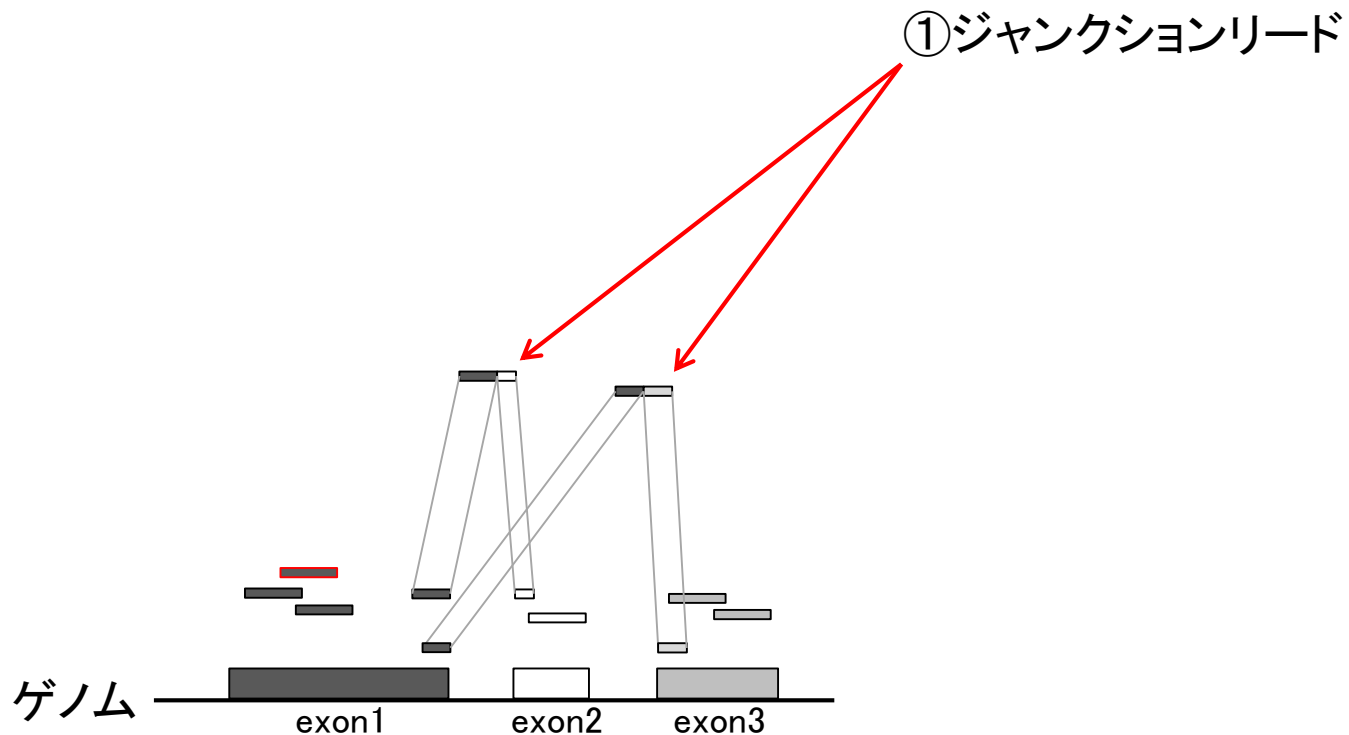
具体的な戦略

リードの長さが初期は35塩基程度だったが、現在は数百塩基程度まで伸びている。そのおかげで、リードを分割してマップすることもできる



具体的な戦略

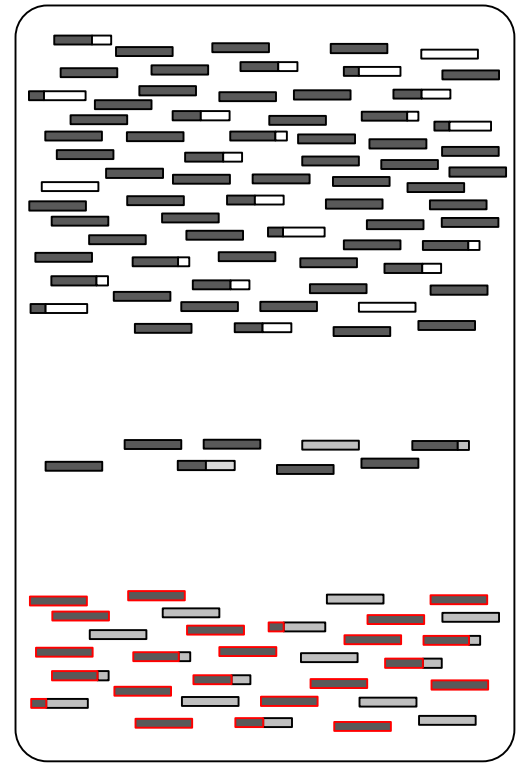
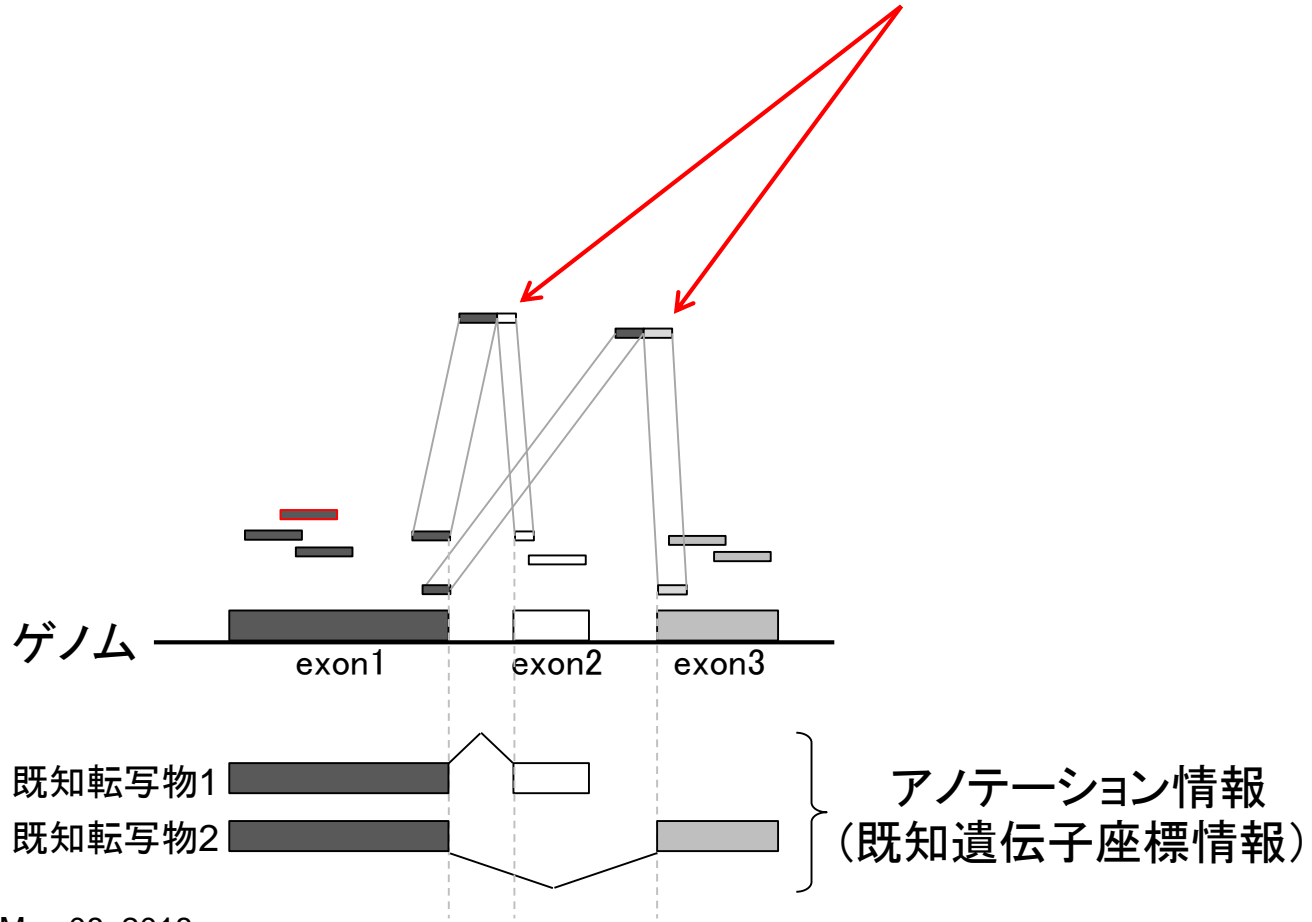
分割してマップされたリードは、大抵の場合複数のエクソン(exon)をまたぐリードであり、①ジャンクションリード(junction read)と呼ばれる



RNA-seqデータ

具体的な戦略

①ジャンクションリード

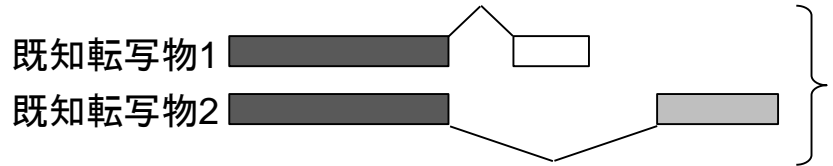
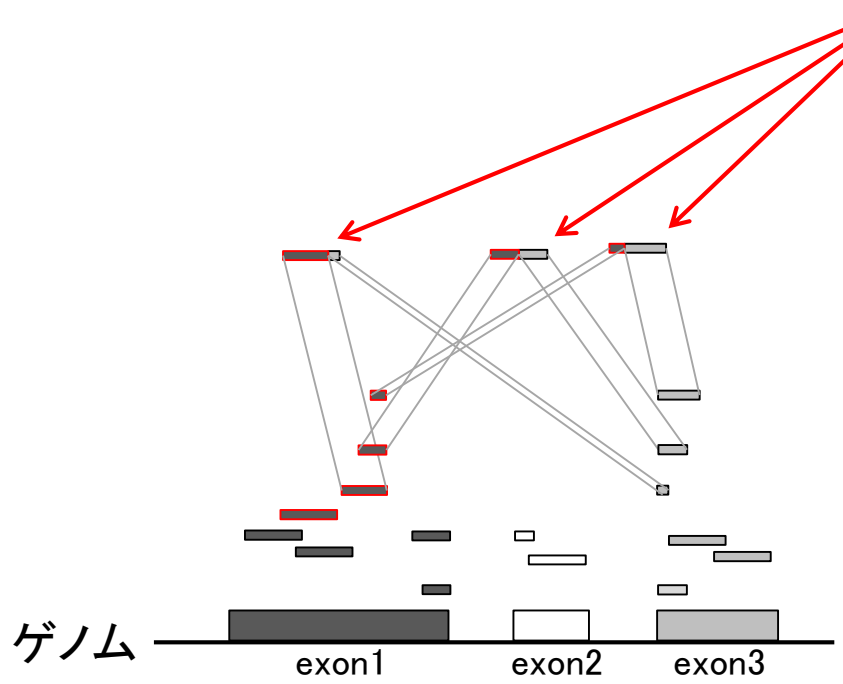


RNA-seqデータ

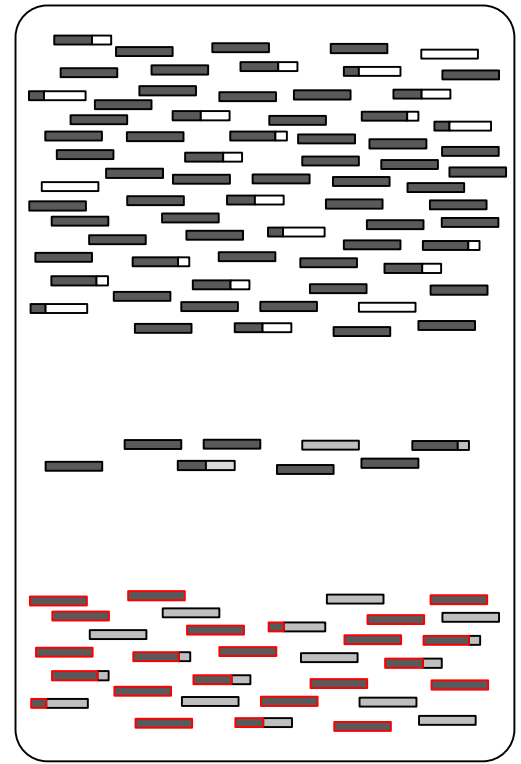
同様にして、他のジャンクションリードも既知転写物と比較することで…

具体的な戦略

①ジャンクションリード

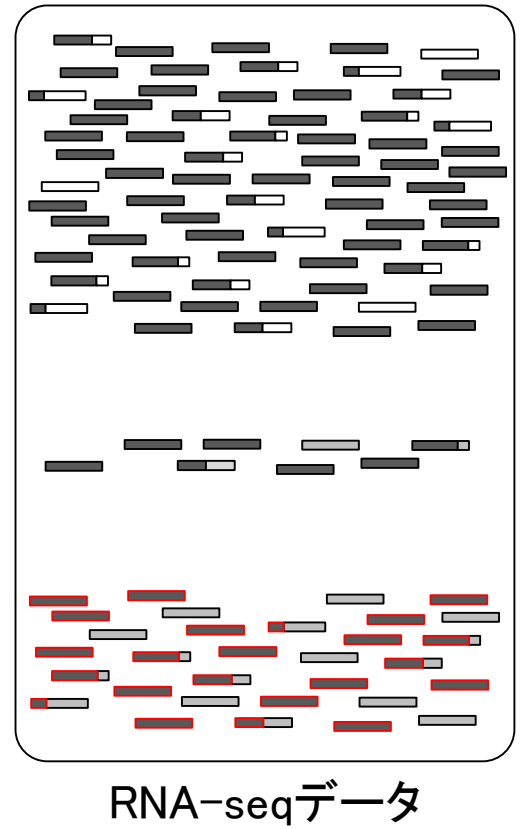
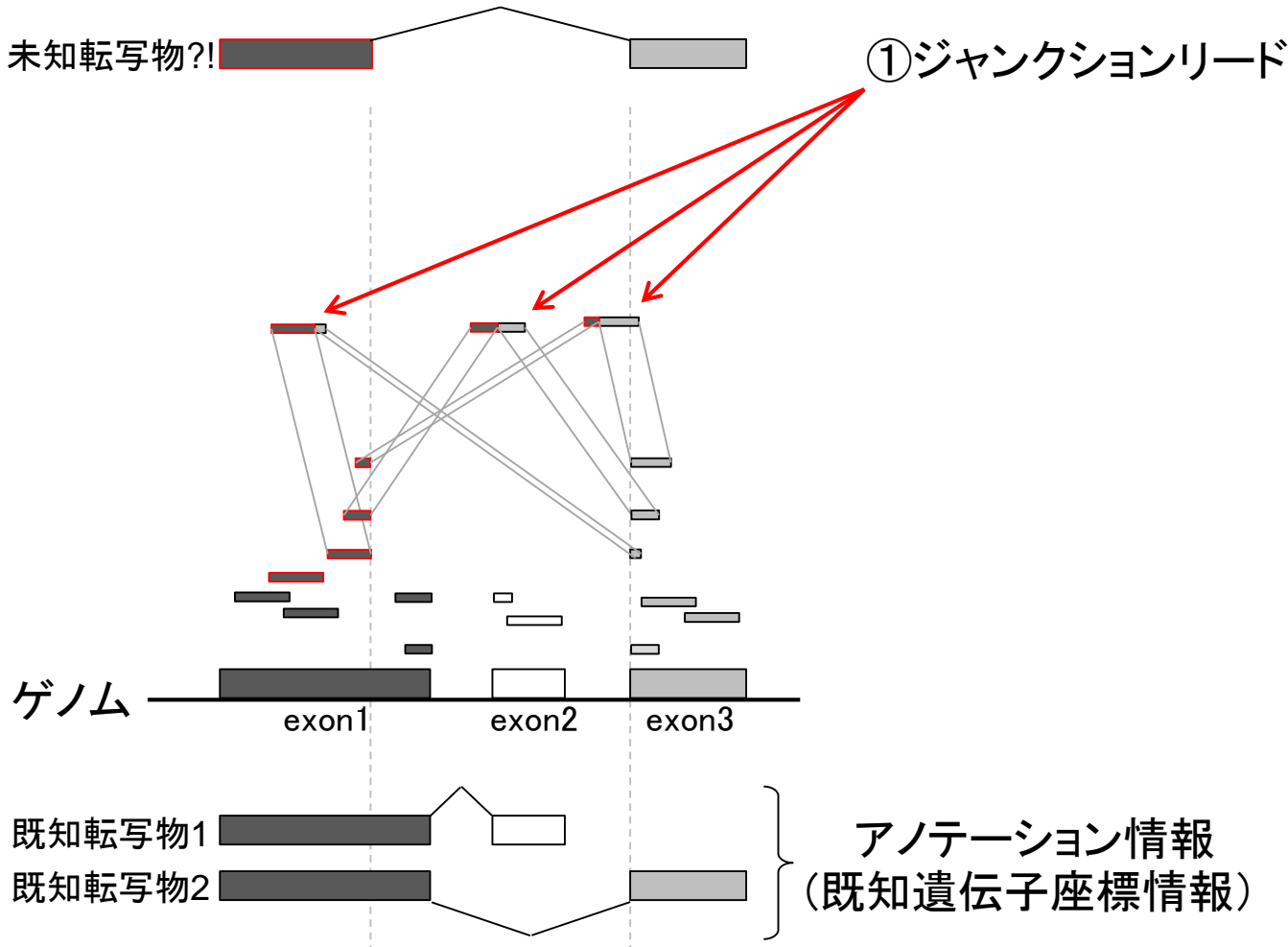


アノテーション情報
(既知遺伝子座標情報)



RNA-seqデータ

具体的な戦略



新規転写物同定の例

RNA-seq(トランスクリプトーム解析)は、癌でよくみられる融合遺伝子の検出などにも利用されます。理由:そこそこ発現している転写物は原理的に検出可能だから。肺がんでみられるALK融合遺伝子(fusion gene)は有名な例ですが、それ以外の①新たな融合遺伝子の発見などに役立っています。主に「トランスクリプトーム配列解析」の話

The screenshot shows a PubMed search result for the article: "Identification of novel fusion genes in lung cancer using breakpoint assembly of transcriptome sequencing data." The article is from Genome Biol. (2015) and is available as a full-text PDF on PMC. The abstract describes a method called TRUP for identifying chimeric transcripts in cancer specimens using RNA-seq data and de novo assembly. The article is highlighted with a red box and a red arrow pointing to the PMC Full text link.

NCBI will be testing https on public web servers from 1:00-4:00 PM EDT (17:00-20:00 UTC) on Monday, October 24. You may experience problems with NCBI services, especially file downloads, during that time. Please plan accordingly. [Read more.](#)

Format: Abstract ▾ Send to ▾

Genome Biol. 2015 Jan 5;16:7. doi: 10.1186/s13059-014-0558-0.

Identification of novel fusion genes in lung cancer using breakpoint assembly of transcriptome sequencing data.

Fernandez-Cuesta L, Sun R, Menon R, George J, Lorenz S, Meza-Zepeda LA, Peifer M, Plenker D, Heuckmann JM, Leenders F, Zander T, Dahmen J, Koker M, Schöttle J, Ullrich RT, Altmüller J, Becker C, Nürnberg P, Seidel H, Böhm D, Göke F, Ansén S, Russell PA, Wright GM, Wainer Z, Solomon B, Petersen I, Clement JH, Sänker J, Brustugun OT, Helland Å, Solberg S, Lund-Iversen M, Buettner R, Wolf J, Brambilla E, Vingron M, Perner S, Haas SA, Thomas RK.

Abstract

Genomic translocation events frequently underlie cancer development through generation of gene fusions with oncogenic properties. Identification of such fusion transcripts by transcriptome sequencing might help to discover new potential therapeutic targets. We developed TRUP (Tumor-specimen suited RNA-seq Unified Pipeline) (<https://github.com/ruping/TRUP>), a computational approach that combines split-read and read-pair analysis with de novo assembly for the identification of chimeric transcripts in cancer specimens. We apply TRUP to RNA-seq data of different tumor types, and find it to be more sensitive than alternative tools in detecting chimeric transcripts, such as secondary rearrangements in EML4-ALK-positive lung tumors, or recurrent inactivating rearrangements affecting RASSF8.

PMID: 25650807 PMCID: PMC4300615 DOI: 10.1186/s13059-014-0558-0

Full text links: Read free full text at BioMed Central, PMC Full text FREE

Save items: Add to Favorites

Similar articles: A transforming KIF5B and RET gene fusion in lung ac [Genome Res. 2012], Sensitive and specific detection of EML4-ALK rearr [Lung Cancer. 2014], Exon array profiling detects EML4-ALK fusion ir [Mol Cancer Res. 2009], Review Sequential combination of



qデータ

Contents

- トランスクリプトーム解析技術の原理や特徴
 - マイクロアレイとRNA-seq
 - 遺伝子 ≠ 転写物
- RNA-seqデータ解析のイメージ
 - マッピング → 新規転写物の同定
- 様々な解析目的
 - ショートリードのIllumina、ロングリードのPacBioとMinION
 - データ解析の全体像（入出力の関係や代表的なツール）
- アノテーションファイルの読み込みと課題1
 - Rで転写物配列取得のイントロ
- Rで転写物配列取得と課題2
 - アノテーションファイルとゲノム情報ファイルから
- 公共データベース
 - NGS全体 (NCBI SRA, EMBL-EBI ENA, DDBJ SRA)
 - DRAの概要、クオリティスコアなど

様々な解析目的

- トランスクリプトーム (転写物) 配列取得
 - RNA-seqを利用
 - ゲノム配列既知の場合: 遺伝子構造推定、新規isoform同定など
 - ゲノム配列未知の場合: トランスクリプトーム用アセンブラを実行
- 遺伝子または転写物ごとの発現量の正確な推定
 - 主にRNA-seq。ヒトやマウスなどのモデル生物はマイクロアレイも利用可能
- 比較するサンプル間で発現変動している遺伝子または転写物の同定
 - マイクロアレイ
 - アレイが提供されていない生物種の解析は不可能
 - RNA-seq
 - 基本的に生物種非依存。任意のリファレンス配列 (ゲノムまたはトランスクリプトーム) にリードをマップし、カウントデータ取得、統計解析。ゲノム配列がなくてもトランスクリプトーム配列をアセンブリで取得すればリファレンスとして利用可能。

新規転写物同定などに相当。①がメインプログラム。多くのメインプログラム内部で、②や③のプログラムが使われている

様々な解析目的

■ トランスクリプトーム配列取得

□ ゲノム配列既知の場合

- 解析 | 一般 | 上流配列解析 | [Relative Appearance Ratio\(Yamamoto 2011\)](#) (last modified 2012/07/17)
- 解析 | 基礎 | k-mer | ゲノムサイズ推定(基礎) | [qrqc](#) (last modified 2016/01/06)
- 解析 | 基礎 | 平均-分散プロット | [について](#) (last modified 2015/11/11)
- 解析 | 基礎 | 平均-分散プロット | [Technical replicates](#) (last modified 2014/02/18)
- 解析 | 基礎 | 平均-分散プロット | [Biological replicates](#) (last modified 2014/02/21)
- 解析 | [新規転写物同定\(ゲノム配列を利用\)](#) ① (last modified 2015/08/25)
- 解析 | [発現量推定\(トランスクリプトーム配列を利用\)](#) (last modified 2015/11/10)
- 解析 | [クラスタリング | について](#) (last modified 2014/02/05)
- 解析 | [クラスタリング | サンプル間 | hclust](#) (last modified 2015/02/26)
- 解析 | [クラスタリング | サンプル間 | TCC\(Sun 2013\)](#) (last modified 2015/11/15)
- 解析 | [クラスタリング | 遺伝子間\(基礎\) | MBCluster.Seq\(Si 2014\)](#) (last modified 2015/03/17)
- 解析 | [クラスタリング | 遺伝子間\(応用\) | MBCluster.Seq\(Si 2014\)+TCC正規化\(Sun 2013\)](#) (last modified 2015/03/17)
- 解析 | [シミュレーションカウントデータ | について](#) (last modified 2015/11/10)
- 解析 | [シミュレーションカウントデータ | Technical rep.\(ポアソン分布\)](#) (last modified 2015/01/23)
- 解析 | [シミュレーションカウントデータ | Biological rep. | 基礎](#) (last modified 2015/01/23)

- [アセンブル | について](#) (last modified 2014/06/20)
- [アセンブル | ゲノム用](#) (last modified 2015/08/20)
- [アセンブル | トランスクリプトーム\(転写物\)用](#) (last modified 2015/08/18)
- [マッピング | について](#) (last modified 2015/11/11) ③
- [マッピング | basic aligner](#) (last modified 2014/08/08)
- [マッピング | splice-aware aligner](#) (last modified 2015/11/11)
- [マッピング | Bisulfite sequencing](#) (last modified 2014/07/09)
- [マッピング | \(ESTレベルの長さ\) contig](#) (last modified 2014/06/24) ②
- [マッピング | 基礎](#) (last modified 2013/06/19)

様々な解析目的

■ トランスクリプトーム配列取得

□ ゲノム配列未知の場合

- [アセンブル | について](#) (last modified 2014/06/20)
- [アセンブル | ゲノム用](#) (last modified 2015/08/2)
- [アセンブル | トランスクリプトーム\(転写物\)用](#) **①** (last modified 2015/08/18)
- [マッピング | について](#) (last modified 2015/11/1)
- [マッピング | basic aligner](#) (last modified 2014/08/08)
- [マッピング | splice-aware aligner](#) (last modified 2015/11/11)
- [マッピング | Bisulfite sequencing用](#) (last modified 2014/07/09)
- [マッピング | \(ESTレベルの長さの\)contig](#) (last modified 2014/06/24)
- [マッピング | 基礎](#) (last modified 2013/06/19)

①トランスクリプトーム配列の *de novo* アセンブリに相当。多くのプログラムは発現量(FPKM値)も出力してくれます

アセンブル | トランスクリプトーム(転写物)用

Rパッケージはおそらくありません。

プログラム:

- [Multiple-k](#): Surget-Groba and Montoya-Burgos, *Genome Res.*, 2010
- [Trans-ABYSS](#): Robertson et al., *Nat Methods*, 2010
- [Rnnotator](#): Martin et al., *BMC Genomics*, 2010
- [Trinity](#): Grabherr et al., *Nat Biotechnol.*, 2011
- [Oases](#): Schulz et al., *Bioinformatics*, 2012
- [EBARDenovo](#): Chu et al., *Bioinformatics*, 2013
- [BRANCH](#): Bao et al., *Bioinformatics*, 2013
- [IDBA-tran](#): Peng et al., *Bioinformatics*, 2013
- [SOAPdenovo-Trans](#): Xie et al., *Bioinformatics*, 2014
- [VTBuilder](#): Archer et al., *BMC Bioinformatics*, 2014
- [Rockhopper 2\(バクテリア用\)](#): Tjaden B, *Genome Biol.*, 2015
- [DETONATE\(RSEM-EVAL\)](#): Li et al., *Genome Biol.*, 2014
- [Bridger](#): Chang et al., *Genome Biol.*, 2015
- [IFRAT](#): Mbandi et al., *BMC Bioinformatics*, 2015

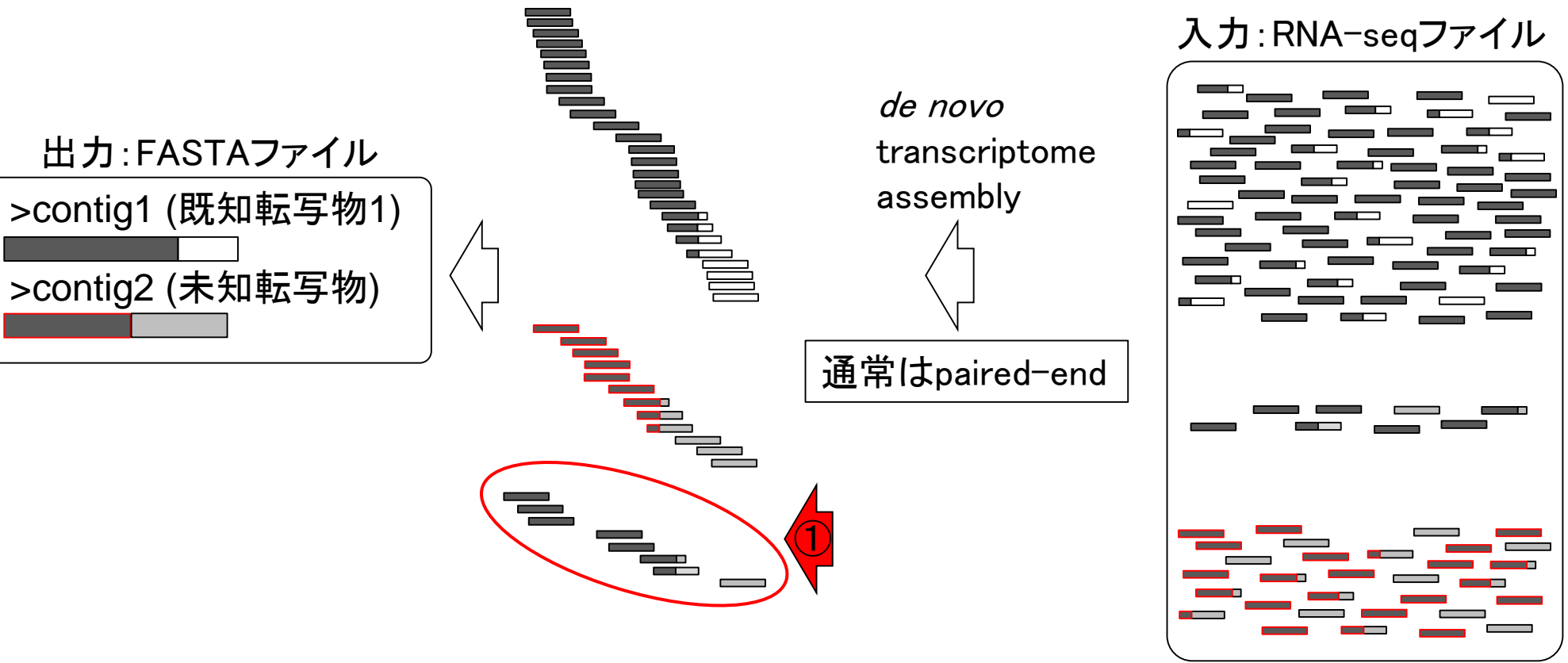
Review、ガイドライン、パイプライン系:

- [Review](#): Martin and Wang, *Nat Rev Genet.*, 2011

様々な解析目的

- トランスクリプトーム配列取得
 - ゲノム配列未知の場合

①ターゲットサンプル中でそれほど発現していない転写物は、*de novo*(1から、最初から、の意味)アセンブリが原理的に困難。これはIllumina short-readデータをイメージしたもの



様々な解析目的

■ 発現変動解析(2群間比較)

- [解析 | フィルタリング | について](#) (last modified 2015/11/10)
- [解析 | 発現変動 | について](#) (last modified 2014/07/10)
- [解析 | 発現変動 | 2群間 | 対応なし | について](#) (last modified 2015/11/13)
- [解析 | 発現変動 | 2群間 | 対応なし | 複製あり | DESeq2\(Love 2014\)](#) (last modified 2015/11/15)
- [解析 | 発現変動 | 2群間 | 対応なし | 複製あり | TCC\(Sun 2013\)](#) (last modified 2015/07/07) 推奨 **①**
- [解析 | 発現変動 | 2群間 | 対応なし | 複製あり | Blekhmanデータ | TCC\(Sun 2013\)](#) (last modified 2015/07/07)
- [解析 | 発現変動 | 2群間 | 対応なし | 複製あり | SAMseq\(Li 2013\)](#) (last modified 2014/02/07)
- [解析 | 発現変動 | 2群間 | 対応なし | 複製あり | edgeR\(Robinson 2010\)](#) (last modified 2014/07/24)
- [解析 | 発現変動 | 2群間 | 対応なし | 複製あり | WAD\(Kadota 2008\)](#) (last modified 2015/03/30)
- [解析 | 発現変動 | 2群間 | 対応なし | 複製なし | TCC\(Sun 2013\)](#) (last modified 2014/03/05) 推奨 **②**
- [解析 | 発現変動 | 2群間 | 対応なし | 複製なし | DESeq\(Anders 2010\)](#) (last modified 2014/03/20)
- [解析 | 発現変動 | 2群間 | 対応なし | 複製なし | edgeR\(Robinson 2010\)](#) (last modified 2014/03/20)

2群間比較で①反復あり(複製あり)データの場合はedgeR、②反復なしの場合はDESeq2を内部的に用いて頑健な結果を返すTCCがおススメ。反復の有無に応じて、内部的に用いるパッケージを自動で切り替える

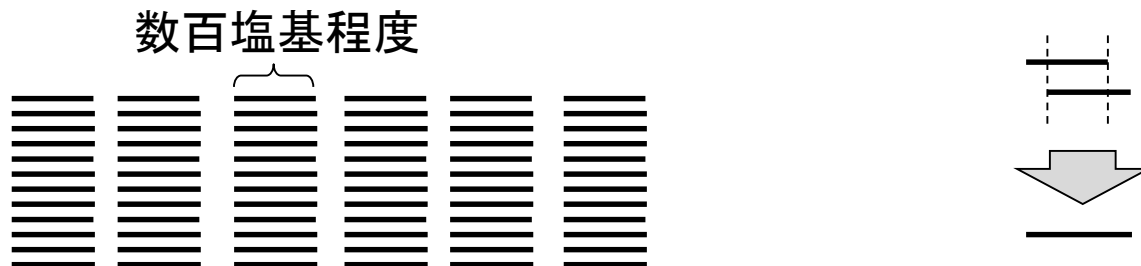
ロングリードも...

①第3世代の1分子シーケンサの代表格である PacBio RS II/Sequel Systemは、ゲノム配列決定で評価を得ているが、転写物配列を得る戦略も存在する

- 旧世代シーケンサー (ABI3730など): ~1,000塩基



- NGS (short-read; Illumina): ~数百塩基



- NGS (long-read; PacBioやMinION): ~数万塩基



ロングリードも...

①おそらくこれがPacBioシステムを用いて転写物配列を取得するという代表的な論文。これを引用している文献を見るなどすれば、最近の傾向が把握できる。例えば②など

Nat Biotechnol. 2013 Nov;31(11):1009-14. doi: 10.1038/nbt.2705. Epub 2013 Oct 13.

A single-molecule long-read survey of the human transcriptome. ①

Sharon D¹, Tilgner H, Grubert E, Snyder M.

Author information

Abstract

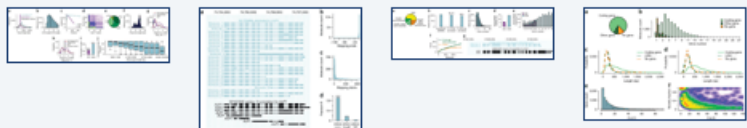
Global RNA studies have become central to understanding biological processes, but methods such as microarrays and short-read sequencing are unable to describe an entire RNA molecule from 5' to 3' end. Here we use single-molecule long-read sequencing technology from Pacific Biosciences to sequence the polyadenylated RNA complement of a pooled set of 20 human organs and tissues without the need for fragmentation or amplification. We show that full-length RNA molecules of up to 1.5 kb can readily be monitored with little sequence loss at the 5' ends. For longer RNA molecules more 5' nucleotides are missing, but complete intron structures are often preserved. In total, we identify ~14,000 spliced GENCODE genes. High-confidence mappings are consistent with GENCODE annotations, but >10% of the alignments represent intron structures that were not previously annotated. As a group, transcripts mapping to unannotated regions have features of long, noncoding RNAs. Our results show the feasibility of deep sequencing full-length RNA from complex eukaryotic transcriptomes on a single-molecule level.

PMID: 24108091 PMCID: PMC4075632 DOI: 10.1038/nbt.2705

[Indexed for MEDLINE] [Free PMC Article](#)



Images from this publication. See all images (4) [Free text](#)



Publication type, MeSH terms, Substances, Grant support +

LinkOut - more resources +

nature biotechnol
PMC Full text **FREE**

Save items
★ Add to Favorites

Similar articles
Accurate identification and analysis of human mRNAs [G3 (Bethesda). 2013]
Knowledge-based reconstruction of mRNA transcripts [PLoS One. 2012]
Combining RT-PCR-seq and RNA-seq to catalog ε [Genome Res. 2012]
[Review](#) Whole transcriptome analysis with [Cell Mol Life Sci. 2015]
[Review](#) Single-molecule direct RNA sequencing [Wiley Interdiscip Rev RNA. 2011]
[See reviews...](#)
[See all...](#)

Cited by 89 PubMed Central articles
Full-length mRNA sequencing uncovers a wide range of transcripts [Genome Biol. 2018]
SQANTI: extensive characterization of long-read transcripts [Genome Res. 2018]
Single molecule real-time (SMRT) sequencing [Nucleic Acids Res. 2018]
[See all...](#)

②

①ERP003225 (Sharon et al., Nat Biotechnol., 31: 1009–1014, 2013)

ポータブルNGSシステム

①おそらくこれがMinIONシステムに関する原著論文。Oxford Nanopore社が開発した、小さな穴(ナノポア)を用いた原理を用いているので、②nanopore。MinIONシステムを用いたRNA-seqは、これから論文が出始めると思います。③ナノポアを使ったシーケンスの最初の論文はこれのようです

Nat Biotechnol. 2012 Feb 14;30(4):344-8. doi: 10.1038/nbt.2147.



Automated forward and reverse ratcheting of DNA in a nanopore at 5-Å precision.



Cherf GM¹, Lieberman KR, Rashid H, Lam CE, Karplus K, Akeson M.

Author information

Abstract

An emerging DNA sequencing technique uses protein or solid-state pores to analyze individual strands as they are driven in single-file order past a nanoscale sensor. However, uncontrolled electrophoresis of DNA through these nanopores is too fast for accurate base reads. Here, we describe forward and reverse ratcheting of DNA templates through the α -hemolysin nanopore controlled by phi29 DNA polymerase without the need for active voltage control. DNA strands were read at median rates of 2.5-40 nucleotides per second and were examined at one nucleotide resolution in real time. Up to 500 molecules were processed at ~130 molecules per hour with a probability of a registry error (an insertion or deletion) at individual positions on the template strand ranged from 10% to 24.5% without optimization. This strategy for sequencing individual strands and is transferable to other nanopore devices for implementation in high-throughput analysis.

Comment in

A nanopore workhorse. [Nat Methods. 2012]

DNA sequencing with nanopores. [Nat Biotechnol. 2012]

PMID: 22334048 PMCID: PMC3408072 DOI: 10.1038/nbt.2147

[Indexed for MEDLINE] [Free PMC Article](#)

Cited by over 100 PubMed Central articles

Proc Natl Acad Sci U S A. 1996 Nov 26;93(24):13770-3.

Characterization of individual polynucleotide molecules using a membrane channel.

Kasianowicz JJ¹, Brandin E, Branton D, Deamer DW.

Collaborators (1)

Author information

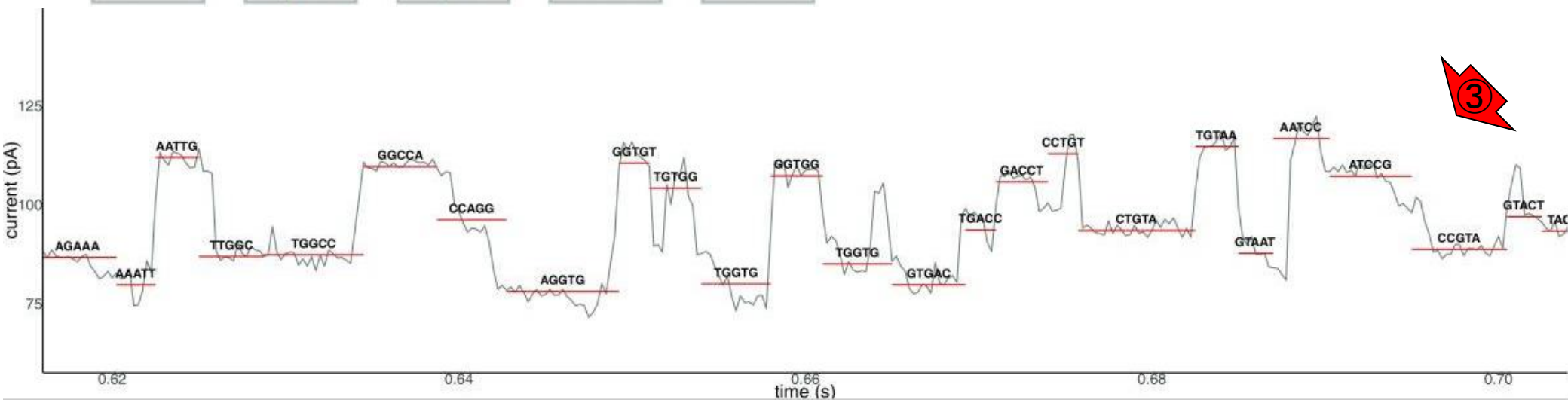
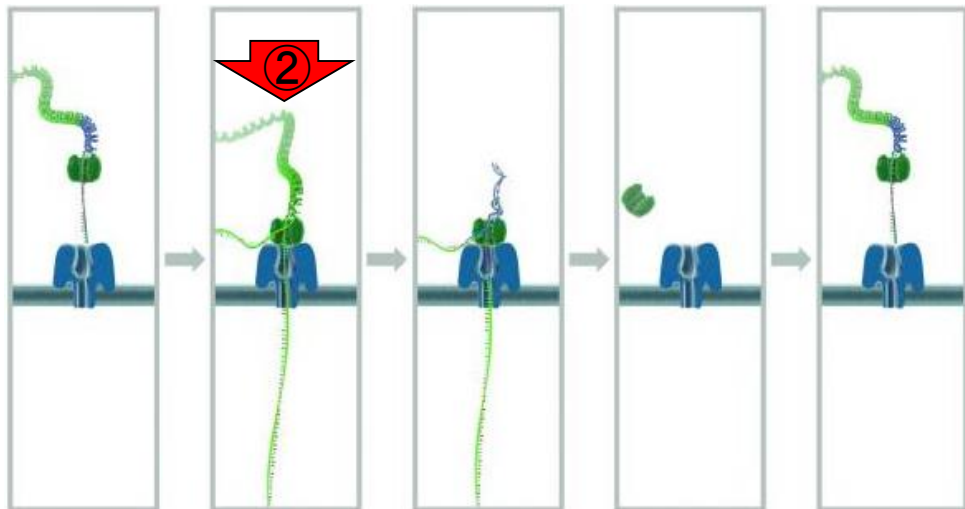
Abstract

We show that an electric field can drive single-stranded RNA and DNA molecules through a 2.6-nm diameter ion channel in a lipid bilayer membrane. Because the channel diameter can accommodate only a single strand of RNA or DNA, each polymer traverses the membrane as an extended chain that partially blocks the channel. The passage of each molecule is detected as a transient decrease of ionic current whose duration is proportional to polymer length. Channel blockades can therefore be used to measure polynucleotide length. With further improvements, the method could in principle provide direct, high-speed detection of the sequence of bases in single molecules of DNA or RNA.



Oxford Nanopore

①青色で示されたタンパク質で作られた小さい穴 (nanopore) を、②緑で示されたDNA分子が通過する際の、③特徴的な電流の乱れを計測することでシーケンスするテクノロジー



Direct RNA-seq

RNA-seqとの関連でいえば、cDNAへの変換変換(逆転写)・PCR増幅・サイズ選択も不要であり、①文字通りRNAそのものを直接シーケンス可能な点が注目を集めている。②日本語の特集号もあります

Nat Methods. 2018 Mar;15(3):201-206. doi: 10.1038/nmeth.4577. Epub 2018 Jan

Highly parallel direct RNA sequencing on an array of nanopores.

Garalde DR¹, Snell EA¹, Jachimowicz D¹, Sipos B¹, Lloyd JH¹, Bruce M¹, Pantic N¹, Admassu T¹, James P¹, Warland A¹, Jordan M¹, Ciccone J¹, Serra S¹, Keenan J¹, Martin S¹, McNeill L¹, Wallace EJ¹, Jayasinghe L¹, Wright C¹, Blasco J¹, Young S¹, Brocklebank D¹, Juul S², Clarke J¹, Heron AJ¹, Turner DJ¹.

Author information

Abstract

Sequencing the RNA in a biological sample can unlock a wealth of information, including the identity of bacteria and viruses, the nuances of alternative splicing or the transcriptional state of organisms. However, current methods have limitations due to short read lengths and reverse transcription or amplification biases. Here we demonstrate nanopore direct RNA-seq, a highly parallel, real-time, single-molecule method that circumvents reverse transcription or amplification steps. This method yields full-length, strand-specific RNA sequences and enables the direct detection of nucleotide analogs in RNA.

PMID: 29334379 DOI: [10.1038/nmeth.4577](https://doi.org/10.1038/nmeth.4577)



Contents

- トランスクリプトーム解析技術の原理や特徴
 - マイクロアレイとRNA-seq
 - 遺伝子 ≠ 転写物
- RNA-seqデータ解析のイメージ
 - マッピング → 新規転写物の同定
- 様々な解析目的
 - ショートリードのIllumina、ロングリードのPacBioとMinION
 - データ解析の全体像（入出力の関係や代表的なツール）
- アノテーションファイルの読み込みと課題1
 - Rで転写物配列取得のイントロ
- Rで転写物配列取得と課題2
 - アノテーションファイルとゲノム情報ファイルから
- 公共データベース
 - NGS全体 (NCBI SRA, EMBL-EBI ENA, DDBJ SRA)
 - DRAの概要、クオリティスコアなど

とあるガイドライン系論文

RNA-seqデータを入力として実行する包括的な解析パイプライン
RNACocktailを提唱した論文

[Nat Commun.](#) 2017 Jul 5;8(1):59. doi: 10.1038/s41467-017-00050-4.

Gaining comprehensive biological insight into the transcriptome by performing a broad-spectrum RNA-seq analysis.

[Sahraeian SME](#)¹, [Mohiyuddin M](#)¹, [Sebra R](#)², [Tilgner H](#)³, [Afshar PT](#)⁴, [Au KF](#)⁵, [Bani Asadi N](#)¹, [Gerstein MB](#)⁶, [Wong WH](#)⁷, [Snyder MP](#)³, [Schadt E](#)², [Lam HYK](#)³.

⊕ Author information

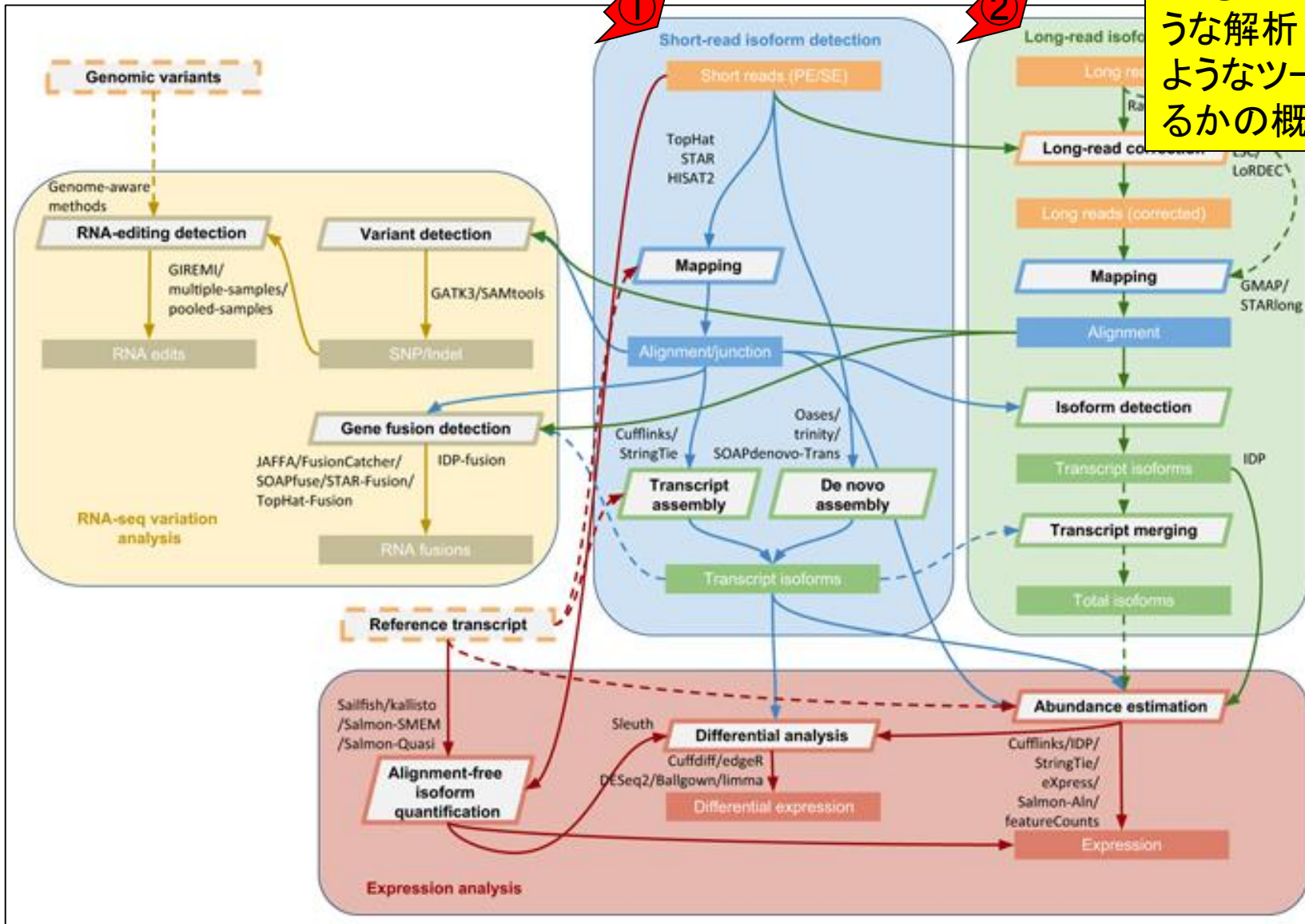
Abstract

RNA-sequencing (RNA-seq) is an essential technique for transcriptome studies, hundreds of analysis tools have been developed since it was debuted. Although recent efforts have attempted to assess the latest available tools, they have not evaluated the analysis workflows comprehensively to unleash the power within RNA-seq. Here we conduct an extensive study analysing a broad spectrum of RNA-seq workflows. Surpassing the expression analysis scope, our work also includes assessment of RNA variant-calling, RNA editing and RNA fusion detection techniques. Specifically, we examine both short- and long-read RNA-seq technologies, 39 analysis tools resulting in ~120 combinations, and ~490 analyses involving 15 samples with a variety of germline, cancer and stem cell data sets. We report the performance and propose a comprehensive RNA-seq analysis protocol, named RNACocktail, along with a computational pipeline achieving high accuracy. Validation on different samples reveals that our proposed protocol could help researchers extract more biologically relevant predictions by broad analysis of the transcriptome. RNA-seq is widely used for transcriptome analysis. Here, the authors analyse a wide spectrum of RNA-seq workflows and present a comprehensive analysis protocol named RNACocktail as well as a computational pipeline leveraging the widely used tools for accurate RNA-seq analysis.

Sahraeian et al., Nat Commun., 8(1): 59, 2017

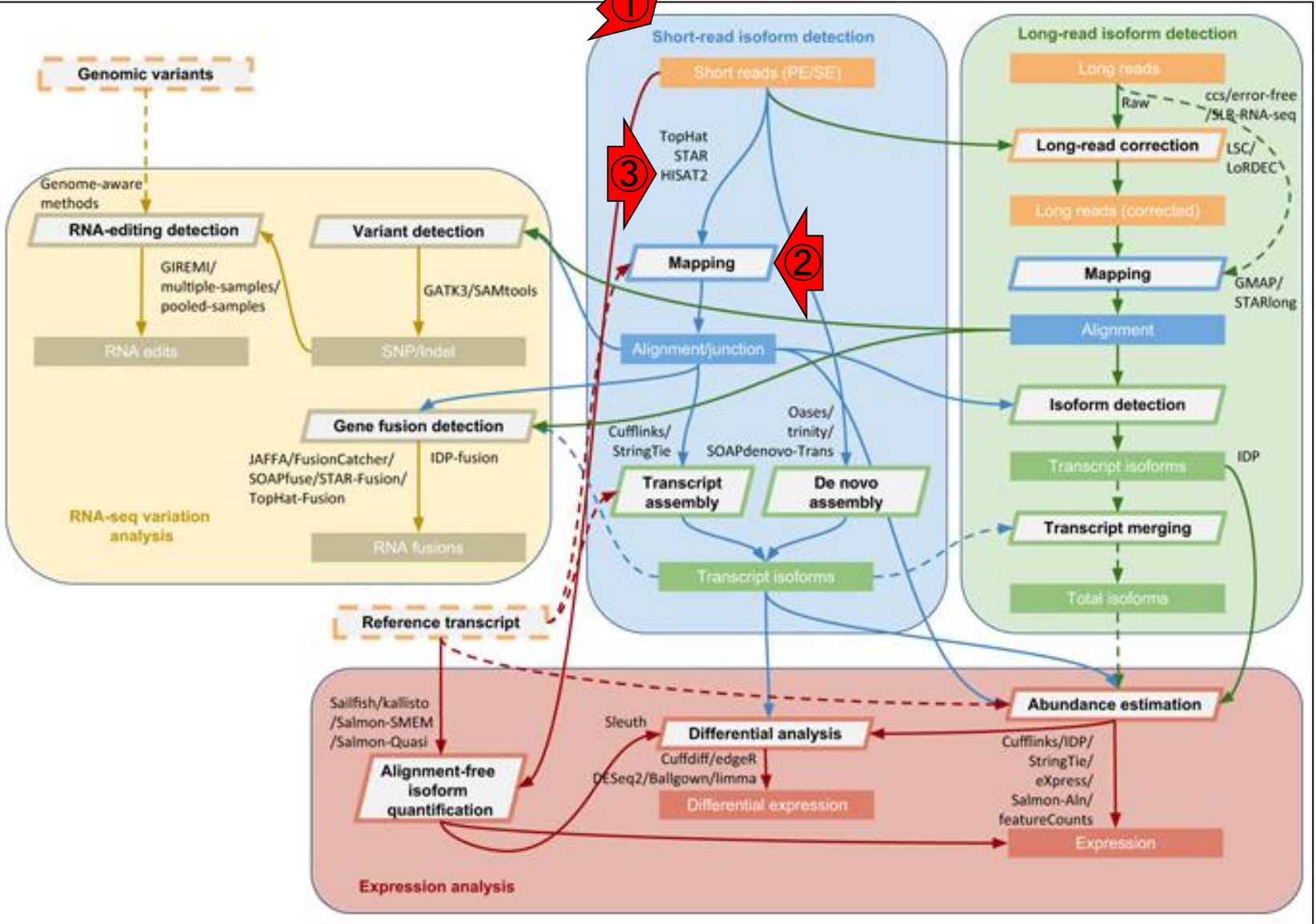
RNACocktail論文の図1

論文の図1を見ることで、どのようなデータ(①ショートリード or ②ロングリード)で、どのような解析目的の場合に、どのようなツールが用いられているかの概要がわかる



例えば、①ショートリードの②マッピングの場合は、③HISAT2などが使われるとか…

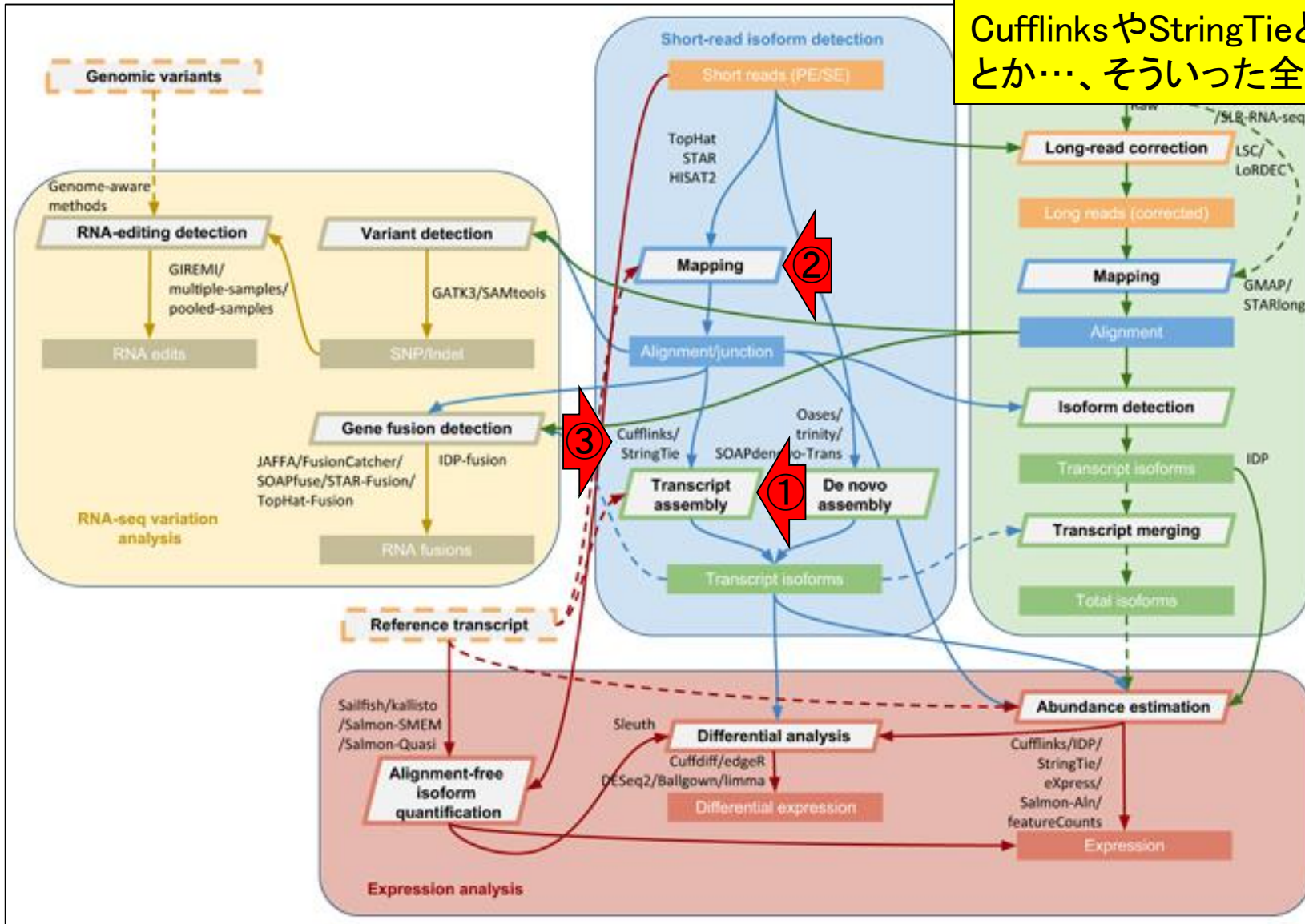
RNACocktail論文の図1



Sahraeian et al., Nat Commun., 8(1): 59, 2017

RNACocktail論文の図1

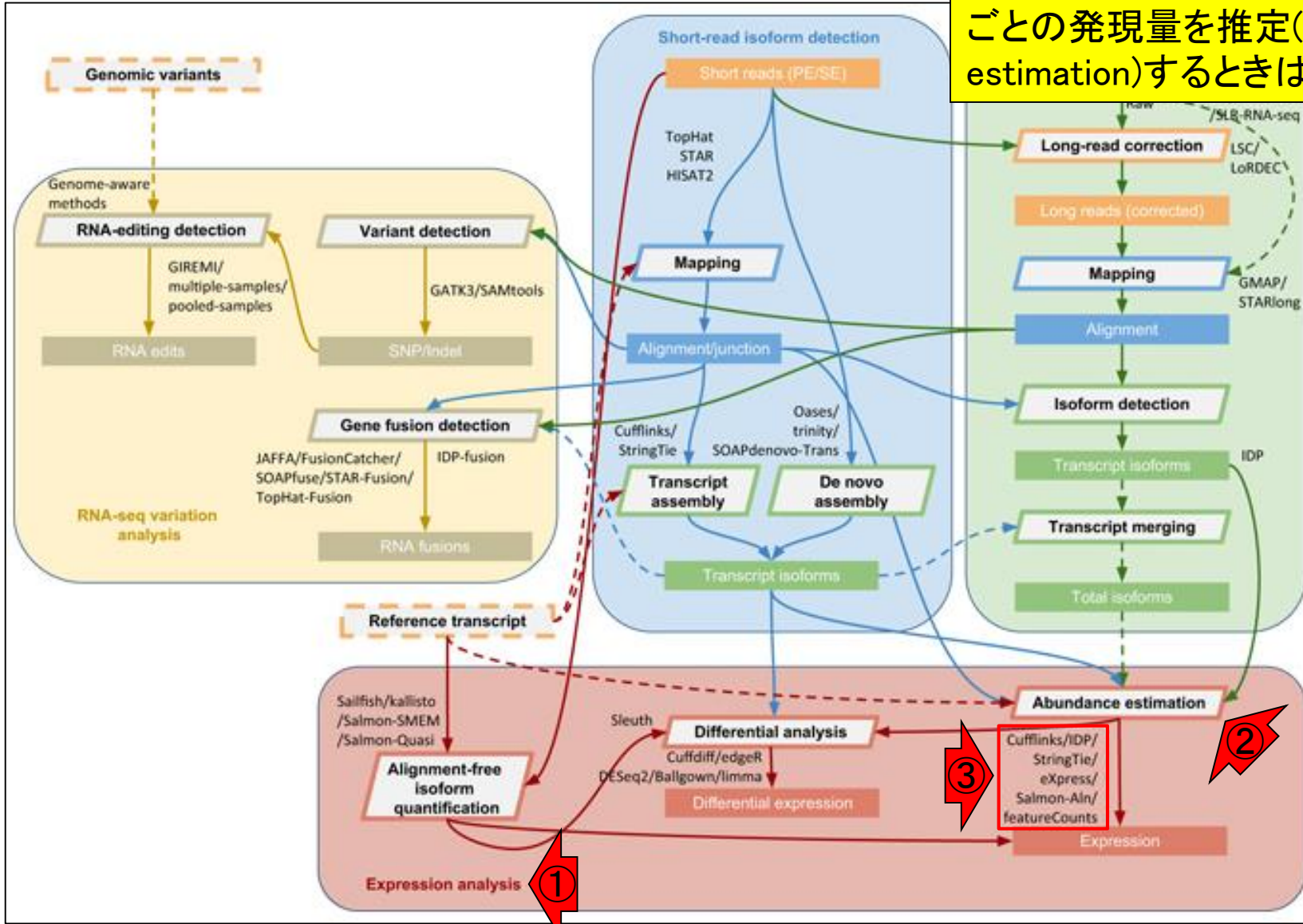
(ゲノム配列既知の場合)①トランスクリプトーム配列取得(遺伝子構造推定)の場合は、②マッピング結果を入力として、③CufflinksやStringTieというツールを用いるとか…、そういった全体像がわかります



Sahraeian et al., Nat Commun., 8(1): 59, 2017

RNACocktail論文の図1

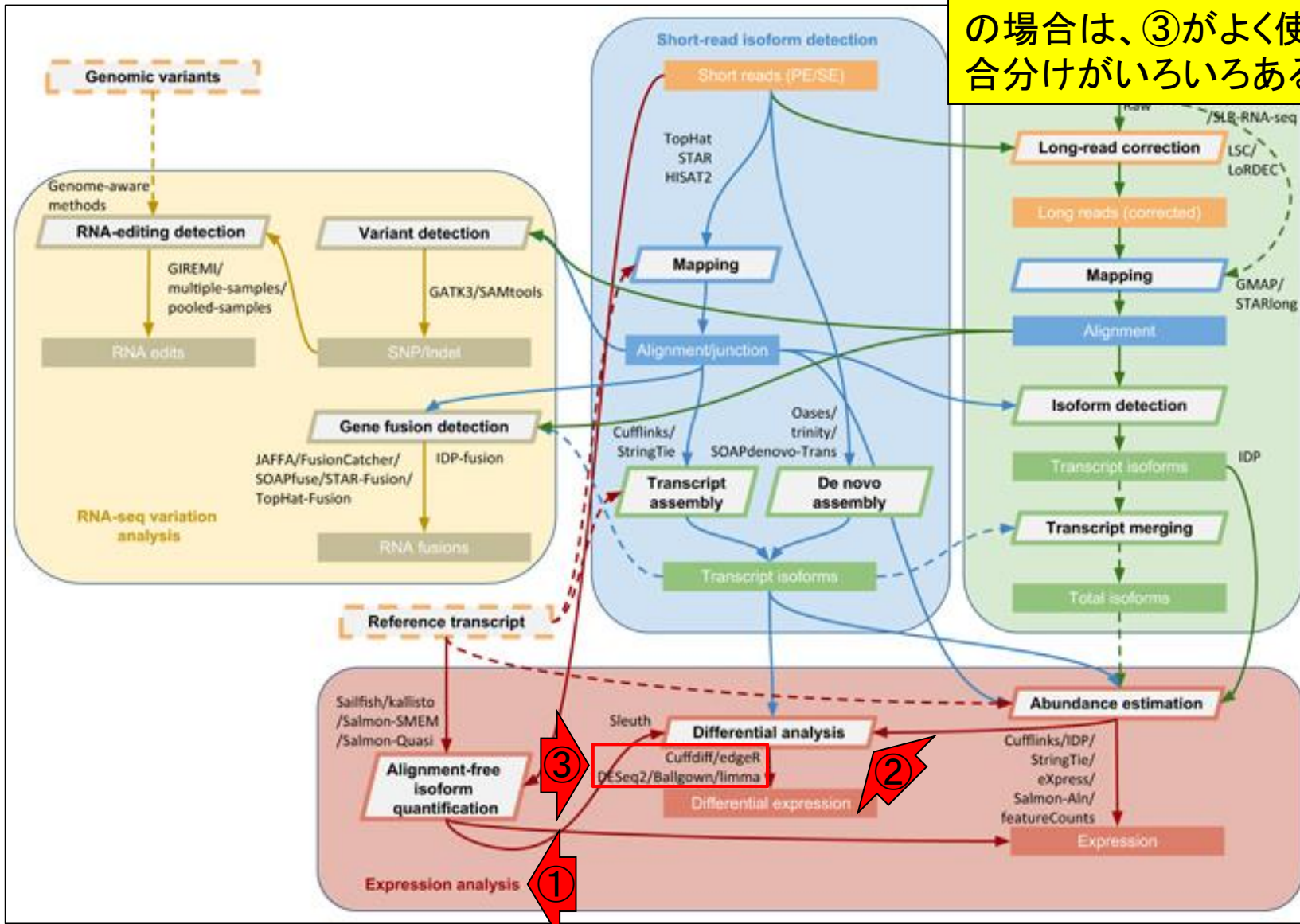
本科目(機能ゲノム学)では、①発現解析のトピックを中心に教えますが、一口に①発現解析とは言っても、②遺伝子/転写物ごとの発現量を推定(abundance estimation)するときには、③がよく使われ…



Sahraeian et al., Nat Commun., 8(1): 59, 2017

RNACocktail論文の図1

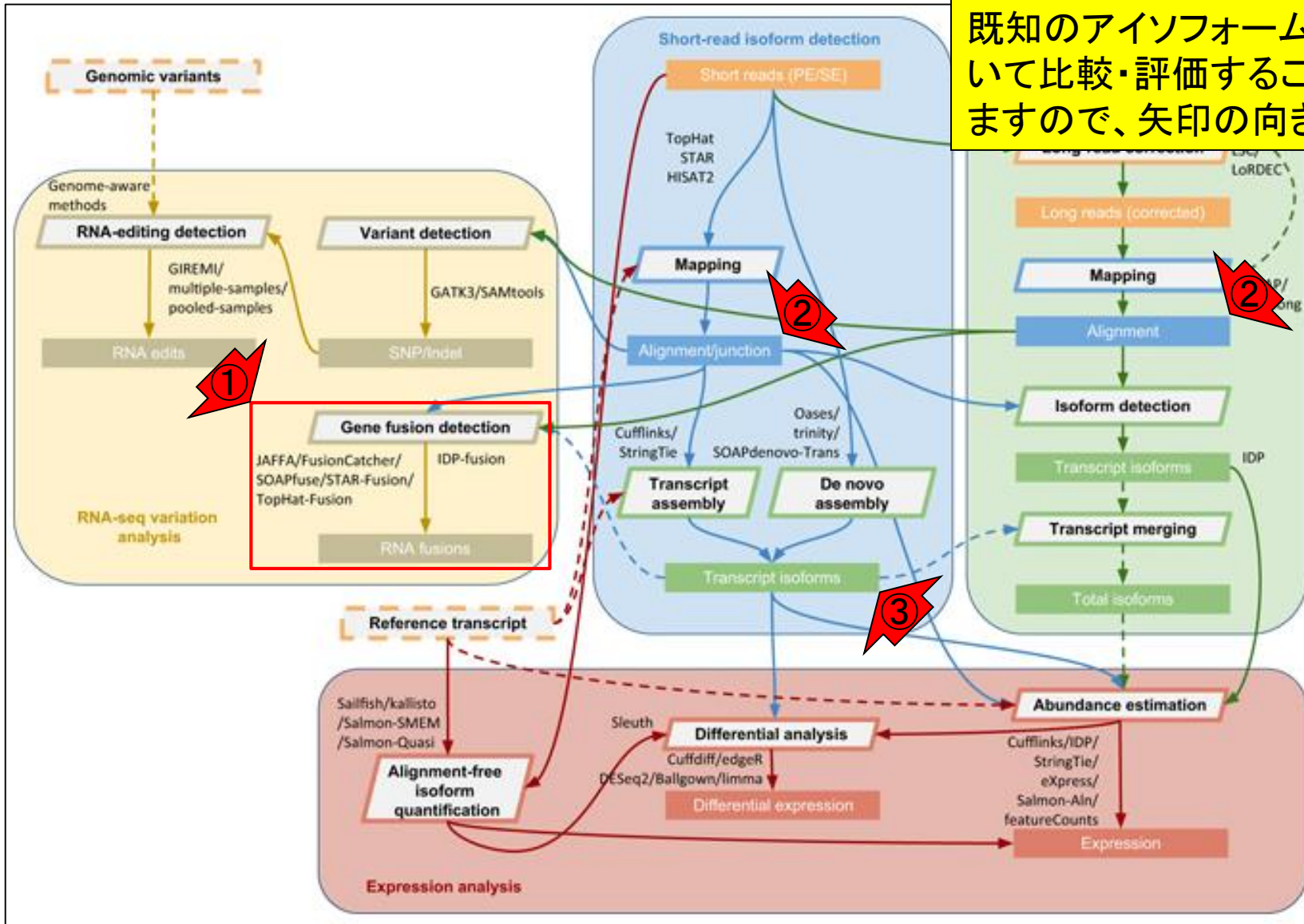
本科目(機能ゲノム学)では、①発現解析のトピックを中心に教えますが、一口に①発現解析とは言っても、②発現変動解析の場合は、③がよく使われているなど、場合分けがいろいろあることがわかります



Sahraeian et al., Nat Commun., 8(1): 59, 2017

RNACocktail論文の図1

①融合遺伝子検出の場合は、②マッピング(or アラインメント)結果を入力として用います。情報として利用可能な場合は、③既知のアイソフォーム(isoform)情報を用いて比較・評価することもあるかと思えますので、矢印の向きも妥当ですね



Contents

- トランスクリプトーム解析技術の原理や特徴
 - マイクロアレイとRNA-seq
 - 遺伝子 ≠ 転写物
- RNA-seqデータ解析のイメージ
 - マッピング → 新規転写物の同定
- 様々な解析目的
 - ショートリードのIllumina、ロングリードのPacBioとMinION
 - データ解析の全体像 (入出力の関係や代表的なツール)
- アノテーションファイルの読み込みと課題1
 - Rで転写物配列取得のイントロ
- Rで転写物配列取得と課題2
 - アノテーションファイルとゲノム情報ファイルから
- 公共データベース
 - NGS全体 (NCBI SRA, EMBL-EBI ENA, DDBJ SRA)
 - DRAの概要、クオリティスコアなど

他にrefFlat形式など様々なファイル形式が存在します

GFF/GTF形式ファイルの例

GFF3形式 (シロイヌナズナ; TAIR10_GFF3_genes.gff)

▲	A	B	C	D	E	F	G	H	I
1	Chr1	TAIR10	chromosome	1	30427671	.	.	.	ID=Chr1;Name=Chr1
2	Chr1	TAIR10	gene	3631	5899	.	+	.	ID=AT1G01010;Note=protein_coding_gene;Name=AT1G01010
3	Chr1	TAIR10	mRNA	3631	5899	.	+	.	ID=AT1G01010.1;Parent=AT1G01010;Name=AT1G01010.1;Index=1
4	Chr1	TAIR10	protein	3760	5630	.	+	.	ID=AT1G01010.1-Protein;Name=AT1G01010.1;Derives_from=AT1G01010.1
5	Chr1	TAIR10	exon	3631	3913	.	+	.	Parent=AT1G01010.1
6	Chr1	TAIR10	five_prime_UTR	3631	3759	.	+	.	Parent=AT1G01010.1
7	Chr1	TAIR10	CDS	3760	3913	.	+	0	Parent=AT1G01010.1,AT1G01010.1-Protein;
8	Chr1	TAIR10	exon	3996	4276	.	+	.	Parent=AT1G01010.1
9	Chr1	TAIR10	CDS	3996	4276	.	+	2	Parent=AT1G01010.1,AT1G01010.1-Protein;
10	Chr1	TAIR10	exon	4486	4605	.	+	.	Parent=AT1G01010.1
11	Chr1	TAIR10	CDS	4486	4605	.	+	0	Parent=AT1G01010.1,AT1G01010.1-Protein;
12	Chr1	TAIR10	exon	4706	5095	.	+	.	Parent=AT1G01010.1

GTF形式 (ゼブラフィッシュ; Danio_rerio.Zv9.75.gtf)

▲	A	B	C	D	E	F	G	H	I
1									#!genome-build Zv9
2									#!genome-version Zv9
3									#!genome-date 2010-04
4									#!genome-build-accession NCBI:GCA_000002035.2
5									#!genebuild-last-updated 2014-02
6	7	protein_coding	gene	100958	101715	.	+	.	gene_id "ENSDARG00000076051"; gene_name "CABZ01062994.1"; gene
7	7	protein_coding	transcript	100958	101715	.	+	.	gene_id "ENSDARG00000076051"; transcript_id "ENSDART00000113409
8	7	protein_coding	exon	100958	100975	.	+	.	gene_id "ENSDARG00000076051"; transcript_id "ENSDART00000113409
9	7	protein_coding	CDS	100958	100975	.	+	0	gene_id "ENSDARG00000076051"; transcript_id "ENSDART00000113409
10	7	protein_coding	exon	101077	101715	.	+	.	gene_id "ENSDARG00000076051"; transcript_id "ENSDART00000113409
11	7	protein_coding	CDS	101077	101715	.	+	0	gene_id "ENSDARG00000076051"; transcript_id "ENSDART00000113409
12	7	protein_coding	gene	116160	117573	.	+	.	gene_id "ENSDARG00000088691"; gene_name "BX511027.1"; gene_sour
13	7	protein_coding	transcript	116160	117573	.	+	.	gene_id "ENSDARG00000088691"; transcript_id "ENSDART00000129330

GFFの読み込み

読み込み段階でコケる、読み込みはうまくいったが、その後の解析段階でコケるなど、Linux上での解析同様、一筋縄ではいきません。過去の受講生など多方面からの情報提供のおかげでだいぶ分かってきました。尚、参考書執筆当時のTranscriptDbという記述はTxDbに変更されています(p91あたり)



- [イントロ](#) | [NGS](#) | [アノテーション情報取得](#) | [biomaRt\(Durinck 2009\)](#) (last modified 2013/09/2)
- [イントロ](#) | [NGS](#) | [アノテーション情報取得](#) | [TxDb](#) | [について](#) (last modified 2014/03/28)
- [イントロ](#) | [NGS](#) | [アノテーション情報取得](#) | [TxDb](#) | [TxDb.*から](#) (last modified 2015/02/19)
- [イントロ](#) | [NGS](#) | [アノテーション情報取得](#) | [TxDb](#) | [GenomicFeatures\(Lawrence 2013\)](#) (last modified 2015/02/19)
- [イントロ](#) | [NGS](#) | [アノテーション情報取得](#) | [TxDb](#) | [GFF/GTF形式ファイルから](#) (last modified 2016/04/22)
- [イントロ](#) | [NGS](#) | [読み込み](#) | [BSgenome](#) | [基本情報を取得](#) (last modified 2016/04/22)
- [イントロ](#) | [NGS](#) | [読み込み](#) | [FASTA形式](#) | [基本情報を取得](#) (last modified 2016/04/22)

イントロ | NGS | アノテーション情報取得 | TxDb | GFF/GTF形式ファイルから **NEW**

QuasRパッケージを用いてゲノムへのマッピング結果からカウント情報を得たいときに、"TxDb"という形式のオブジェクトを利用する必要があります。ここでは、GenomicFeaturesパッケージを用いて手元にあるGFF/GTF形式ファイルを入力としてTxDbオブジェクトを得るやり方を示します。基本的にはGenomicFeaturesパッケージ中のmakeTxDbFromGFF関数を用いてGFF/GTF形式ファイルを読み込むことでTxDbオブジェクトをエラーなく読み込むこと自体は簡単にできます。しかし、得られたTxDbオブジェクトとゲノムマッピング結果ファイルを用いてカウント情報を得る場合に、ゲノム配列提供元とアノテーション情報提供元が異なっているとエラーとなります。具体的には、GFF/GTFファイル中にゲノム配列中にない染色体名があるとエラーが出る場合があります。

1. TAIR(Lamesch et al., Nucleic Acids Res., 2012) から提供されているArabidopsisのGFF3形式ファイル(TAIR10 GFF3 genes.gff)の場合:

基本形です。エラーは出ませんが、2015年3月4日現在、ChrCが環状ではないと認識されてしまっています。

```
in_f <- "TAIR10_GFF3_genes.gff"      #入力ファイル名を指定してin_fに格納(GFF/GTFファイル)

#必要なパッケージをロード
library(GenomicFeatures)            #パッケージの読み込み

#本番(TxDbオブジェクトの作成)
txdb <- makeTxDbFromGFF(in_f)       #txdbオブジェクトの作成
txdb                                 #確認してるだけです
```

GFFの読み込み

①例題7。②ここで用いているGFF形式の入力ファイルは、③から取得しました。③をクリックしたつもりで次のスライドを眺める。デスクトップ上のhogeフォルダ内に②のgffファイルはあります

- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [アノテーション情報取得](#) | [biomaRt\(Durinck 2009\)](#) (last modified 2013/03/28)
- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [アノテーション情報取得](#) | [TxDb](#) | [について](#) (last modified 2014/03/28)
- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [アノテーション情報取得](#) | [TxDb](#) | [TxDb.*から](#) (last modified 2015/02/19)
- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [アノテーション情報取得](#) | [TxDb](#) | [GenomicFeatures\(Lawrence 2013\)](#) (last modified 2015/02/19)
- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [アノテーション情報取得](#) | [TxDb](#) | [GFF/GTF形式ファイルから](#) (last modified 2016/02/09)
- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [読み込み](#) | [BSgenome](#) | [基本情報を取得](#) (last modified 2016/04/22)
- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [読み込み](#) | [FASTA形式](#) | [基本情報を取得](#) (last modified 2016/04/22)

イントロ | NGS | アノテーション情報取得 | TxDb | GFF/GTF形式ファイルから **NEW**

QuasRパッケージを用いてゲノムへのマッピング結果からカウント情報を得たいときに、"TxDb"という形式のオブジェクトを利用する必要があります。ここでは、GenomicFeaturesパッケージを用いて手元にあるGFF/GTF形式ファイルを入力としてTxDbオブジェクトを得るやり方を示します。基本的にはGenomicFeaturesパッケージ中のmakeTxDbFromGFF関数を用いてGFF/GTF形式ファイルを読み込むことでTxDbオブジェクトをエラーなく読み込むこと自体は簡単にできます。しかし、得られたTxDbオブジェクトとゲノムマッピング結果ファイルを用いてカウント情報を得る場合に、ゲノム配列提供元とアノテーション情報提供元が異なっているとエラーとなります。具体的には、GFF/GTFファイル中にゲノム配列中にない染色体名があるとエラーが出る場合があります。

1. TAIR(Lamesch et al., Nucleic Acids Res., 2012) から提供されているArabidopsisのGFF3形式ファイル(TAIR10 GFF3 genes.gff)の場合:

基本形です。エラーは出ませんが、2015年3月4日現在、ChrCが環状ではないと認識されてしまっています。

```
in_f <- "TAIR10_GFF3_genes.gff" #入力ファイル名を指定してin_fに格納(GFF/GTFファイル)
```

① 7. GFF3形式ファイル(Lactobacillus hokkaidonensis jcm 18461.GCA_000829395.1.30.chromosome.Chromosome.gff3)の場合:

Ensembl (Flicek et al., 2014)から提供されている Lactobacillus hokkaidonensis JCM 18461 (Mizawa et al., 2015) のデータです。

```
in_f <- "Lactobacillus_hokkaidonensis_jcm_18461.GCA_000829395.1.30.chromosome.Chromosome.gff3" #入
```

```
#必要なパッケージをロード
library(GenomicFeatures) #パッケージの読み込み
```

```
#本番(TxDbオブジェクトの作成)
txdb <- makeTxDbFromGFF(in_f, format="auto") #txdbオブジェクトの作成
txdb #確認してるだけです
```

Ensembl解説

①GFFファイルはここから取得。②のgzip圧縮ファイルをダウンロードして解凍したものが入力ファイル。③のあたりがバージョン番号。概ね、数か月単位でバージョン番号が上がる。講義で利用するのは2016年5月のrelease 30のファイルになります

EnsemblBacteria BLAST Tools More Search Ensembl Bacteria

Lactobacillus hokkaidonensis JCM 18461 (ASM82939v1)

Lactobacillus hokkaidonensis

JCM 18461

Lactobacillus hokkaidonensis JCM 18461

Provider [European Nucleotide Archive](#) | [Taxonomy](#)

Search *Lactobacillus hokkaidonensis* JCM 18461

e.g. [rpsO](#) or [Chromosome:1324161-132444](#)

About *Lactobacillus hokkaidonensis*

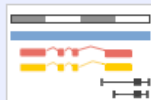
[Information and statistics](#)

Genome assembly: [ASM82939v1](#)

[More information and statistics](#)

[Download DNA sequence \(FASTA\)](#)

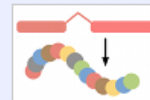
[Display your data in Ensembl Bacteria](#)



Example region

[Download genes, cDNA, proteins - FASTA - GFF3](#)

[Update your old Ensembl IDs](#)



Example transcript

Comparative genomics

What can I find? Gene families based on HAMAP and PANTHER classification.



Gene families

[More about comparative analyses](#)

[Phylogenetic overview of gene families](#)

Variation

This species currently has no variation database. However you can process your own variants using the Variant Effect Predictor.

[Variant Effect Predictor](#)



FTP ディレクトリ /pub/bacteria/release-38/gff3/bacteria_93_collection/lactobacillus_hokkaidonensis_jcm_18461 /ftp.ensemblgenomes.org

エクスプローラーでこの FTP サイトを表示するには、Alt キーを押して、[表示]をクリックし、[エクスプローラーで FTP サイトを開く]をクリックしてください。

1 階層上のディレクトリへ

01/16/2018 12:11午後	386	CHECKSUMS
01/06/2018 07:19午前	255	Lactobacillus hokkaidonensis_jcm_18461.ASM82939v1.38.abinitio.gff3.gz
01/06/2018 07:19午前	148,489	Lactobacillus hokkaidonensis_jcm_18461.ASM82939v1.38.chromosome.Chromosome.gff3.gz
01/06/2018 07:19午前	6,931	Lactobacillus hokkaidonensis_jcm_18461.ASM82939v1.38.chromosome.pL00C260-1.gff3.gz
01/06/2018 07:19午前	3,517	Lactobacillus hokkaidonensis_jcm_18461.ASM82939v1.38.chromosome.pL00C260-2.gff3.gz
01/06/2018 07:19午前	11,327	README

Ensembl解説

①このゲノムの全貌は②である程度把握可能。③原著論文の情報なども合わせることで、④ゲノムサイズが約2.4MB、⑤2,344 coding genesなどの情報がわかる。⑥でゲノム配列をダウンロードできる

Lactobacillus hokkaidonensis JCM 18461
Lactobacillus hokkaidonensis JCM 18461
 Provider [European Nucleotide Archive](#) | Taxonomy ID [1291742](#)

Search *Lactobacillus hokkaidonensis* JCM 18461...

e.g. [rpsO](#) or [Chromosome:1324161-1324484](#) or [synthetase](#)

About *Lactobacillus hokkaidonensis* JCM 18461

[Information and statistics](#)

Genome assembly: [ASM82939v1](#)

[More information and statistics](#) [View karyotype](#)

[Download DNA sequence \(FASTA\)](#)

[Display \[Ensembl Bacteria\]\(#\)](#)

Comparative genomics

What can I find? Gene families based on HAMAP and PANTHER classification.

[More about comparative analyses](#) [Gene families](#)

[Phylogenetic overview of gene families](#)

Lactobacillus hokkaidonensis JCM 18461 Assembly and Gene Annotation

Lactobacillus hokkaidonensis JCM 18461

Organism

Taxonomy ID [1291742](#)

Name *Lactobacillus hokkaidonensis* JCM 18461

Aliases *Lactobacillus hokkaidonensis* JCM 18461 str. LOOC260
Lactobacillus hokkaidonensis LOOC260
Lactobacillus sp. LOOC260

Classification

- › root
- › cellular organisms
- › Bacteria
- › Terrabacteria group
- › Firmicutes
- › Bacilli
- › Lactobacillales
- › Lactobacillaceae
- › Lactobacillus
- › *Lactobacillus hokkaidonensis*
- › *Lactobacillus hokkaidonensis* JCM 18461

Statistics

Summary

Assembly	ASM82939v1, INSDC Assembly GCA_000829395.1 , Nov 2014
Database version	91.1
Base Pairs	2,400,586
Golden Path Length	2,400,586
Genebuild by	ENA
Genebuild method	Generated from ENA annotation
Data source	European Nucleotide Archive

Gene counts

Coding genes	2,344
Non coding genes	68
Small non coding genes	68
Gene transcripts	2,412

Ensembl解説

いろいろなものがあるって私はよくわかりませんが、GFFファイルと一緒に取り扱いたいときには、GFFファイルと似た名前の①を採用します。正確には、このゲノムは1つの染色体と②2つのプラスミド(pLOOC260-1とpLOOC260-2)からなっています。①はそのうちの染色体配列のみになります。③ファイルサイズ的に、これが3つの配列がまとめられたものなのでしょう

FTP ディレクトリ /pub/bacteria/releas
38/fasta/bacteria_93_collection/lacto
ftp.ensemblgenomes.org

エクスプローラーでこの FTP サイトを表示するには、Alt キーを押して、[表示]メニューから、[FTP サイトを開く]をクリックしてください。

1階層上のディレクトリへ

01/15/2018 09:56午後	1,132	CHECKSUMS	
01/08/2018 12:24午後	706,219	Lactobacillus hokkaidonensis jcm 18461.ASM82939v1.dna.chromosome.Chromosome.fa.gz	①
01/08/2018 12:24午後	26,014	Lactobacillus hokkaidonensis jcm 18461.ASM82939v1.dna.chromosome.pLOOC260-1.fa.gz	② {
01/08/2018 12:24午後	13,347	Lactobacillus hokkaidonensis jcm 18461.ASM82939v1.dna.chromosome.pLOOC260-2.fa.gz	
01/08/2018 12:24午後	745,580	Lactobacillus hokkaidonensis jcm 18461.ASM82939v1.dna.toplevel.fa.gz	
01/08/2018 12:24午後	706,228	Lactobacillus hokkaidonensis jcm 18461.ASM82939v1.dna.rm.chromosome.Chromosome.fa.gz	③
01/08/2018 12:24午後	26,023	Lactobacillus hokkaidonensis jcm 18461.ASM82939v1.dna.rm.chromosome.pLOOC260-1.fa.gz	
01/08/2018 12:24午後	13,355	Lactobacillus hokkaidonensis jcm 18461.ASM82939v1.dna.rm.chromosome.pLOOC260-2.fa.gz	
01/08/2018 12:24午後	745,606	Lactobacillus hokkaidonensis jcm 18461.ASM82939v1.dna.rm.toplevel.fa.gz	
01/08/2018 12:24午後	706,228	Lactobacillus hokkaidonensis jcm 18461.ASM82939v1.dna.sm.chromosome.Chromosome.fa.gz	
01/08/2018 12:24午後	26,022	Lactobacillus hokkaidonensis jcm 18461.ASM82939v1.dna.sm.chromosome.pLOOC260-1.fa.gz	
01/08/2018 12:24午後	13,355	Lactobacillus hokkaidonensis jcm 18461.ASM82939v1.dna.sm.chromosome.pLOOC260-2.fa.gz	
01/08/2018 12:24午後	745,605	Lactobacillus hokkaidonensis jcm 18461.ASM82939v1.dna.sm.toplevel.fa.gz	
01/08/2018 12:24午後	4,923	README	

①例題7が読み込みの基本形。②GenomicFeaturesというパッケージが提供する③makeTxDbFromGFF関数を用いてGFFファイルを読み込んで、TxDbという独特の形式で取り扱えるようにする

GFFの読み込み

7. GFF3形式ファイル([Lactobacillus hokkaidonensis jcm 18461.GCA_000829395](#))

[Ensembl \(Flicek et al., 2014\)](#)から提供されている [Lactobacillus hokkaidonensis JCM 18461 \(Tanizawa et al., 2015\)](#) のデータです。

```
in_f <- "Lactobacillus_hokkaidonensis_jcm_18461.GCA_000829395.1.30.chromosome.Chromosome.gff3"#入  
#必要なパッケージをロード  
library(GenomicFeatures) #パッケージの読み込み  
#本番(TxDbオブジェクトの作成)  
txdb <- makeTxDbFromGFF(in_f, format="auto")#txdbオブジェクトの作成  
txdb #確認してるだけです
```

GFFの読み込み

7. GFF3形式ファイル([Lactobacillus hokkaidonensis jcm 18461.GCA_000829395.1.30.chromosome.Chromosome.gff3](#))の場合:
Ensembl (Flicek et al., 2014)から提供されている [Lactobacillus hokkaidonensis JCM 18461](#) (Tanizawa et al., 2015) のデータです。

```
in_f <- "Lactobacillus_hokkaidonensis_jcm_18461.GCA_000829395.1.30.chromosome.Chromosome.gff3" #1  
  
#必要なパッケージをロード  
library(GenomicFeatures)  
  
#本番(TxDbオブジェクトの作成)  
txdb <- makeTxDbFromGFF(in_f, format="auto")  
txdb
```

```
R Console  
> txdb <- makeTxDbFromGFF(in_f, format="auto") #txdbオブジェクトの作成  
Import genomic features from the file as a GRanges object ... OK  
Prepare the 'metadata' data frame ... OK  
Make the TxDb object ... OK  
> txdb #確認してるだけです  
TxDb object:  
# Db type: TxDb  
# Supporting package: GenomicFeatures  
# Data source: Lactobacillus_hokkaidonensis_jcm_18461.GCA_000829395.$  
# Organism: NA  
# Taxonomy ID: NA  
# miRBase build ID: NA  
# Genome: NA  
# transcript_nrow: 2262  
# exon_nrow: 2262  
# cds_nrow: 2194  
# Db created by: GenomicFeatures package from Bioconductor  
# Creation time: 2018-04-13 16:12:15 +0900 (Fri, 13 Apr 2018)  
# GenomicFeatures version at creation time: 1.30.3  
# RSQLite version at creation time: 2.1.0  
# DBSCHEMAVERSION: 1.2  
> |
```

矛盾?!

このゲノムは、1つの染色体と2つのプラスミド (pLOOC260-1とpLOOC260-2)からなっています。
①の結果は染色体のみの数値です。②のEnsemblウェブサイト上で見られる数値と一致していません

7. GFF3形式ファイル(Lactobacillus hokkaidonensis jcm 18461.GCA_000829395.1)

Ensembl (Flicek et al., 2014)から提供されている Lactobacillus hokkaidonensis JCM 18461 (Tanizawa et al., 2014)

```
in_f <- "Lactobacillus_hokkaidonensis_jcm_18461.GCA_000829395.1.gff3"
#必要なパッケージをロード
library(GenomicFeatures)
#本番(TxDbオブジェクトの作成)
txdb <- makeTxDbFromGFF(in_f, format="gff3")
txdb

> txdb <- makeTxDbFromGFF(in_f, format="gff3")
Import genomic features from the file ... OK
Prepare the 'metadata' data frame ... OK
Make the TxDb object ... OK
> txdb
TxDb object:
# Db type: TxDb
# Supporting package: GenomicFeatures
# Data source: Lactobacillus_hokkaidonensis
# Organism: NA
# Taxonomy ID: NA
# miRBase build ID: NA
# Genome: NA
# transcript_nrow: 2262
# exon_nrow: 2262
# cds_nrow: 2194
# Db created by: GenomicFeatures package
# Creation time: 2018-04-13 16:12:15 +0900
# GenomicFeatures version at creation time: 1.42.0
# RSQLite version at creation time: 2.1.1
# DBSCHEMAVERSION: 1.2
> |
```



transcript_nrow: 2262
exon_nrow: 2262
cds_nrow: 2194

Assembly	ASM82939v1, INSDC Assembly GCA_000829395.1, Nov 2014
Database version	87.1
Base Pairs	2,400,586
Golden Path Length	2,400,586
Genebuild by	ENA
Genebuild method	Generated from ENA annotation
Data source	European Nucleotide Archive
Gene counts	
Coding genes	2,344
Non coding genes	68
Small non coding genes	68
Gene transcripts	2,412



課題1

このゲノムは、1つの染色体と2つのプラスミド (pLOOC260-1とpLOOC260-2)からなっています。①の結果は染色体のみの数値です。②のEnsemblウェブサイト上で見られる数値と一致していません。プラスミドのgffファイル (plasmid1.gff3とplasmid2.gff3)をそれぞれ読み込んで① transcript_nrow (Gene transcripts)と② cds_nrow (Coding genes)の情報を得て、③Ensemblウェブサイト上の数値と絡めて簡単に考察せよ

7. GFF3形式ファイル(Lactobacillus hokkaidonensis jcm 18461.GCA_000829370.1.gff3)

Ensembl (Flicek et al., 2014)から提供されている Lactobacillus hokkaidonensis JCM 18461のGenomicFeaturesパッケージのインストールと読み込み

```
in_f <- "Lactobacillus_hokkaidonensis_jcm_18461_GCA_000829370.1.gff3"

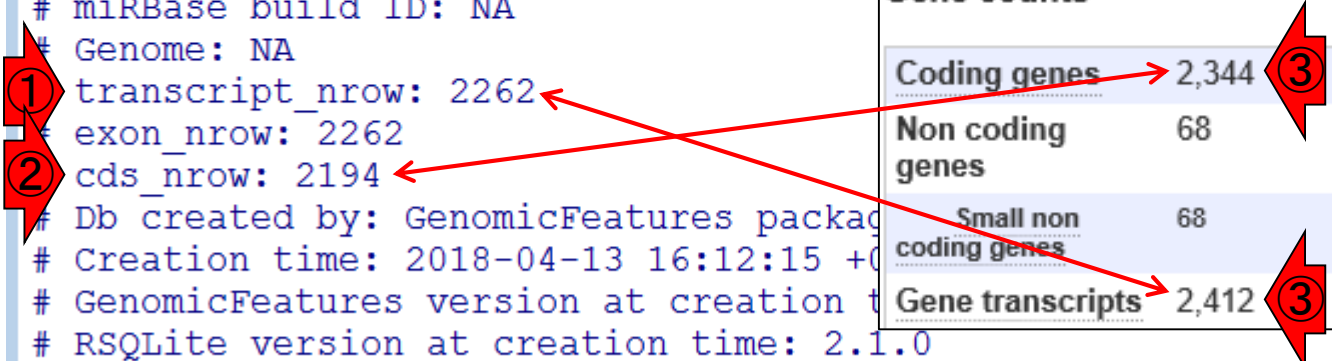
#必要なパッケージをロード
library(GenomicFeatures)

#本番(TxDbオブジェクトの作成)
txdb <- makeTxDbFromGFF(in_f)
txdb
```

```
R Console
> txdb <- makeTxDbFromGFF(in_f)
Import genomic features from GFF3 file
Prepare the 'metadata' data
Make the TxDb object ...

> txdb
TxDb object:
# Db type: TxDb
# Supporting package: GenomicFeatures
# Data source: Lactobacillus_hokkaidonensis_jcm_18461_GCA_000829370.1.gff3
# Organism: NA
# Taxonomy ID: NA
# miRBase build ID: NA
# Genome: NA
① transcript_nrow: 2262
# exon_nrow: 2262
② cds_nrow: 2194
# Db created by: GenomicFeatures package
# Creation time: 2018-04-13 16:12:15 +0900
# GenomicFeatures version at creation time: 1.38.0
# RSQLite version at creation time: 2.1.1
# DBSCHEMAVERSION: 1.2
> |
```

Length	
Genebuild by	ENA
Genebuild method	Generated from ENA annotation
Data source	European Nucleotide Archive
Gene counts	
Coding genes	2,344
Non coding genes	68
Small non coding genes	68
Gene transcripts	2,412



課題1

① プラスミドのgffファイル(plasmid1.gff3とplasmid2.gff3) はこちら



東京大学大学院農学生命科学研究科

アグリバイオインフォマティクス教育研究ユニット

Agricultural Bioinformatics Research Unit

+ サイトマップ + English

[受講生の方へ](#) [研究者の方へ](#)

[ホーム](#) > [教育プログラム](#) > [各講義のページ](#) > 9.機能ゲノム学



9.機能ゲノム学

授業の目標・概要

細胞中で発現している全転写物（トランスクリプトーム）の解析技術は、世代シーケンサ（RNA-seq）に移行しつつあります。しかしRNA-seqマイクロアレイの知識を前提としています。

本科目では、マイクロアレイデータを主な例として、各種トランスクリプトーム解析を行います。また、Rのスキルアップを目指します。

担当教員

[門田幸二](#)（東大・農・アグリバイオ / 特任准教授）

お知らせ

講義では、Rの様々なパッケージを利用します。持ち込み用PC利用希望者については、事前にR本体および必要なパッケージのインストールを完了させてください。

講義日程（平成30年度）

- 平成30年05月08日
[講義資料PDF](#)
[.gff3ファイル](#) (約1.3MB)
[.faファイル](#) (約2.2MB)
[\(Rで\)塩基配列解析](#)
[\(Rで\)マイクロアレイデータ解析](#)
[plasmid1.gff3\(課題用\)](#)
[plasmid2.gff3\(課題用\)](#)
- 平成30年05月15日
[講義資料PDF](#)
- 平成30年05月22日
[講義資料PDF](#)
- 平成30年05月29日
[講義資料PDF](#)



Contents

- トランスクリプトーム解析技術の原理や特徴
 - マイクロアレイとRNA-seq
 - 遺伝子 ≠ 転写物
- RNA-seqデータ解析のイメージ
 - マッピング → 新規転写物の同定
- 様々な解析目的
 - ショートリードのIllumina、ロングリードのPacBioとMinION
 - データ解析の全体像 (入出力の関係や代表的なツール)
- アノテーションファイルの読み込みと課題1
 - Rで転写物配列取得のイントロ
- Rで転写物配列取得と課題2
 - アノテーションファイルとゲノム情報ファイルから
- 公共データベース
 - NGS全体 (NCBI SRA, EMBL-EBI ENA, DDBJ SRA)
 - DRAの概要、クオリティスコアなど

multi-FASTAファイル(ゲノム配列情報)とGFFファイル(アノテーション情報)を同時に読み込むことで、①トランスクリプトーム(転写物)配列情報を一気に取得することも可能。②例題5。③はhogeフォルダ中にあります

転写物配列取得

- ・イントロ | 一般 | 配列取得 | プロモーター配列 | [BSgenomeとTxDbから\(last modified 2015/05/09\)](#)
- ・イントロ | 一般 | 配列取得 | プロモーター配列 | [GenomicFeatures\(Lawrence_2013\)](#)
- ・イントロ | 一般 | 配列取得 | トランスクリプトーム配列 | [公共DBから\(last modified 2015/05/09\)](#)
- ・イントロ | 一般 | 配列取得 | トランスクリプトーム配列 | [GenomicFeatures\(Lawrence_2013\)](#) (last modified 2016/02/09)
- ・イントロ | 一般 | 配列取得 | トランスクリプトーム配列 | [biomaRt\(Durinck_2009\)](#) (last modified 2015/02/20)
- ・イントロ | 一般 | 読み込み | xls形式 | [openxlsx](#) (last modified 2015/11/15)

イントロ | 一般 | 配列取得 | トランスクリプトーム配列 | GenomicFeatures(Lawrence_2013)

NEW

GenomicFeaturesパッケージを主に用いてトランスクリプトーム配列を得るやり方を示します。「extractTranscriptSeqs」を行うことで、様々な例題を見ることができます。transcriptsBy関数部分は、exonsBy, cdsBy, intronsByTranscript, fiveUTRsByTranscript, threeUTRsByTranscriptなど様々な他の関数で置き換えることができます。

5. GFF3形式のアノテーションファイルとFASTA形式のゲノム配列ファイルを読み込む場合:

GFF3形式ファイル([Lactobacillus_hokkaidonensis_jcm_18461.GCA_000829395.1.30.chromosome.Chromosome.gff3](#))とFASTA形式ファイル([Lactobacillus_hokkaidonensis_jcm_18461.GCA_000829395.1.30.dna.chromosome.Chromosome.fa](#))を読み込むやり方です。[Ensembl \(Flicek et al., 2014\)](#)から提供されている [Lactobacillus_hokkaidonensis JCM 18461 \(Tanizawa et al., 2015\)](#) のデータです。

1. ヒト (BSgenome)

対応するアノテーションファイルは82,960

```
out_f <-
param_bsg
param_txdb
```

#必要なパッケージをロード

#前処理(カ)

```
library(p
tmp <- ls
genome <
```

```
in_f1 <- "Lactobacillus_hokkaidonensis_jcm_18461.GCA_000829395.1.30.dna.chromosome.Chromosome.fa"
in_f2 <- "Lactobacillus_hokkaidonensis_jcm_18461.GCA_000829395.1.30.chromosome.Chromosome.gff3"
out_f <- "hoge5.fasta" #出力ファイル名を指定してout_fに格納
```

#必要なパッケージをロード

```
library(Rsamtools)
library(GenomicFeatures)
library(Biostings)
```

#入力ファイルの読み込み

```
txdb <- makeTxDbFromGFF(in_f2, format="auto") #txdbオブジェクトの作成
txdb #確認してるだけです
```

#前処理(欲しい領域の座標情報取得)

```
hoge <- transcripts(txdb) #指定した範囲の座標情報を取得
hoge #確認してるだけです
```

#本系(配列取得)

講義日程 (平成30年度)

1. 平成30年05月08日

講義資料PDF

.gff3ファイル (約1.3MB)

.faファイル (約2.2MB)

(Rで)塩基配列解析

(Rで)マイクロアレイデータ解析

plasmid1.gff3(課題用)

plasmid2.gff3(課題用)

2. 平成30年05月15日

転写物配列取得

①は、GFFファイル情報を保持したtxdbオブジェクトから、transcriptsという関数を用いて抽出したい転写物の座標情報を取得した結果を②hogeに保存している

5. GFF3形式のアノテーションファイルとFASTA形式のゲノム配列ファイルを読み込む場合:

GFF3形式ファイル([Lactobacillus_hokkaidonensis_jcm_18461.GCA_000829395.1.30.chromosome.Chromosome.gff3](#))とFASTA形式ファイル([Lactobacillus_hokkaidonensis_jcm_18461.GCA_000829395.1.30.dna.chromosome.Chromosome.fa](#))を読み込むやり方です。
Ensembl (Flicek et al., 2014)から提供されている [Lactobacillus_hokkaidonensis JCM 18461 \(Tanizawa et al., 2015\)](#) のデータです。

```
in_f1 <- "Lactobacillus_hokkaidonensis_jcm_18461.GCA_000829395.1.30.dna.chromosome.Chromosome.fa"#)
in_f2 <- "Lactobacillus_hokkaidonensis_jcm_18461.GCA_000829395.1.30.chromosome.Chromosome.gff3"#)
out_f <- "hoge5.fasta" #出力ファイル名を指定してout_fに格納
```

```
#必要なパッケージをロード
library(Rsamtools)
library(GenomicFeatures)
library(Biostrings)
```

```
#入力ファイルの読み込み
txdb <- makeTxDbFromGFF(in_f2,
txdb)
```

```
#前処理(欲しい領域の座標情報取得)
hoge <- transcripts(txdb)
hoge
```

```
#本番配列取得)
fasta <- getSeq(FaFile(in_f1),
fasta)
```

```
#後処理(description部分を変更)
```

R Console

```
> #前処理 (欲しい領域の座標情報取得)
> hoge <- transcripts(txdb) #指定した範囲の座標情報を取得
> hoge #確認してるだけです
```

GRanges object with 2262 ranges and 2 metadata columns:

	seqnames	ranges	strand	tx_id	tx_name
	<Rle>	<IRanges>	<Rle>	<integer>	<character>
[1]	Chromosome	[360, 1676]	+	1	dnaA-1
[2]	Chromosome	[1852, 2991]	+	2	dnaN-1
[3]	Chromosome	[3233, 3457]	+	3	<NA>
[4]	Chromosome	[3467, 4588]	+	4	recF-1
[5]	Chromosome	[4588, 6531]	+	5	gyrB-1
...
[2258]	Chromosome	[2273924, 2275312]	-	2258	trmE-1
[2259]	Chromosome	[2275488, 2276288]	-	2259	<NA>
[2260]	Chromosome	[2276455, 2277288]	-	2260	<NA>
[2261]	Chromosome	[2277304, 2277648]	-	2261	<NA>
[2262]	Chromosome	[2277719, 2277853]	-	2262	rpmH-1

```
seqinfo: 1 sequence from an unspecified genome; no seqlengths
> |
```


転写物配列取得

GFFファイルの見方がよくわかっていなくても、GFFファイル中の①のあたりとhogeオブジェクト中の②と比較することで、うまく読み込めているらしいことはわかる

```
##gff-version 3
##sequence-region Chromosome 360 2277853
#!genome-build European Nucleotide Archive ASM82939
#!genome-version GCA_000829395.1
#!genome-date 2014-11
#!genome-build-accession GCA_000829395.1
#!genebuild-last-updated 2014-11
```

Chromosome	ena	gene	360	1676	+	ID=ge
Chromosome	ena	transcript	360	1676	+	ID=tr
Chromosome	ena	exon	360	1676	+	Pare
Chromosome	ena	CDS	360	1676	+	ID=C
###						
Chromosome	ena	gene	1852	2991	+	ID=ge
Chromosome	ena	transcript	1852	2991	+	ID=tr
Chromosome	ena	exon	1852	2991	+	Pare
Chromosome	ena	CDS	1852	2991	+	ID=C
###						
Chromosome	ena	gene	3233	3457	+	ID=ge
Chromosome	ena	transcript	3233	3457	+	ID=tr
Chromosome	ena	exon	3233	3457	+	Pare
Chromosome	ena	CDS	3233	3457	+	ID=C
###						
Chromosome	ena	gene	3467	4588	+	ID=ge

```

#指定した範囲の座標情報を取得
#確認してるだけです
2262 ranges and 2 metadata columns:
      ranges strand | tx_id tx_name
      <IRanges> <Rle> | <integer> <character>
      [ 360, 1676] + | 1 dnaA-1
      [1852, 2991] + | 2 dnaN-1
      [3233, 3457] + | 3 <NA>
      [3467, 4588] + | 4 recF-1
      [4588, 5531] + | 5 gyrB-1
      ... .. | ... ..
      [2273924, 2275312] - | 2258 trmE-1
      [2275488, 2276288] - | 2259 <NA>
      [2276455, 2277288] - | 2260 <NA>
      [2277304, 2277648] - | 2261 <NA>
      [2277719, 2277853] - | 2262 rpmH-1

```

```

-----
seqinfo: 1 sequence from an unspecified genome; no seqlengths
> |

```

転写物配列取得

①in_f1で指定したゲノム配列情報は②ここで登場。
 ①のゲノム配列から、③のhogeで指定した座標の塩基配列を④(Biostringsパッケージが提供する)getSeq関数を用いて取得。⑤(Rsamtoolsパッケージが提供する)FaFile関数は、getSeq関数利用時に必要

5. GFF3形式のアノテーションファイルとFASTA形式のゲノム配列ファイルを読み込む

GFF3形式ファイル([Lactobacillus_hokkaidonensis_jcm_18461.GCA_000829395.1.30.dna.chromosome.Chromosome.gff3](#))
 ファイル([Lactobacillus_hokkaidonensis_jcm_18461.GCA_000829395.1.30.dna.chromosome.Chromosome.fasta](#))
 Ensembl (Flicek et al., 2014)から提供されている [Lactobacillus_hokkaidonensis_JCM_18461](#) (Tanizawa et al., 2015) のデータです。

```
in_f1 <- "Lactobacillus_hokkaidonensis_jcm_18461.GCA_000829395.1.30.dna.chromosome.Chromosome.fasta"
in_f2 <- "Lactobacillus_hokkaidonensis_jcm_18461.GCA_000829395.1.30.chromosome.Chromosome.gff3"#入力
out_f <- "hoge5.fasta" #出力ファイル名を指定してout_fに格納
```

```
#必要なパッケージをロード
library(Rsamtools) #パッケージの読み込み
library(GenomicFeatures) #パッケージの読み込み
library(Biostrings) #パッケージの読み込み
```

```
#入力ファイルの読み込み
txdb <- makeTxDbFromGFF(in_f2, format="auto")#txdbオブジェクトの作成
txdb #確認してるだけです
```

```
#前処理(欲しい領域の座標情報取得)
hoge <- transcripts(txdb)
hoge #指定した範囲の座標情報 #確認してるだけです
```

```
#本番(配列取得)
fasta <- getSeq(FaFile(in_f1), hoge) #配列情報を取得した結果 #確認してるだけです
fasta
```

```
#後処理(description部分を変更)
```

```
R Console
> FaFile(in_f1)
class: FaFile
path: ../Lactobacillus_hokkaidonensis_jcm_18461.GCA_000829395.1.30.dna.chromosome.Chromosome.fasta
index: ../Lactobacillus_hokkaidonensis_jcm_18461.GCA_000829395.1.30.dna.chromosome.Chromosome.gff3
isOpen: FALSE
yieldSize: NA
> |
```



①getSeq実行後の②fastaオブジェクトが、欲しいトランスクリプトーム配列情報ではあるが…

転写物配列取得

5. GFF3形式のアノテーションファイルとFASTA形式のゲノム配列ファイルを読み込む場合:

GFF3形式ファイル([Lactobacillus hokkaidonensis jcm 18461.GCA_000829395.1.30.chromosome.Chromosome.gff3](#))とFASTA形式ファイル([Lactobacillus hokkaidonensis jcm 18461.GCA_000829395.1.30.dna.chromosome.Chromosome.fa](#))を読み込むやり方です。
[Ensembl \(Flicek et al., 2014\)](#)から提供されている [Lactobacillus hokkaidonensis JCM 18461 \(Tanizawa et al., 2015\)](#) のデータです。

```
library(Biostings) #パッケージの読み込み

#入力ファイルの読み込み
txdb <- makeTxDbFromGFF(in_f2, format="auto") #txdbオブジェクトの作成
txdb #確認してるだけです

#前処理(欲しい領域の座標情報取得)
hoge <- transcripts(txdb)
hoge

#本番(配列取得)
fasta <- getSeq(FaFile(in_f1), hoge)
fasta

#後処理(description部分を変更)
names(fasta) <- paste(seqnames(hoge),
                      end(ranges(hoge)),
                      sep="_")

#ファイルに保存
writeXStringSet(fasta, file=out_f, format="fasta")
```

```
R Console
> fasta <- getSeq(FaFile(in_f1), hoge) #配列情報を取得した$
> fasta #確認してるだけです

A DNAStringSet instance of length 2262
width seq names $
[1] 1317 GTGACTGATTTAGAA...AGCTAAAGCCATAG Chromosome
[2] 1140 ATGAAATTTACAATT...TTAGAACTTACTAA Chromosome
[3] 225 GTGCAAGAAGCAAAA...TTCAAATGAGTAG Chromosome
[4] 1122 ATGATTTTAAAAGAA...AGGAGGAACCATAG Chromosome
[5] 1944 GTGAGCGATAAAAAA...ACTTAGATCTATAG Chromosome
...
[2258] 1389 GTGGCACAGACAGAG...GTTTAGGTAATAG Chromosome
[2259] 801 ATGGCAATTTTACT...CTAGTGAGATGTAA Chromosome
[2260] 834 GTGAAAAGCACTTA...GTAGGCGCAAGTGA Chromosome
[2261] 345 ATGAGAAAGTCATAT...TAGATGAGCATTA Chromosome
[2262] 135 ATGAAGCGCACATTT...TATTATCTGCATAG Chromosome
> |
```

①のfastaオブジェクトをそのままFASTA形式で保存すると、②で見えているがままでのdescription情報が書きだされる。つまり、すべて"Chromosome"になってしまう

転写物配列取得

```
#本番(配列取得)
fasta <- getSeq(FaFile(in_f1), hoge) #配列情報を取得した結果をfastaに格納
#確認してるだけです

#後処理(description部分を変更)
names(fasta) <- paste(seqnames(hoge), start(ranges(hoge)),#"染色体名_start_end"に変更
                      end(ranges(hoge)), sep=" ")#"染色体名_start_end"に変更

fasta #確認してるだけです

#ファイルに保存
writeXStringSet(fasta, file=out_f, format="fasta", width=50)#fastaの中身を指定したファイル名で保存
```

```
R Console
> fasta <- getSeq(FaFile(in_f1), hoge) #配列情報を取得した$
> fasta #確認してるだけです
A DNASTringSet instance of length 2262
      width seq
[1] 1317 GTGACTGATTTAGAA...AGCTAAAGCCATAG
[2] 1140 ATGAAATTTACAATT...TTAGAACTTACTAA
[3] 225 GTGCAAGAAGCAAAA...TTCAAAATGAGTAG
[4] 1122 ATGATTTTAAAAGAA...AGGAGGAACCATAG
[5] 1944 GTGAGCGATAAAAAA...ACTTAGATCTATAG
...
[2258] 1389 GTGGCACAGACAGAG...GTTTAGGTAAATAG
[2259] 801 ATGGCAATTTTTACT...CTAGTGAGATGTAA
[2260] 834 GTGAAAAGCACTTA...GTAGGCGCAAGTGA
[2261] 345 ATGAGAAAGTCATAT...TAGATGAGCATTAA
[2262] 135 ATGAAGCGCACATTT...TATTATCTGCATAG
> |
```

転写物配列取得

赤枠部分で行っているのは、description部分の記述内容を“Chromosome_start_end”として、どこの座標由来の塩基配列かがわかるようにしている。①pasteは、文字列を②sepオプションで指定した文字を間に挟んで連結する関数。③の例をみれば挙動がわかると期待

```
#本番(配列取得)
fasta <- getSeq(FaFile(in_f1), hoge) #配列情報を取得し
fasta #確認してるだけで

#後処理(description部分を変更)
names(fasta) <- paste(seqnames(hoge), start(ranges(hoge)),#"染色体名
end(ranges(hoge)), sep=" ")#"染色体名_start_end" #確認してるだけです
fasta

#ファイルに保存
writeXStringSet(fasta, file=out_f, format="fasta", width=50)#fastaの中
```



```
R Console
> paste("uge", "age", sep="_")
[1] "uge_age"
> seqnames(hoge)
factor-Rle of length 2262 with 1 run
Lengths:      2262
Values : Chromosome
Levels(1): Chromosome
> ranges(hoge)
IRanges of length 2262
      start      end width
[1]      360     1676 1317
[2]     1852     2991 1140
[3]     3233     3457  225
[4]     3467     4588 1122
[5]     4588     6531 1944
...
[2258] 2273924 2275312 1389
[2259] 2275488 2276288  801
[2260] 2276455 2277288  834
[2261] 2277304 2277648  345
[2262] 2277719 2277853  135
> |
```

転写物配列取得

① description部分が変わっていることがわかる。これを眺めるだけで、出力ファイルをみなくてももうまくいっていると判断できる(と油断していると時々落とし穴があるので注意)

```
#本番(配列取得)
fasta <- getSeq(FaFile(in_f1), hoge) #配列情報を取得した結果をfastaに格納
fasta #確認してるだけです

#後処理(description部分を変更)
names(fasta) <- paste(seqnames(hoge), start(ranges(hoge)),#"染色体名_start_end"に変更
                      end(ranges(hoge)), sep="_")#"染色体名_start_end"に変更
fasta #確認してるだけです

#ファイルに保存
writeXStringSet(fasta, file=out_f, format="fasta")
```

```
R Console
> #後処理 (description部分を変更)
> names(fasta) <- paste(seqnames(hoge), start(ranges(hoge))$
+                       end(ranges(hoge)), sep="_")#"染色体$
> fasta #確認してるだけで$

A DNASTringSet instance of length 2262
      width seq                      names
[1]  1317 GTGACTGATTT...AAAGCCATAG Chromosome_360_1676
[2]  1140 ATGAAATTTAC...AACTTACTAA Chromosome_1852_2991
[3]   225 GTGCAAGAAGC...AAATGAGTAG Chromosome_3233_3457
[4]  1122 ATGATTTTAAA...GGAACCATAG Chromosome_3467_4588
[5]  1944 GTGAGCGATAA...AGATCTATAG Chromosome_4588_6531
...
[2258] 1389 GTGGCACAGAC...AGGTAAATAG Chromosome_227392...
[2259]  801 ATGGCAATTTT...TGAGATGTAA Chromosome_227548...
[2260]  834 GTGAAAAGCA...GCGCAAGTGA Chromosome_227645...
[2261]  345 ATGAGAAAGTC...TGAGCATTAA Chromosome_227730...
[2262]  135 ATGAAGCGCAC...ATCTGCATAG Chromosome_227771...
> |
```



①このfastaオブジェクトを入力として、転写物数、塩基長の最大(max)・最小(min)・平均(mean)を示せ

課題2

```
#本番(配列取得)
fasta <- getSeq(FaFile(in_f1), hoge) #配列情報を取得した結果をfastaに格納
#確認してるだけです

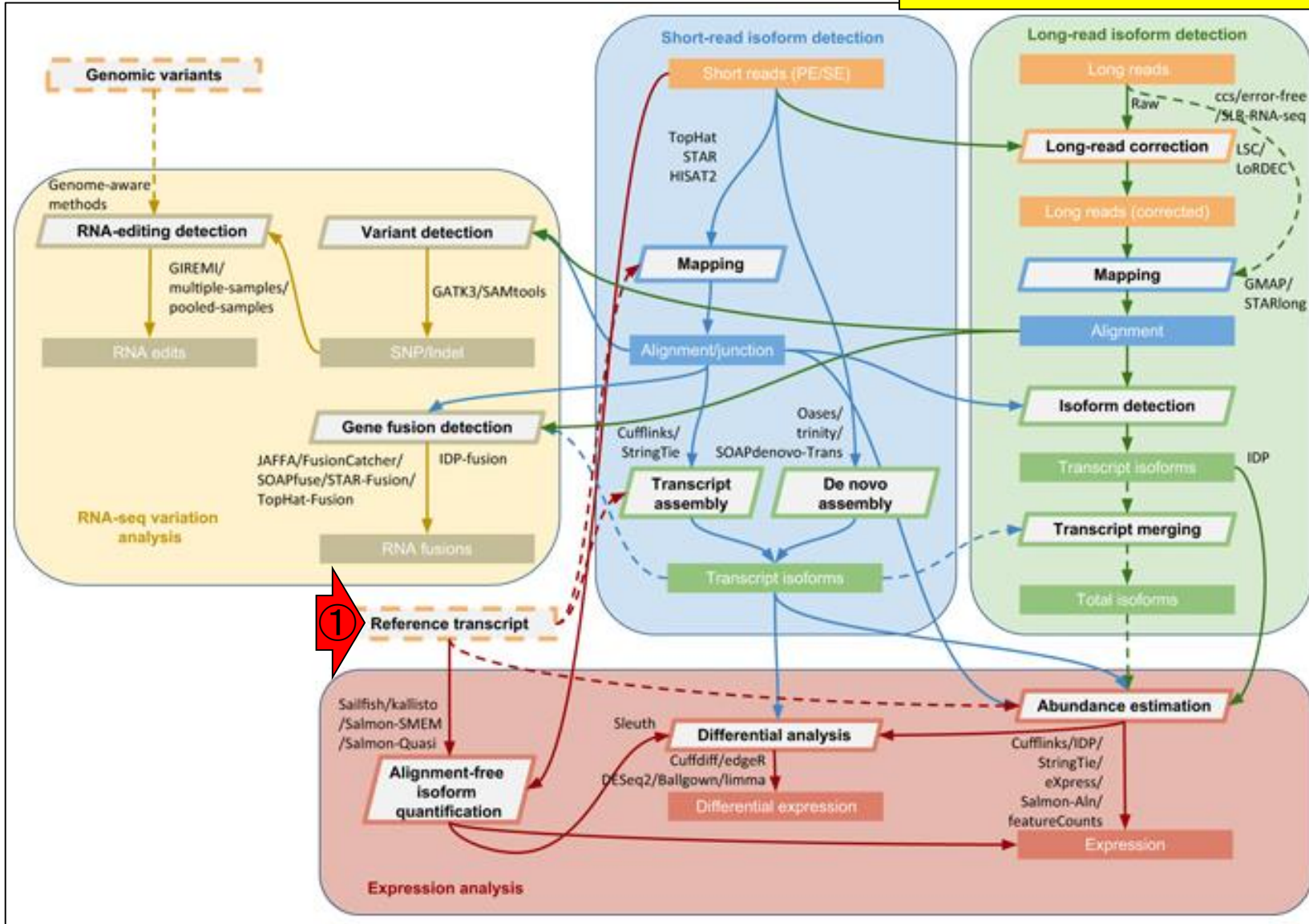
#後処理(description部分を変更)
names(fasta) <- paste(seqnames(hoge), start(ranges(hoge)),#"染色体名_start_end"に変更
                      end(ranges(hoge)), sep="_")#"染色体名_start_end"に変更
#確認してるだけです

#ファイルに保存
writeXStringSet(fasta, file=out_f, format="fasta")
```

```
R Console
> #後処理 (description部分を変更)
> names(fasta) <- paste(seqnames(hoge), start(ranges(hoge))$
+                       end(ranges(hoge)), sep="_")#"染色体$
> fasta #確認してるだけで$
A DNASTringSet instance of length 2262
      width seq          names
[1]  1317 GTGACTGATTT...AAAGCCATAG Chromosome_360_1676
[2]  1140 ATGAAATTTAC...AACTTACTAA Chromosome_1852_2991
[3]   225 GTGCAAGAAGC...AAATGAGTAG Chromosome_3233_3457
[4]  1122 ATGATTTTAAA...GGAACCATAG Chromosome_3467_4588
[5]  1944 GTGAGCGATAA...AGATCTATAG Chromosome_4588_6531
...
[2258] 1389 GTGGCACAGAC...AGGTAAATAG Chromosome_227392...
[2259]  801 ATGGCAATTTT...TGAGATGTAA Chromosome_227548...
[2260]  834 GTGAAAAGCA...GCGCAAGTGA Chromosome_227645...
[2261]  345 ATGAGAAAGTC...TGAGCATTAA Chromosome_227730...
[2262]  135 ATGAAGCGCAC...ATCTGCATAG Chromosome_227771...
> |
```

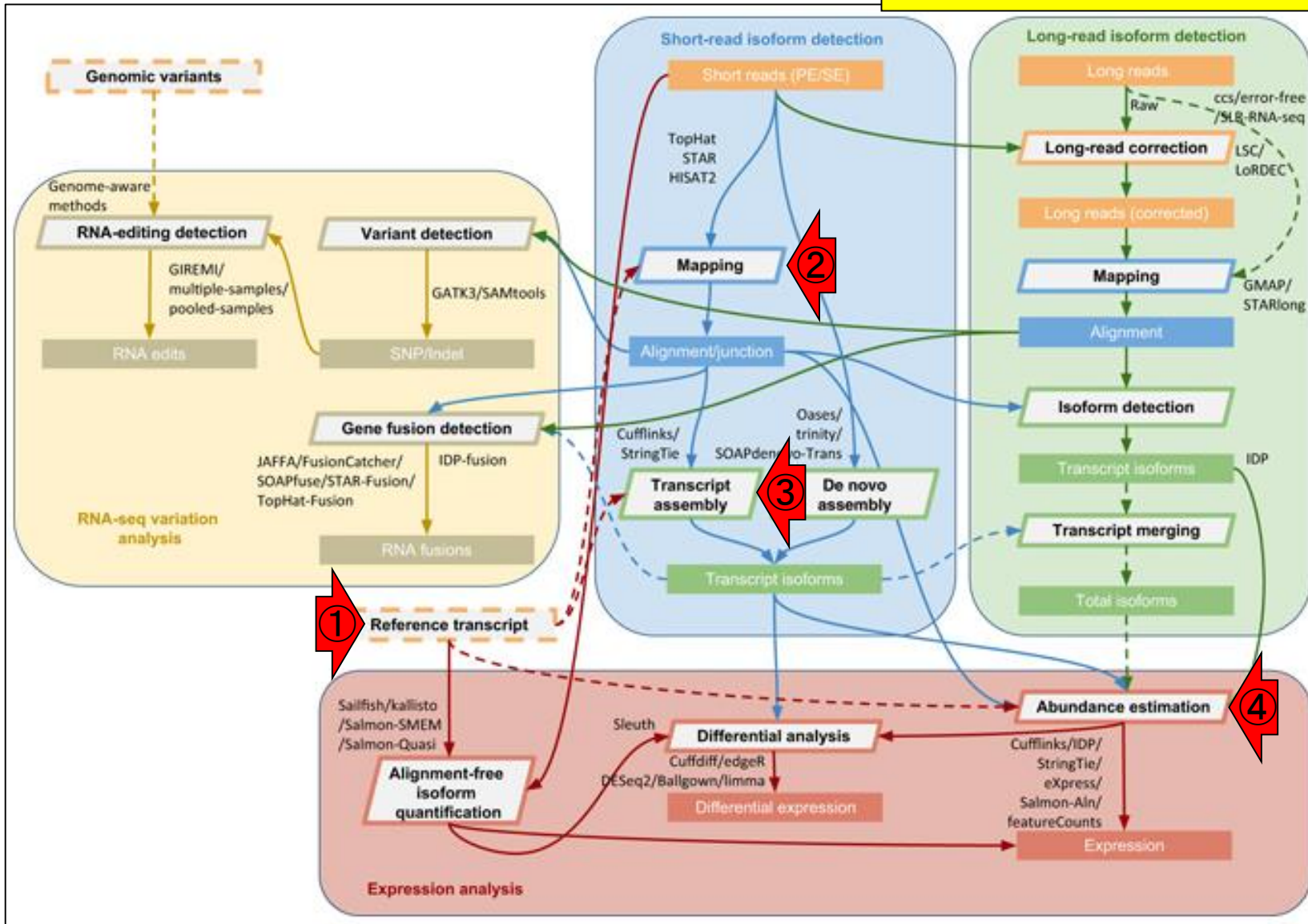
RNACocktail論文の図

課題の位置づけについて説明。課題2で作成するトランスクリプトーム配列のmulti-FASTAファイルが、①のReference transcriptです。



RNACocktail論文の図

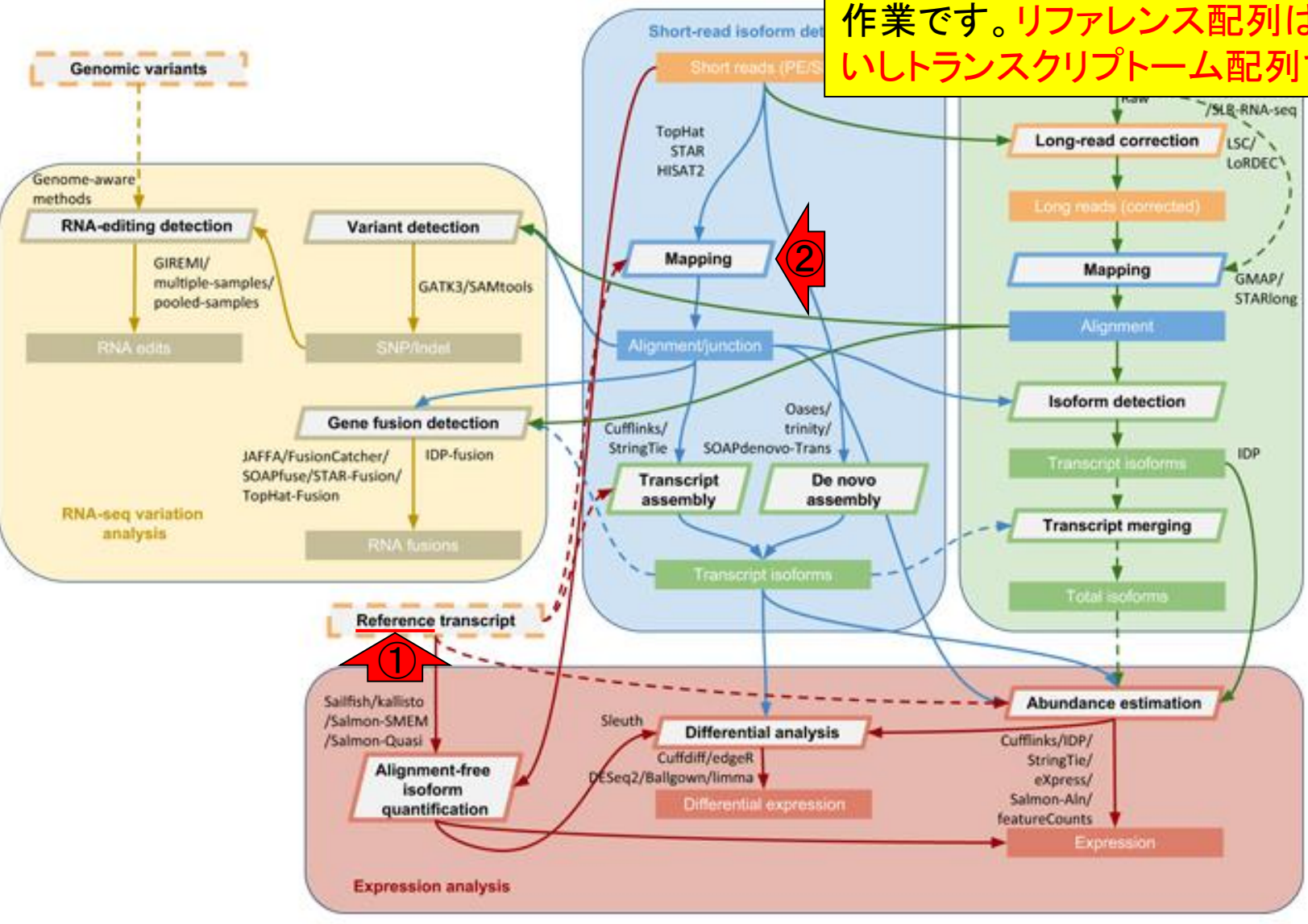
①のReference transcriptは、②Mapping、③ Transcript assembly、④Abundance estimationなどでリファレンス配列として使われます



Sahraeian et al., Nat Commun., 8(1): 59, 2017

RNACocktail論文の

①「リファレンス」は「参照」という意味。②マッピングは、RNA-seqリードをマップする側として用い、リファレンス配列のどこにマップされるかを調べる作業です。リファレンス配列は、ゲノム配列でもよいしトランスクリプトーム配列でもよいのです



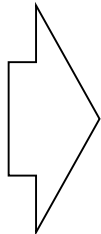
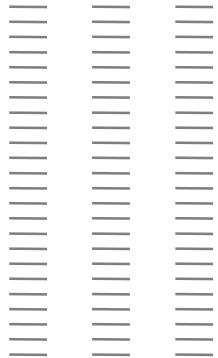
マッピングのイメージ

■ 基本的なマッピングプログラム (bowtieなど)

(遺伝子=転写物ではないので若干不正確ではあるが...) ①ゲノム配列以外に②トランスクリプトーム配列もリファレンスとして使える、という感覚を掴んでもらうのがこのスライドで学んでもらいたいこと

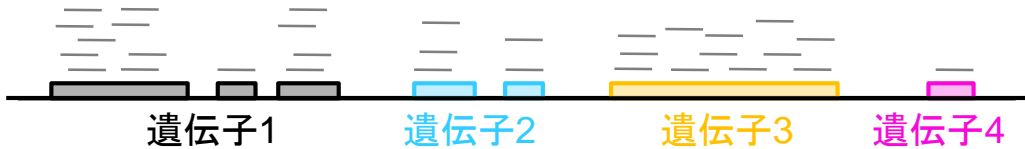
あるサンプルの
RNA-Seqデータ

mapping



リファレンス配列:ゲノム

①



count

	T1
遺伝子1	14
遺伝子2	5
遺伝子3	12
遺伝子4	1
遺伝子5	...
...	...

リファレンス配列:トランスクリプトーム

②



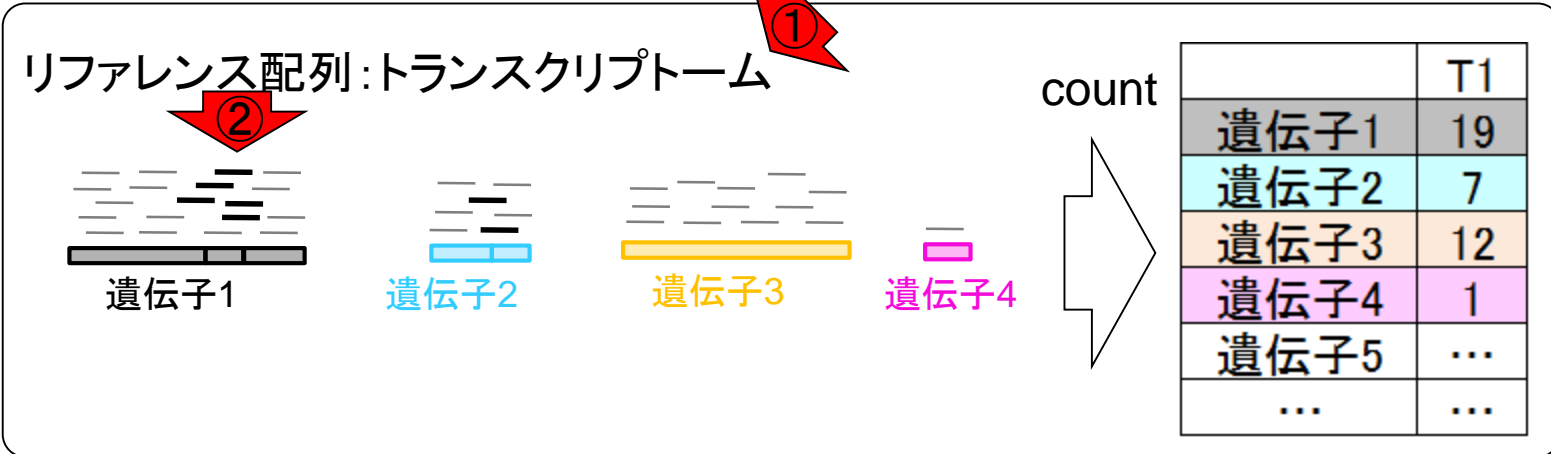
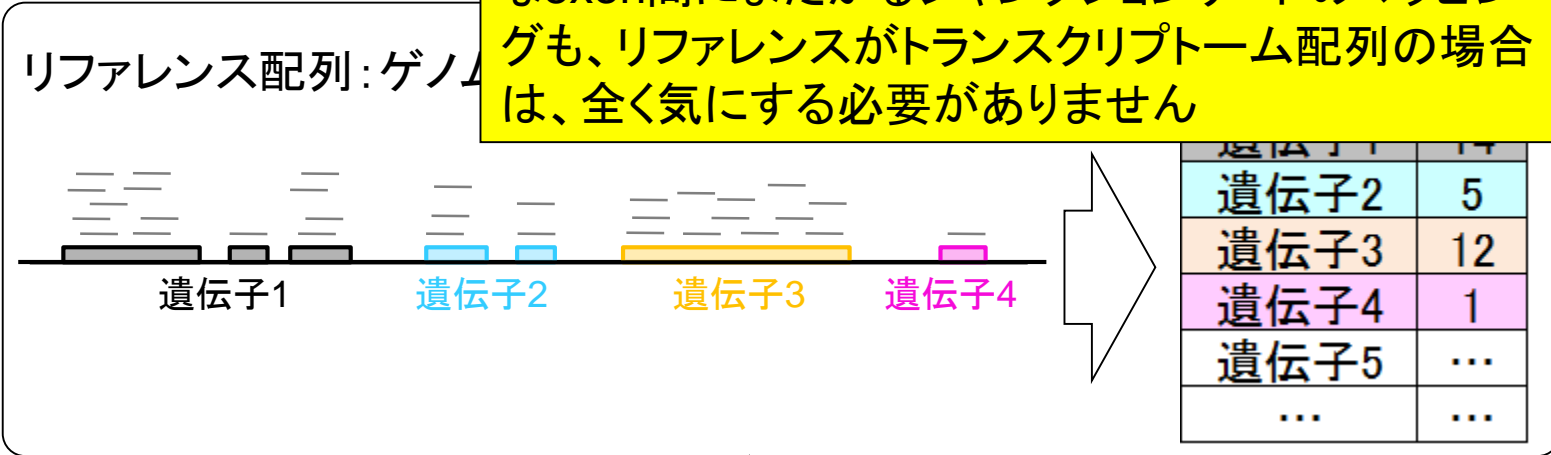
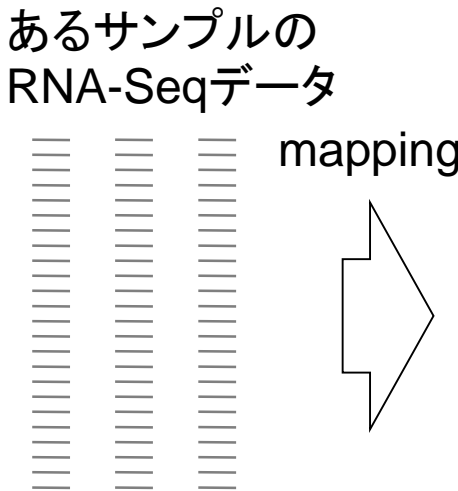
count

	T1
遺伝子1	19
遺伝子2	7
遺伝子3	12
遺伝子4	1
遺伝子5	...
...	...

マッピングのイメージ

■ 基本的なマッピングプログラム (bc)

①トランスクリプトーム配列をリファレンスとして使うメリットは、リファレンスのサイズ(トータルの配列長と同義)がゲノムに比べて圧倒的に小さいので、マッピングがサクッと終わります。また、②で示したようなexon間にまたがるジャンクションリードのマッピングも、リファレンスがトランスクリプトーム配列の場合は、全く気にする必要がありません

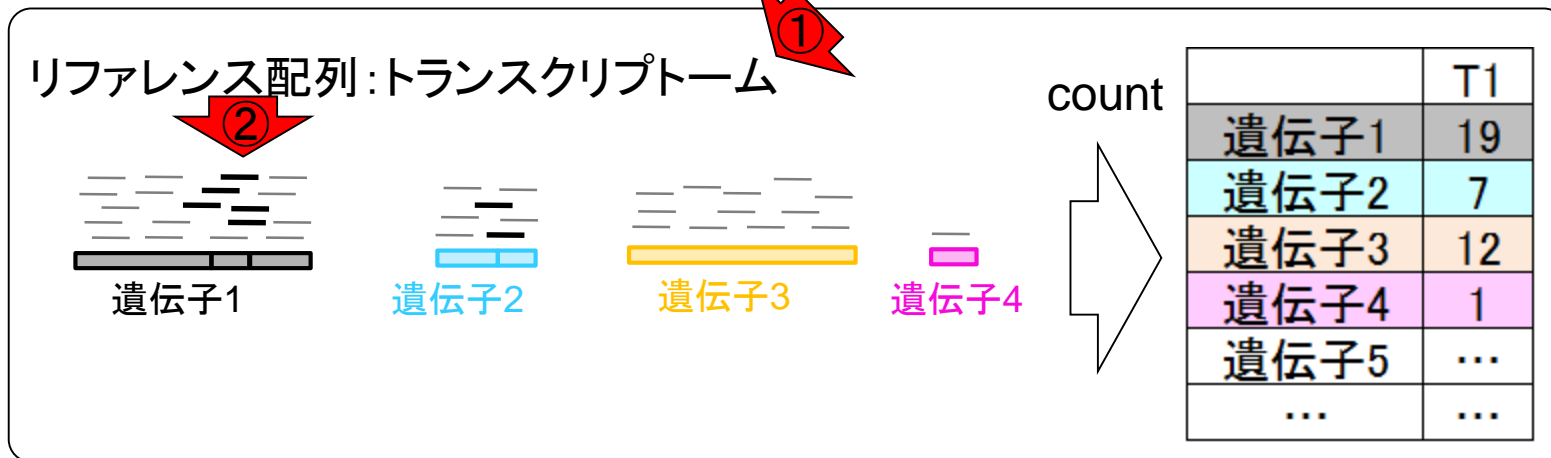
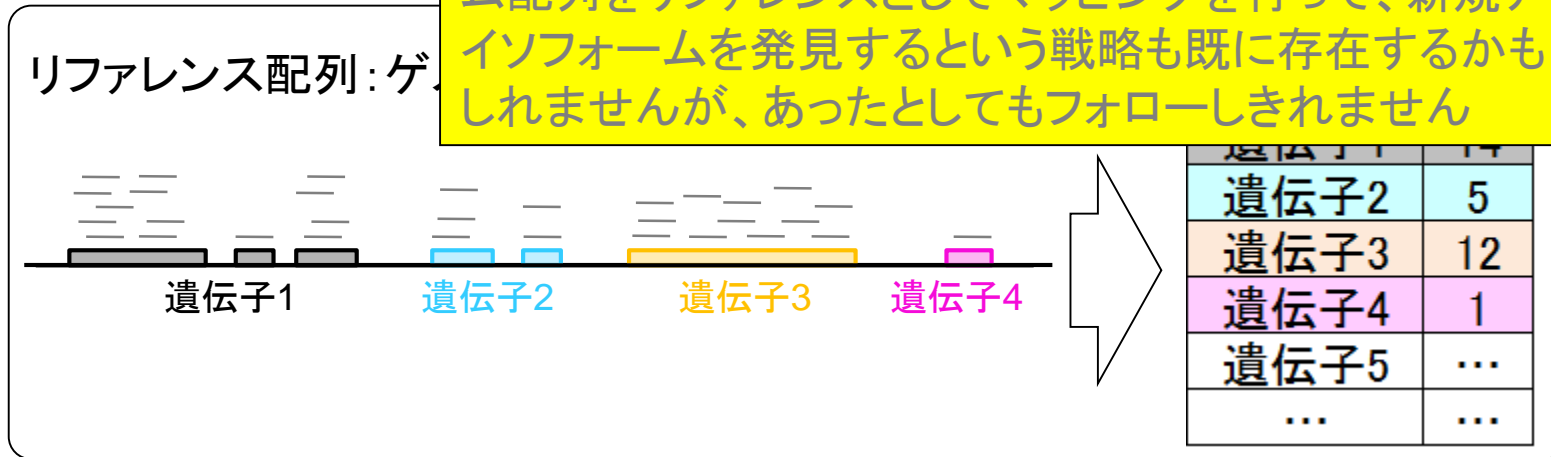
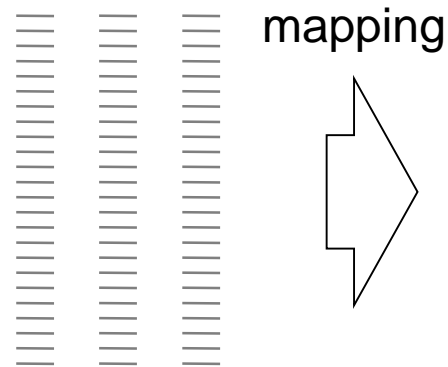


マッピングのイメージ

■ 基本的なマッピングプログラム

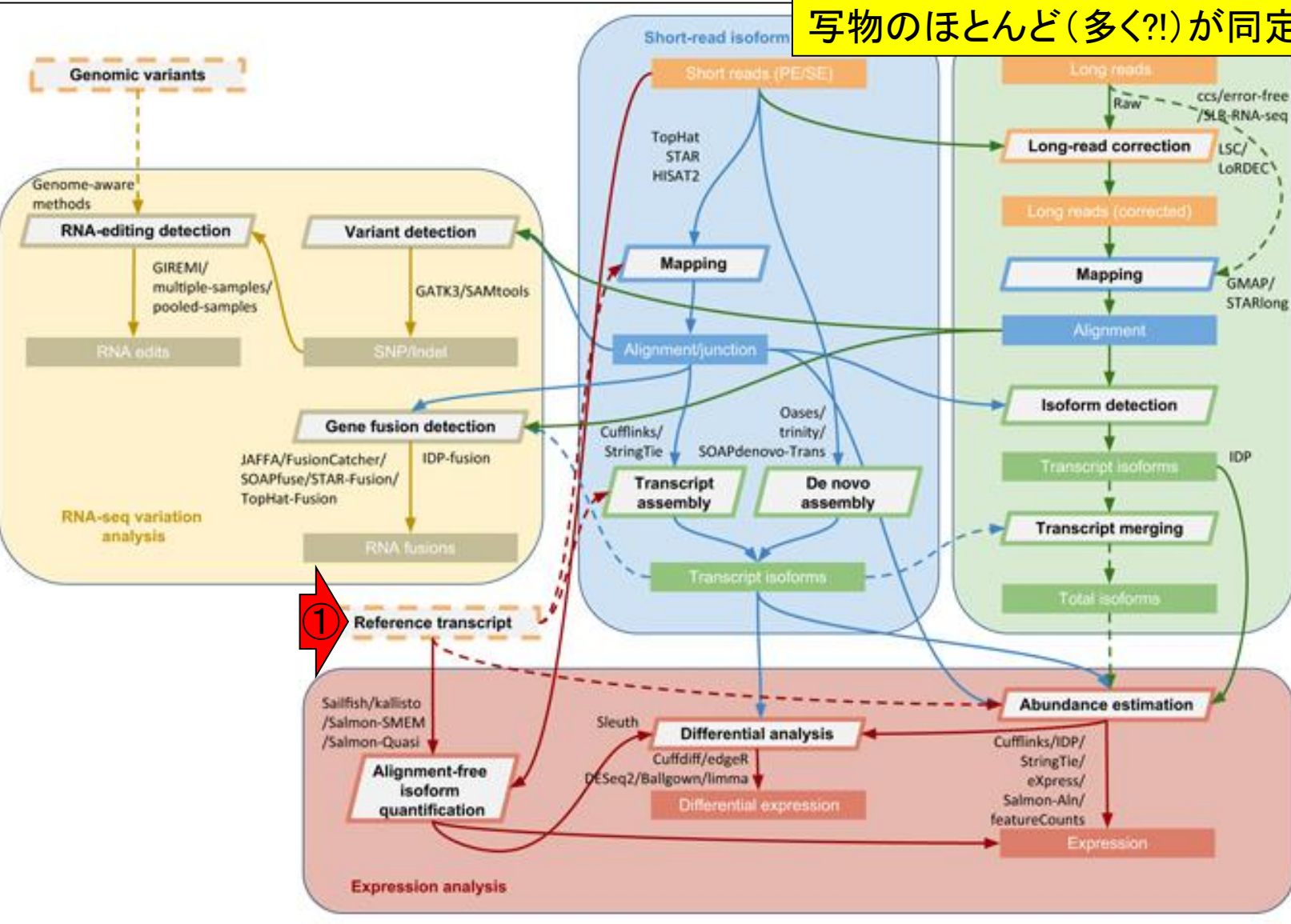
デメリットは、「トランスクリプトーム配列はこれだ！」と決め打ちしているようなものなので、新規転写物探しには向きません。それが目的の場合は、通常はゲノム配列をリファレンスとして用います。トランスクリプトーム配列をリファレンスとしてマッピングを行って、新規アイソフォームを発見するという戦略も既に存在するかもしれませんが、あったとしてもフォローしきれません

あるサンプルの RNA-Seqデータ



RNACocktail論文の

それゆえ、①リファレンスとしてトランスクリプトーム配列を用いるのは、実質的にヒトやマウスの場合に限定されます。様々な臓器や組織で発現する転写物のほとんど(多く?!)が同定されているからです



Sahraeian et al., Nat Commun., 8(1): 59, 2017

Contents

- トランスクリプトーム解析技術の原理や特徴
 - マイクロアレイとRNA-seq
 - 遺伝子 ≠ 転写物
- RNA-seqデータ解析のイメージ
 - マッピング → 新規転写物の同定
- 様々な解析目的
 - ショートリードのIllumina、ロングリードのPacBioとMinION
 - データ解析の全体像 (入出力の関係や代表的なツール)
- アノテーションファイルの読み込みと課題1
 - Rで転写物配列取得のイントロ
- Rで転写物配列取得と課題2
 - アノテーションファイルとゲノム情報ファイルから
- 公共データベース
 - NGS全体 (NCBI SRA, EMBL-EBI ENA, DDBJ SRA)
 - DRAの概要、クオリティスコアなど

公共DB

①の[公共DBから](#)で示しているのは、トランスクリプトームに限らずNGS全体の話。②FASTQ形式ファイルは、データ解析の事実上の出発点

- ・ [イントロ](#) | [一般](#) | [配列取得](#) | [トランスクリプトーム配列](#) | [GenomicFeatures\(Lawrence 2013\)](#) (last modified 2015/02/23)
- ・ [イントロ](#) | [一般](#) | [配列取得](#) | [トランスクリプトーム配列](#) | [biomaRt\(Durinck 2009\)](#) (last modified 2015/02/20)
- ・ [イントロ](#) | [一般](#) | [読み込み](#) | [xlsx形式](#) | [openxlsx](#) (last modified 2015/11/15)
- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [様々なプラットフォーム](#) (last modified 2016/03/24)
- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [qPCRやmicroarrayなどとの比較](#) (last modified 2014/11/12)
- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [可視化\(ゲノムブラウザやViewer\)](#) (last modified 2016/12/22)
- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [配列取得](#) | [FASTQ or SRA](#) | [公共DBから](#) ① (last modified 2015/02/23)
- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [配列取得](#) | [FASTQ or SRA](#) | [SRADB\(Zhu 2015\)](#) (last modified 2015/02/24)
- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [配列取得](#) | [シミュレーションデータ](#) | [について](#) (last modified 2015/01/18)
- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [配列取得](#) | [シミュレーションデータ](#) | [ランダムな塩基配列の生成から](#) (last modified 2015/01/18)
- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [アノテーション情報取得](#) | [について](#) (last modified 2014/03/26)

イントロ | NGS | 配列取得 | FASTQ or SRA | 公共DBから NEW

次世代シーケンサ(NGS)から得られる塩基配列データを公共データベースから取得する際には以下を利用します。マイクロアレイデータ取得のときと同様、NGSデータもArrayExpress経由でダウンロードするのがいいかもしれません。メタデータの全貌を把握しやすいこと、生データ(raw data)だけでなく加工済みのデータ(processed data)がある場合にはその存在がすぐにわかることなど、操作性の点で他を凌駕していると思います。上記でも触れているようにFASTQファイルのダウンロードからマッピングまでを行うのはエンドユーザーレベルでは大変ですが、submitterが提供してくれている場合は(まだまだ少ないようですが)リファレンス配列へのマップ後のデータ、つまりBAM形式ファイルの提供もすでに始まっているようです。2014年6月26日に知りました(DDBJ見玉さんありがとうございますm(_ _)m)。

データの形式は基本的にSanger typeのFASTQ形式です。FASTA形式はリードあたり二行(idの行と配列の行)で表現します。FASTQ形式はリードあたり4行(@から始まるidの行と配列の行、および+から始まるidの行とbase callの際のqualityの行)で表現します。FASTQ形式は、Sangerのものがデファクトスタンダード(業界標準)です。かつてIlluminaのプラットフォームから得られるのはFASTQ-like formatという表現がなされていたようです(Cock et al., Nucleic Acids Res., 2010)。しかし少なくとも2013年頃には、IlluminaデータもBaseSpaceやCASAVA1.8のconfigureBclToFastq.plなどを用いることで業界標準のFASTQ形式(つまりSanger typeのデータ)に切り替えられるようすし、NCBI SRAなどの公共DBから取得するデータは全てはSanger typeのデータになっていたと思います(Kibukawa E., テクニカルサポートウェビナー, 2013)。

- ・ [DDBJ Sequence Read Archive \(DRA\): Kodama et al., Nucleic Acids Res., 2012](#)
- ・ [EMBL-EBI European Nucleotide Archive \(ENA\): Silvester et al., Nucleic Acids Res., 2015](#)
- ・ [NCBI Sequence Read Archive \(SRA\): NCBI Resource Coordinators., Nucleic Acids Res., 2014](#)
- ・ [ArrayExpress: Kolesnikov et al., Nucleic Acids Res., 2015](#)
- ・ [GEO: Barrett et al., Nucleic Acids Res., 2013](#)
- ・ [DBCLS SRA: Nakazato et al., PLoS One, 2013](#)

公共DB

NGSデータの公共DBは、①日本(のDDBJという組織)、②米国(NCBI)、そして欧州(EMBL-EBI)の三極で運用されている

- ・ [イントロ](#) | [一般](#) | [配列取得](#) | [トランスクリプトーム配列](#) | [GenomicFeatures\(Lawrence 2013\)](#) (last modified 2016/02/10)
- ・ [イントロ](#) | [一般](#) | [配列取得](#) | [トランスクリプトーム配列](#) | [biomaRt\(Durinck 2009\)](#) (last modified 2015/02/20)
- ・ [イントロ](#) | [一般](#) | [読み込み](#) | [xlsx形式](#) | [openxlsx](#) (last modified 2015/11/15)
- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [様々なプラットフォーム](#) (last modified 2016/03/24)
- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [qPCRやmicroarrayなどとの比較](#) (last modified 2014/11/12)
- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [可視化\(ゲノムブラウザやViewer\)](#) (last modified 2016/12/22)
- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [配列取得](#) | [FASTQ or SRA](#) | [公共DBから](#) (last modified 2015/02/23)
- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [配列取得](#) | [FASTQ or SRA](#) | [SRADB\(Zhu 2013\)](#) (last modified 2015/02/24)
- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [配列取得](#) | [シミュレーションデータ](#) | [について](#) (last modified 2015/01/18)
- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [配列取得](#) | [シミュレーションデータ](#) | [ランダムな塩基配列の生成から](#) (last modified 2015/01/18)
- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [アノテーション情報取得](#) | [について](#) (last modified 2014/03/26)

イントロ | NGS | 配列取得 | FASTQ or SRA | 公共DBから **NEW**

- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [アノテーション情報取得](#)
- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [アノテーション情報取得](#)
- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [アノテーション情報取得](#)
- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [アノテーション情報取得](#)
- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [アノテーション情報取得](#)
- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [アノテーション情報取得](#)

次世代シーケンサ(NGS)から得られる塩基配列データを公共データベースから取得する際には以下を利用します。マイクロアレイデータ取得のときと同様、NGSデータも [ArrayExpress](#) 経由でダウンロードするのがいいかもしれません。メタデータの全貌を把握しやすいこと、生データ(raw data)だけでなく加工済みのデータ(processed data)がある場合にはその存在がすぐにわかることなど、操作性の点で他を凌駕していると思います。上記でも触れているようにFASTQファイルのダウンロードからマッピングまでを行うのはエンドユーザーレベルでは大変ですが、submitterが提供してくれている場合は(まだまだ少ないようですが)リファレンス配列へのマップ後のデータ、つまりBAM形式ファイルの提供もすでに始まっているようです。2014年6月26日に知りました(DDBJ見玉さんありがとうございますm(_ _)m)。

データの形式は基本的に [Sanger type](#) の FASTQ 形式です。FASTA形式はリードあたり二行(idの行と配列の行)で表現します。FASTQ形式はリードあたり4行(@から始まるidの行と配列の行、および+から始まるidの行とbase callの際のqualityの行)で表現します。FASTQ形式は、Sangerのものがデファクトスタンダード(業界標準)です。かつてIlluminaのプラットフォームから得られるのはFASTQ-like formatという表現がなされていたようです([Cock et al., Nucleic Acids Res., 2010](#))。しかし少なくとも2013年頃には、IlluminaデータもBaseSpaceやCASAVA1.8のconfigureBclToFastq.plなどを用いることで業界標準のFASTQ形式(つまりSanger typeのデータ)に切り替えられるようすし、NCBI SRAなどの公共DBから取得するデータは全てはSanger typeのデータになっていたと思います([Kibukawa E., テクニカルサポートウェビナー, 2013](#))。

- ① [DDBJ Sequence Read Archive \(DRA\): Kodama et al., Nucleic Acids Res., 2012](#)
 - ② [EMBL-EBI European Nucleotide Archive \(ENA\): Eddy et al., Nucleic Acids Res., 2015](#)
 - ③ [NCBI Sequence Read Archive \(SRA\): NCBI Resource Coordinators., Nucleic Acids Res., 2014](#)
- ・ [ArrayExpress: Kolesnikov et al., Nucleic Acids Res., 2015](#)
 - ・ [GEO: Barrett et al., Nucleic Acids Res., 2013](#)
 - ・ [DBCLS SRA: Nakazato et al., PLoS One, 2013](#)

大元はSRA形式ファイル

公共DBにある生データの大元は、① SRAと呼ばれる形式のファイル(拡張子が.sra)。②日、③米、④欧の三極ともに.sraをダウンロード可能

- ・ [イントロ](#) | [一般](#) | [配列取得](#) | [トランスクリプトーム配列](#) | [GenomicFeatures\(Lawrence 2013\)](#) (last modified 2015/02/23)
- ・ [イントロ](#) | [一般](#) | [配列取得](#) | [トランスクリプトーム配列](#) | [biomaRt\(Durinck 2009\)](#) (last modified 2015/02/23)
- ・ [イントロ](#) | [一般](#) | [読み込み](#) | [xlsx形式](#) | [openxlsx](#) (last modified 2015/11/15)
- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [様々なプラットフォーム](#) (last modified 2016/03/24)
- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [qPCRやmicroarrayなどとの比較](#) (last modified 2014/11/12)
- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [可視化\(ゲノムブラウザやViewer\)](#) (last modified 2016/12/22)
- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [配列取得](#) | [FASTQ or SRA](#) | [公共DBから](#) (last modified 2015/02/23)
- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [配列取得](#) | [FASTQ or SRA](#) | [SRADB\(Zhu 2013\)](#) (last modified 2015/02/24)
- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [配列取得](#) | [シミュレーションデータ](#) | [について](#) (last modified 2015/01/18)
- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [配列取得](#) | [シミュレーションデータ](#) | [ランダムな塩基配列の生成から](#) (last modified 2015/01/18)
- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [アノテーション情報取得](#) | [について](#) (last modified 2014/03/26)



イントロ | NGS | 配列取得 | FASTQ or SRA | 公共DBから **NEW**

- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [アノテーション情報取得](#) | [について](#) (last modified 2014/03/26)
- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [アノテーション情報取得](#) | [について](#) (last modified 2014/03/26)
- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [アノテーション情報取得](#) | [について](#) (last modified 2014/03/26)
- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [アノテーション情報取得](#) | [について](#) (last modified 2014/03/26)
- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [アノテーション情報取得](#) | [について](#) (last modified 2014/03/26)
- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [アノテーション情報取得](#) | [について](#) (last modified 2014/03/26)

次世代シーケンサ(NGS)から得られる塩基配列データを公共データベースから取得する際には以下を利用します。マイクロアレイデータ取得のときと同様、NGSデータも [ArrayExpress](#) 経由でダウンロードするのがいいかもしれません。メタデータの全貌を把握しやすいこと、生データ(raw data)だけでなく加工済みのデータ(processed data)がある場合にはその存在がすぐにわかることなど、操作性の点で他を凌駕していると思います。上記でも触れているようにFASTQファイルのダウンロードからマッピングまでを行うのはエンドユーザーレベルでは大変ですが、submitterが提供してくれている場合は(まだまだ少ないようですが)リファレンス配列へのマップ後のデータ、つまりBAM形式ファイルの提供もすでに始まっているようです。2014年6月26日に知りました(DDBJ見玉さんありがとうございますm(_ _)m)。

データの形式は基本的に [Sanger type](#) の FASTQ 形式です。FASTA形式はリードあたり二行(idの行と配列の行)で表現します。FASTQ形式はリードあたり4行(@から始まるidの行と配列の行、および+から始まるidの行とbase callの際のqualityの行)で表現します。FASTQ形式は、Sangerのものがデファクトスタンダード(業界標準)です。かつてIlluminaのプラットフォームから得られるのはFASTQ-like formatという表現がなされていたようです([Cock et al., Nucleic Acids Res., 2010](#))。しかし少なくとも2013年頃には、IlluminaデータもBaseSpaceやCASAVA1.8のconfigureBclToFastq.plなどを用いることで業界標準のFASTQ形式(つまりSanger typeのデータ)に切り替えられるようすし、NCBI SRAなどの公共DBから取得するデータは全てはSanger typeのデータになっていたと思います([Kibukawa E., テクニカルサポートウェビナー, 2013](#))。

- ② [DDBJ Sequence Read Archive \(DRA\): Kodama et al., Nucleic Acids Res., 2012](#)
- ③ [EMBL-EBI European Nucleotide Archive \(ENA\): Ewinger et al., Nucleic Acids Res., 2015](#)
- ④ [NCBI Sequence Read Archive \(SRA\): NCBI Resource Coordinators., Nucleic Acids Res., 2014](#)
- ⑤ [ArrayExpress: Kolesnikov et al., Nucleic Acids Res., 2015](#)
- ⑥ [GEO: Barrett et al., Nucleic Acids Res., 2013](#)
- ⑦ [DBCLS SRA: Nakazato et al., PLoS One, 2013](#)

①FASTQ形式ファイル(拡張子が.fastqまたは.fq)を提供しているのは、②日(DRA)と③欧(ENA)のみ

FASTQファイルは...

- ・ [イントロ](#) | [一般](#) | [配列取得](#) | [トランスクリプトーム配列](#) | [GenomicFeatures\(Lawrence 2013\)](#) (last modified 2016/02/10)
- ・ [イントロ](#) | [一般](#) | [配列取得](#) | [トランスクリプトーム配列](#) | [biomaRt\(Durinck 2009\)](#) (last modified 2015/02/20)
- ・ [イントロ](#) | [一般](#) | [読み込み](#) | [xlsx形式](#) | [openxlsx](#) (last modified 2015/11/15)
- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [様々なプラットフォーム](#) (last modified 2016/03/24)
- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [qPCRやmicroarrayなどとの比較](#) (last modified 2014/11/12)
- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [可視化\(ゲノムブラウザやViewer\)](#) (last modified 2016/12/22)
- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [配列取得](#) | [FASTQ or SRA](#) | [公共DBから](#) (last modified 2015/02/23)
- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [配列取得](#) | [FASTQ or SRA](#) | [SRADB\(Zhu 2013\)](#) (last modified 2015/02/24)
- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [配列取得](#) | [シミュレーションデータ](#) | [について](#) (last modified 2015/01/18)
- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [配列取得](#) | [シミュレーションデータ](#) | [ランダムな塩基配列の生成から](#) (last modified 2015/01/18)
- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [アノテーション情報取得](#) | [について](#) (last modified 2014/03/26)



イントロ | NGS | 配列取得 | FASTQ or SRA | 公共DBから **NEW**

- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [アノテーション情報取得](#)
- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [アノテーション情報取得](#)
- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [アノテーション情報取得](#)
- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [アノテーション情報取得](#)
- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [アノテーション情報取得](#)
- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [アノテーション情報取得](#)

次世代シーケンサ(NGS)から得られる塩基配列データを公共データベースから取得する際には以下を利用します。マイクロアレイデータ取得のときと同様、NGSデータも [ArrayExpress](#) 経由でダウンロードするのがいいかもしれません。メタデータの全貌を把握しやすいこと、生データ(raw data)だけでなく加工済みのデータ(processed data)がある場合にはその存在がすぐにわかることなど、操作性の点で他を凌駕していると思います。上記でも触れているようにFASTQファイルのダウンロードからマッピングまでを行うのはエンドユーザーレベルでは大変ですが、submitterが提供してくれている場合は(まだまだ少ないようですが)リファレンス配列へのマップ後のデータ、つまりBAM形式ファイルの提供もすでに始まっているようです。2014年6月26日に知りました(DDBJ見玉さんありがとうございますm(_ _)m)。

データの形式は基本的に [Sanger type](#) のFASTQ形式です。FASTA形式はリードあたり二行(idの行と配列の行)で表現します。FASTQ形式はリードあたり4行(@から始まるidの行と配列の行、および+から始まるidの行とbase callの際のqualityの行)で表現します。FASTQ形式は、Sangerのものがデファクトスタンダード(業界標準)です。かつてIlluminaのプラットフォームから得られるのはFASTQ-like formatという表現がなされていたようです([Cock et al., Nucleic Acids Res., 2010](#))。しかし少なくとも2013年頃には、IlluminaデータもBaseSpaceやCASAVA1.8のconfigureBclToFastq.plなどを用いることで業界標準のFASTQ形式(つまりSanger typeのデータ)に切り替えられるようすし、NCBI SRAなどの公共DBから取得するデータは全てはSanger typeのデータになっていたと思います([Kibukawa E., テクニカルサポートウェビナー, 2013](#))。

- ② [DDBJ Sequence Read Archive \(DRA\): Kodama et al., Nucleic Acids Res., 2012](#)
- ③ [EMBL-EBI European Nucleotide Archive \(ENA\): Ewinger et al., Nucleic Acids Res., 2015](#)
- ・ [NCBI Sequence Read Archive \(SRA\): NCBI Resource Coordinators., Nucleic Acids Res., 2014](#)
- ・ [ArrayExpress: Kolesnikov et al., Nucleic Acids Res., 2015](#)
- ・ [GEO: Barrett et al., Nucleic Acids Res., 2013](#)
- ・ [DBCLS SRA: Nakazato et al., PLoS One, 2013](#)

.sraから.fastqを作成

①DRAと②ENAは、③大元のSRAファイルを入力として、(Linux上で使えるfastq-dumpというプログラムを実行して)④FASTQファイルを作成し、それを提供しています。それゆえ、SRAファイルは公開済みでも、FASTQファイルの公開が場合によっては数か月後になることもあります(一個人の昔の経験であり、今はどうかは知りません)

- ・ [イントロ](#) | [一般](#) | [配列取得](#) | [トランスクリプトーム配列](#) | [GenomicFeatures\(Lawrence 2013\)](#)(1)
- ・ [イントロ](#) | [一般](#) | [配列取得](#) | [トランスクリプトーム配列](#) | [biomaRt\(Durinck 2009\)](#)(last modified 2015/02/23)
- ・ [イントロ](#) | [一般](#) | [読み込み](#) | [xlsx形式](#) | [openxlsx](#)(last modified 2015/11/15)
- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [様々なプラットフォーム](#)(last modified 2016/03/24)
- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [qPCRやmicroarrayなどとの比較](#)(last modified 2014/11/12)
- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [可視化\(ゲノムブラウザやViewer\)](#)(last modified 2016/12/22)
- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [配列取得](#) | [FASTQ or SRA](#) | [公共DBから](#)(last modified 2015/02/23)
- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [配列取得](#) | [FASTQ or SRA](#) | [SRADB\(Zhu 2013\)](#)(last modified 2015/02/24)
- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [配列取得](#) | [シミュレーションデータ](#) | [について](#)(last modified 2015/01/18)
- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [配列取得](#) | [シミュレーションデータ](#) | [ランダムな塩基配列の生成から](#)(last modified 2015/01/18)
- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [アノテーション情報取得](#) | [について](#)(last modified 2014/03/26)

イントロ | NGS | 配列取得 | FASTQ or SRA | 公共DBから **NEW**

- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [アノテーション情報取得](#)
- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [アノテーション情報取得](#)
- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [アノテーション情報取得](#)
- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [アノテーション情報取得](#)
- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [アノテーション情報取得](#)
- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [アノテーション情報取得](#)

次世代シーケンサ(NGS)から得られる塩基配列データを公共データベースから取得する際には以下を利用します。マイクロアレイデータ取得のときと同様、NGSデータも [ArrayExpress](#) 経由でダウンロードするのがいいかもしれません。メタデータの全貌を把握しやすいこと、生データ(raw data)だけでなく加工済みのデータ(processed data)がある場合にはその存在がすぐにわかることなど、操作性の点で他を凌駕していると思います。上記でも触れているようにFASTQファイルのダウンロードからマッピングまでを行うのはエンドユーザーレベルでは大変ですが、submitterが提供してくれている場合は(まだまだ少ないようですが)リファレンス配列へのマップ後のデータ、つまりBAM形式ファイルの提供もすでに始まっているようです。2014年6月26日に知りました(DDBJ見玉さんありがとうございますm(_ _)m)。

データの形式は基本的に [Sanger type](#)のFASTQ形式です。FASTA形式はリードあたり二行(idの行と配列の行)で表現します。FASTQ形式はリードあたり4行(@から始まるidの行と配列の行、および+から始まるidの行とbase callの際のqualityの行)で表現します。FASTQ形式は、Sangerのものがデファクトスタンダード(業界標準)です。かつてIlluminaのプラットフォームから得られるのはFASTQ-like formatという表現がなされていたようです([Cock et al., Nucleic Acids Res., 2010](#))。しかし少なくとも2013年頃には、IlluminaデータもBaseSpaceやCASAVA1.8のconfigureBclToFastq.plなどを用いることで業界標準のFASTQ形式(つまりSanger typeのデータ)に切り替えられるようすし、NCBI SRAなどの公共DBから取得するデータは全てはSanger typeのデータになっていたと思います([Kibukawa E., テクニカルサポートウェビナー, 2013](#))。

- ① [DDBJ Sequence Read Archive \(DRA\): Kodama et al., Nucleic Acids Res., 2012](#)
- ② [EMBL-EBI European Nucleotide Archive \(ENA\): Ewinger et al., Nucleic Acids Res., 2015](#)
- ・ [NCBI Sequence Read Archive \(SRA\): NCBI Resource Coordinators., Nucleic Acids Res., 2014](#)
- ・ [ArrayExpress: Kolesnikov et al., Nucleic Acids Res., 2015](#)
- ・ [GEO: Barrett et al., Nucleic Acids Res., 2013](#)
- ・ [DBCLS SRA: Nakazato et al., PLoS One, 2013](#)

Contents

- トランスクリプトーム解析技術の原理や特徴
 - マイクロアレイとRNA-seq
 - 遺伝子 ≠ 転写物
- RNA-seqデータ解析のイメージ
 - マッピング → 新規転写物の同定
- 様々な解析目的
 - ショートリードのIllumina、ロングリードのPacBioとMinION
 - データ解析の全体像 (入出力の関係や代表的なツール)
- アノテーションファイルの読み込みと課題1
 - Rで転写物配列取得のイントロ
- Rで転写物配列取得と課題2
 - アノテーションファイルとゲノム情報ファイルから
- 公共データベース
 - NGS全体 (NCBI SRA, EMBL-EBI ENA, DDBJ SRA)
 - DRAの概要、クオリティスコアなど

DRAを概観

①DRAをちょっと眺める。ネットワークの調子が悪い場合は、アクセスできたつもりで講義スライドを眺めていこう

- ・ [イントロ](#) | [一般](#) | [配列取得](#) | [トランスクリプトーム配列](#) | [GenomicFeatures\(Lawrence 2013\)](#) (last modified 2016/02/10)
- ・ [イントロ](#) | [一般](#) | [配列取得](#) | [トランスクリプトーム配列](#) | [biomaRt\(Durinck 2009\)](#) (last modified 2015/02/20)
- ・ [イントロ](#) | [一般](#) | [読み込み](#) | [xlsx形式](#) | [openxlsx](#) (last modified 2015/11/15)
- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [様々なプラットフォーム](#) (last modified 2016/03/24)
- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [qPCRやmicroarrayなどとの比較](#) (last modified 2014/11/12)
- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [可視化\(ゲノムブラウザやViewer\)](#) (last modified 2016/12/22)
- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [配列取得](#) | [FASTQ or SRA](#) | [公共DBから](#) (last modified 2015/02/23)
- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [配列取得](#) | [FASTQ or SRA](#) | [SRADB\(Zhu 2013\)](#) (last modified 2015/02/24)
- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [配列取得](#) | [シミュレーションデータ](#) | [について](#) (last modified 2015/01/18)
- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [配列取得](#) | [シミュレーションデータ](#) | [ランダムな塩基配列の生成から](#) (last modified 2015/01/18)
- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [アノテーション情報取得](#) | [について](#) (last modified 2014/03/26)

- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [アノテーション情報取得](#)
- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [アノテーション情報取得](#)
- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [アノテーション情報取得](#)
- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [アノテーション情報取得](#)
- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [アノテーション情報取得](#)
- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [アノテーション情報取得](#)

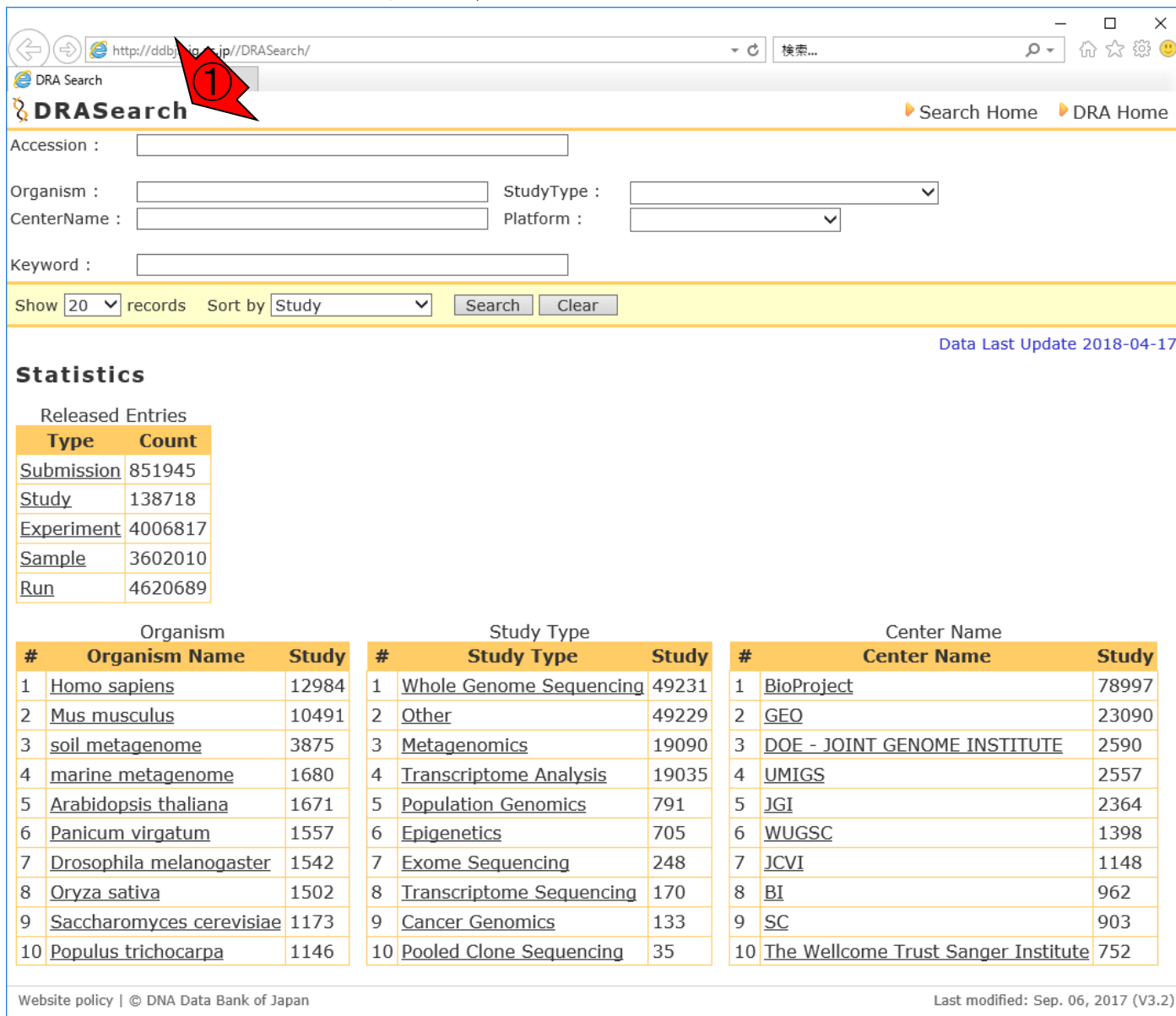
イントロ | NGS | 配列取得 | FASTQ or SRA | 公共DBから **NEW**

次世代シーケンサ(NGS)から得られる塩基配列データを公共データベースから取得する際には以下を利用します。マイクロアレイデータ取得のときと同様、NGSデータも [ArrayExpress](#) 経由でダウンロードするのがいいかもしれません。メタデータの全貌を把握しやすいこと、生データ(raw data)だけでなく加工済みのデータ(processed data)がある場合にはその存在がすぐにわかることなど、操作性の点で他を凌駕していると思います。上記でも触れているようにFASTQファイルのダウンロードからマッピングまでを行うのはエンドユーザーレベルでは大変ですが、submitterが提供してくれている場合は(まだまだ少ないようですが)リファレンス配列へのマップ後のデータ、つまりBAM形式ファイルの提供もすでに始まっているようです。2014年6月26日に知りました(DDBJ見玉さんありがとうございますm(_ _)m)。

データの形式は基本的に [Sanger type](#) の FASTQ 形式です。FASTA形式はリードあたり二行(idの行と配列の行)で表現します。FASTQ形式はリードあたり4行(@から始まるidの行と配列の行、および+から始まるidの行とbase callの際のqualityの行)で表現します。FASTQ形式は、Sangerのものがデファクトスタンダード(業界標準)です。かつてIlluminaのプラットフォームから得られるのはFASTQ-like formatという表現がなされていたようです([Cock et al., Nucleic Acids Res., 2010](#))。しかし少なくとも2013年頃には、IlluminaデータもBaseSpaceやCASAVA1.8のconfigureBclToFastq.plなどを用いることで業界標準のFASTQ形式(つまりSanger typeのデータ)に切り替えられるようすし、NCBI SRAなどの公共DBから取得するデータは全てはSanger typeのデータになっていたと思います([Kibukawa E., テクニカルサポートウェビナー, 2013](#))。

- 1 [DDBJ Sequence Read Archive \(DRA\): Kodama et al., Nucleic Acids Res., 2012](#)
- [EMBL-EBI European Nucleotide Archive \(ENA\): Silvester et al., Nucleic Acids Res., 2015](#)
 - ・ [NCBI Sequence Read Archive \(SRA\): NCBI Resource Coordinators., Nucleic Acids Res., 2014](#)
 - ・ [ArrayExpress: Kolesnikov et al., Nucleic Acids Res., 2015](#)
 - ・ [GEO: Barrett et al., Nucleic Acids Res., 2013](#)
 - ・ [DBCLS SRA: Nakazato et al., PLoS One, 2013](#)

DRAを概観



Accession :

Organism : StudyType :

CenterName : Platform :

Keyword :

Show records Sort by

Data Last Update 2018-04-17

Statistics

Released Entries

Type	Count
Submission	851945
Study	138718
Experiment	4006817
Sample	3602010
Run	4620689

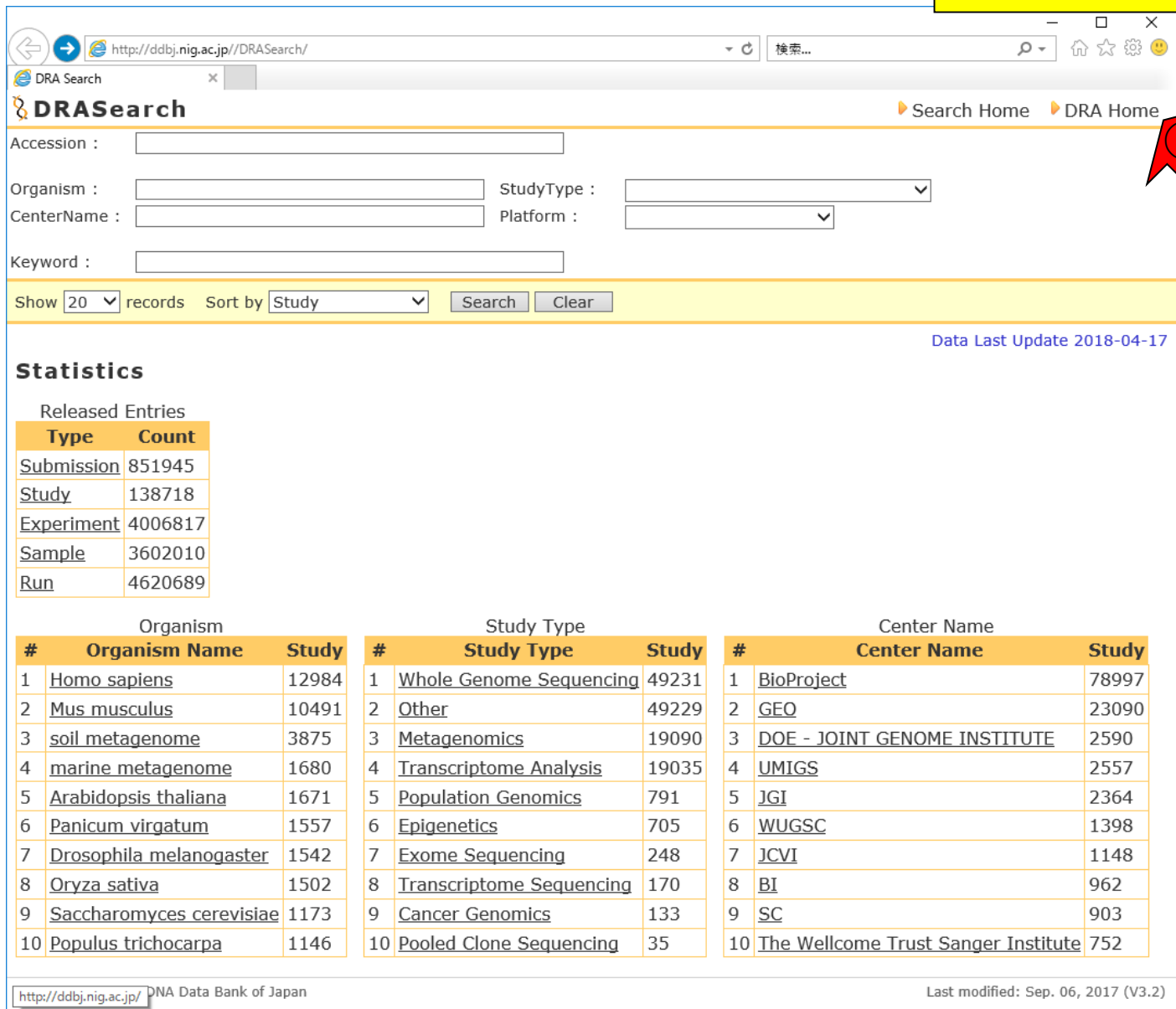
Organism			Study Type			Center Name		
#	Organism Name	Study	#	Study Type	Study	#	Center Name	Study
1	Homo sapiens	12984	1	Whole Genome Sequencing	49231	1	BioProject	78997
2	Mus musculus	10491	2	Other	49229	2	GEO	23090
3	soil metagenome	3875	3	Metagenomics	19090	3	DOE - JOINT GENOME INSTITUTE	2590
4	marine metagenome	1680	4	Transcriptome Analysis	19035	4	UMIGS	2557
5	Arabidopsis thaliana	1671	5	Population Genomics	791	5	JGI	2364
6	Panicum virgatum	1557	6	Epigenetics	705	6	WUGSC	1398
7	Drosophila melanogaster	1542	7	Exome Sequencing	248	7	JCVI	1148
8	Oryza sativa	1502	8	Transcriptome Sequencing	170	8	BI	962
9	Saccharomyces cerevisiae	1173	9	Cancer Genomics	133	9	SC	903
10	Populus trichocarpa	1146	10	Pooled Clone Sequencing	35	10	The Wellcome Trust Sanger Institute	752

Website policy | © DNA Data Bank of Japan

Last modified: Sep. 06, 2017 (V3.2)

DRAを概観

①以前はDRA単体のトップページがありましたが、①のリンク先がDDBJ本体のトップページに飛ぶように最近?!切り替わったようです



http://ddbj.nig.ac.jp//DRASearch/

DRASearch Search Home DRA Home

Accession :

Organism : StudyType :

CenterName : Platform :

Keyword :

Show 20 records Sort by Study Search Clear

Data Last Update 2018-04-17

Statistics

Released Entries

Type	Count
Submission	851945
Study	138718
Experiment	4006817
Sample	3602010
Run	4620689

Organism			Study Type			Center Name		
#	Organism Name	Study	#	Study Type	Study	#	Center Name	Study
1	Homo sapiens	12984	1	Whole Genome Sequencing	49231	1	BioProject	78997
2	Mus musculus	10491	2	Other	49229	2	GEO	23090
3	soil metagenome	3875	3	Metagenomics	19090	3	DOE - JOINT GENOME INSTITUTE	2590
4	marine metagenome	1680	4	Transcriptome Analysis	19035	4	UMIGS	2557
5	Arabidopsis thaliana	1671	5	Population Genomics	791	5	JGI	2364
6	Panicum virgatum	1557	6	Epigenetics	705	6	WUGSC	1398
7	Drosophila melanogaster	1542	7	Exome Sequencing	248	7	JCVI	1148
8	Oryza sativa	1502	8	Transcriptome Sequencing	170	8	BI	962
9	Saccharomyces cerevisiae	1173	9	Cancer Genomics	133	9	SC	903
10	Populus trichocarpa	1146	10	Pooled Clone Sequencing	35	10	The Wellcome Trust Sanger Institute	752

http://ddbj.nig.ac.jp/ DNA Data Bank of Japan Last modified: Sep. 06, 2017 (V3.2)

①生物種 (Organism) での分類。②ヒトやマウスのデータが圧倒的に多いのが分かります

Organismでの分類

DRASearch

Accession :

Organism : StudyType :

CenterName : Platform :

Keyword :

Show records Sort by

Data Last Update 2018-04-17

Statistics

Released Entries

Type	Count
Submission	851945
Study	138718
Experiment	4006817
Sample	3602010
Run	10000000

①

Organism			Study Type			Center Name		
#	Organism Name	Study	#	Study Type	Study	#	Center Name	Study
1	Homo sapiens	12984	1	Whole Genome Sequencing	49231	1	BioProject	78997
2	Mus musculus	10491	2	RNA-Seq	49229	2	GEO	23090
3	soil metagenome	3875	3	Metagenomics	19090	3	DOE - JOINT GENOME INSTITUTE	2590
4	marine metagenome	1680	4	Transcriptome Analysis	19035	4	UMIGS	2557
5	Arabidopsis thaliana	1671	5	Population Genomics	791	5	JGI	2364
6	Panicum virgatum	1557	6	Epigenetics	705	6	WUGSC	1398
7	Drosophila melanogaster	1542	7	Exome Sequencing	248	7	JCVI	1148
8	Oryza sativa	1502	8	Transcriptome Sequencing	170	8	BI	962
9	Saccharomyces cerevisiae	1173	9	Cancer Genomics	133	9	SC	903
10	Populus trichocarpa	1146	10	Pooled Clone Sequencing	35	10	The Wellcome Trust Sanger Institute	752

②

<http://ddbj.nig.ac.jp/> DNA Data Bank of Japan

Last modified: Sep. 06, 2017 (V3.2)

Study Typeでの分類

①Study Typeでの分類。②最も多いのはゲノム配列決定、③トランスクリプトーム解析もそれなりにやられていることがわかります。③をクリック

http://ddbj.nig.ac.jp/DRASearch/

DRASearch Search Home DRA Home

Accession :

Organism : StudyType :

CenterName : Platform :

Keyword :

Show 20 records Sort by Study Search Clear

Data Last Update 2018-04-17

Statistics

Released Entries

Type	Count
Submission	851945
Study	138718
Experiment	4006817
Sample	3602010
Run	4620689

Organism			Study Type			Center Name		
#	Organism Name	Study	#	Study Type	Study	#	Center Name	Study
1	Homo sapiens	12984	1	Whole Genome Sequencing	49231	1	BioProject	78997
2	Mus musculus	10491	2	Other	49229	2	GEO	23090
3	soil metagenome	3875	3	Metagenomics	19090	3	DOE - JOINT GENOME INSTITUTE	2590
4	marine metagenome	1680	4	Transcriptome Analysis	19035	4	UMIGS	2557
5	Arabidopsis thaliana	1671	5	Population Genomics	791	5	JGI	2364
6	Panicum virgatum	1557	6	Epigenetics	705	6	WUGSC	1398
7	Drosophila melanogaster	1542	7	Exome Sequencing	248	7	JCVI	1148
8	Oryza sativa	1502	8	Transcriptome Sequencing	170	8	BI	962
9	Saccharomyces cerevisiae	1173	9	Cancer Genomics	133	9	SC	903
10	Populus trichocarpa	1146	10	Pooled Clone Sequencing	35	10	The Wellcome Trust Sanger Institute	752

http://ddbj.nig.ac.jp/ DNA Data Bank of Japan Last modified: Sep. 06, 2017 (V3.2)



Transcriptome Analysis

①がTranscriptome Analysisになりました。②DDBJへの登録日順(古→新)になっていることがわかります。必然的に、③IDのシリアル番号も一桁台の数字が見られます。例えば④のDRA000011をクリック

http://ddbj.nig.ac.jp//DRASearch/query?study_type=Transcriptome Analysis

Result List - DRA Search

DRASearch Search Home DRA H

Accession :

Organism : StudyType : **Transcriptome Analysis** ①

CenterName : Platform :

Keyword :

Show 20 records Sort by Study Search Clear

Search results (1 studies) ③ ③ ① ②

#	STUDY	SUBMISSION	STUDY_TITLE	STUDY_TYPE	ORGANISM	BASES	SUBMITTED	CENTER_NAME
1	DRP000003	DRA000003	Comprehensive identification and characterization of the nucleosome structure	Transcriptome Analysis	Homo sapiens	7.5G	2009-07-02	UT-MGS
2	DRP000004	DRA000004	Comprehensive identification and characterization of the transcripts, their expression levels and sub-cellular localizations	Transcriptome Analysis	Homo sapiens	2G	2009-07-02	UT-MGS
3	DRP000005	DRA000005	Comprehensive identification and characterization of the transcripts, their expression levels and sub-cellular localizations	Transcriptome Analysis	Homo sapiens	1.7G	2009-07-02	UT-MGS
4	DRP000006	DRA000006	Comprehensive identification and characterization of the transcripts, their expression levels and sub-cellular localizations	Transcriptome Analysis	Homo sapiens	1.7G	2009-07-02	UT-MGS
5	DRP000007	DRA000007	Comprehensive identification and characterization of the binding sites of polymerase II	Transcriptome Analysis	Homo sapiens	1.7G	2009-07-02	UT-MGS
6	DRP000008	DRA000008	Comprehensive identification and characterization of the binding sites of polymerase II	Transcriptome Analysis	Homo sapiens	1.6G	2009-07-02	UT-MGS
7	DRP000011	DRA000011	Comprehensive analysis of cytoplasmic mRNAs in HT29 cell.	Transcriptome Analysis	Homo sapiens	167.5M	2009-08-17	UT-MGS
8	DRP000012	DRA000012	Comprehensive analysis of cytoplasmic mRNAs in HT29 cell at 4hr after treatment with tunicamycin.	Transcriptome Analysis	Homo sapiens	173.7M	2009-08-17	UT-MGS
9	DRP000013	DRA000013	Comprehensive analysis of cytoplasmic mRNAs in HT29 cell at 16hr after treatment with tunicamycin.	Transcriptome Analysis	Homo sapiens	179.9M	2009-08-17	UT-MGS
10	DRP000014	DRA000014	Comprehensive analysis of polysomal mRNAs in HT29 cell.	Transcriptome Analysis	Homo sapiens	182.8M	2009-08-17	UT-MGS
11	DRP000015	DRA000015	Comprehensive analysis of polysomal mRNAs in HT29 cell at 4hr after treatment with tunicamycin.	Transcriptome Analysis	Homo sapiens	180M	2009-08-17	UT-MGS
12	DRP000016	DRA000016	Comprehensive analysis of polysomal mRNAs in HT29 cell at 16hr after treatment with	Transcriptome Analysis	Homo sapiens	147.3M	2009-08-17	UT-MGS

DRA000011

①DRA...は、②Submission ID。データ登録時に付与されるもので③、データ登録者に関する情報が含まれる

Result List - DRA Search | DRA000011 - DRA Search

DRASearch Search Home DRA Home

DRA000011

Submission Detail	
Alias	DRA000011
Submission ID	DRA000011
Submission Date	2009-08-17
Center Name	UT-MGS
Lab Name	Laboratory of Functional Genomics, Department of Medical Genome Sciences, Graduate School of Frontier Sciences, The University of Tokyo

Navigation	
Study	DRP000011
Experiment	DRX000011 FASTQ SRA
Sample	DRS000011
Run	DRR000031 FASTQ SRA

Website policy | © DNA Data Bank of Japan

DRP000011

①DRP...はStudy ID。この研究に関する情報であり...①のリンク先を次のスライドで示す

DRASearch Search Home DRA Home

DRA000011 FTP

Submission Detail	
Alias	DRA000011
Submission ID	
Submission Date	2009-08-17
Center Name	UT-MGS
Lab Name	Laboratory of Functional Genomics, Department of Medical Genome Sciences, Graduate School of Frontier Sciences, The University of Tokyo

Navigation	
Study	DRP000011
Experiment	DRX000011 FASTQ SRA
Sample	DRS000011
Run	DRR000031 FASTQ SRA

Navigation

Study	DRP000011
Experiment	DRX000011 FASTQ SRA
Sample	DRS000011
Run	DRR000031 FASTQ SRA

DRP000011

DRASearch

DRP000011

Study Detail	
Title	Comprehensive analysis of cytoplasmic mRNAs in HT29 cell.
Study Type	Transcriptome Analysis
Abstract	Expression profile in HT29 cell exposed to ER stress was attempted. We used shotgun sequencing method, in which next gene sequencing technology and polysome analysis were combined.
Description	We analyzed the mRNA profile in cytoplasm and in polysome during the endoplasmic reticulum (ER) stress using second generation sequencers. We compared three time points (0 hr/untreatment control, 4 hr and 16 hr after treatment with 2 ??g/mL ER stress inducible agent Tunicamycin (Tm)). This is the first time mRNA in ???polysome??? is analyzed using the next generation sequencers and compared with that of cytoplasm. [less]
Center Name	UT-MGS
Related Study	
bioproject	PRJDA34559

Navigation

- Submission [DRA000011](#) [FTP](#)
- Experiment [DRX000011](#) [FASTQ](#) [SRA](#)

Website policy | © DNA Data Bank of Japan

Navigation

- Study [DRP000011](#)
- Experiment [DRX000011](#) [FASTQ](#) [SRA](#)
- Sample [DRS000011](#)
- Run [DRR000031](#) [FASTQ](#) [SRA](#)

DRX000011

①DRX...はExperiment ID。実験情報が記載されており、②ヒトのデータであり、③cDNAであり、④single-endデータである (paired-endではない) ことがわかります

DRASearch

DRX000011 - DRA Search

DRX000011 STQ SRA

Experiment Detail	
Title	HT29_Cytoplasm_Control
Design Description	none provided
Organism	Homo sapiens
Library Description	
Name	HT29_Cytoplasm_Control
Strategy	FL-cDNA
Source	TRANSCRIPTOMIC
Selection	cDNA
Layout	SINGLE
Construction Protocol	none provided
Platform	
Platform	ILLUMINA
Instrument Model	Illumina Genome Analyzer
Processing	
PipeSection	
Step Index	1
Prev Step Index	NIL
Program	Solexa primary analysis
Version	
Spot Information	
Number of Reads per Spots	0
Spot Length	36
Read Spec	
Read Index 0	

Navigation	
Submission	DRA000011 FTP
Study	DRP000011
Sample	DRS000011
Run	DRR000031 FASTQ SRA

Navigation	
Study	DRP000011
Experiment	DRX000011 FASTQ SRA
Sample	DRS000011
Run	DRR000031 FASTQ SRA

DRX000011

①プラットフォーム情報(②どのメーカーの、③どのNGS機器で取得されたか)、④どのような処理手順(プロトコル)で行われたのか、⑤リード長はどれくらいか、などの情報が含まれる

DRASearch

DRX000011 FASTQ SRA

Experiment Detail	
Title	HT29_Cytoplasm_Control
Design Description	none provided
Organism	Homo sapiens
Library Description	
Name	HT29_Cytoplasm_Control
Strategy	FL-cDNA
Source	TRANSCRIPTOMIC
Selection	cDNA
Layout	SINGLE
Construction Protocol	none provided
Platform	
Platform	ILLUMINA
Instrument Model	Illumina Genome Analyzer
Processing	
PipeSection	
Step Index	1
Prev Step Index	NIL
Program	Solexa primary analysis
Version	
Spot Information	
Number of Reads per Spots	0
Spot Length	36
Read Spec	
Read Index 0	

Navigation	
Submission	DRA000011 FTP
Study	DRP000011
Sample	DRS000011
Run	DRR000031 FASTQ SRA

Navigation	
Study	DRP000011
Experiment	DRX000011 FASTQ SRA
Sample	DRS000011
Run	DRR000031 FASTQ SRA

DRX000011

ちなみに、①Genome Analyzerという機種はNGS機器の中でも相当古いものであり、データ登録時の2009年頃はまだ使われていた。NGSが出始めの頃は、②36塩基程度しか読めなかった。それが、ショートリードと評されていた所以です

DRX000011 - DRA Search

DRASearch

DRX000011 FASTQ SRA

Experiment Detail	
Title	HT29_Cytoplasm_Control
Design Description	none provided
Organism	Homo sapiens

Library Description	
Name	HT29_Cytoplasm_Control
Strategy	FL-cDNA
Source	TRANSCRIPTOMIC
Selection	cDNA
Layout	SINGLE
Construction Protocol	none provided

Platform	
Platform	ILLUMINA
Instrument Model	Illumina Genome Analyzer ①

Processing	
PipeSection	
Step Index	1
Prev Step Index	NIL
Program	Solexa primary analysis
Version	

Spot Information	
Number of Reads per Spots	0
Spot Length	36 ②

Read Spec	
Read Index 0	

Navigation	
Submission	DRA000011 FTP
Study	DRP000011
Sample	DRS000011
Run	DRR000031 FASTQ SRA

Navigation	
Study	DRP000011
Experiment	DRX000011 FASTQ SRA
Sample	DRS000011
Run	DRR000031 FASTQ SRA

DRS000011

①DRS...はSample ID。このデータの場合は、情報量が少ないですね。②のリンク先にいけばわかりますが、ヒトのサンプルだということしかわかりません

DRS000011 - DRA Search

DRASearch Search Home DRA Home

DRS000011

Sample Detail	
Title	DRS000011
Description	none provided
Organism Info	
Taxon ID	9606
Common Name	
Scientific Name	Homo sapiens
Anonymized Name	
Individual Name	

Navigation	
Submission	DRA000011
Study	DRP000011
Experiment	DRX000011



Navigation

Study	DRP000011
Experiment	DRX000011
Sample	DRS000011
Run	DRR000031



DRR000031

NGSの場合は、実験の単位をラン(Run)といいます。これはNGS分野で大きなシェアを占めるIllumina(によって買収されたSolexa社)のプロトコルの言い回しが最初だったと思います。同じサンプルでもランごとに独立のIDが付与されます

DRASearch

DRR000031 FASTQ SRA

Run Detail	
Alias	DRR000031
Instrument model	
Date of run	2008-04-01
Run center	UT-MGS
Number of spots	4,653,053
Number of bases	167,509,908

READS (joined) quality show 10 rows << < 1 / 465306 Page > >>

```

>DRR000031.1
TTTAAAAGATAATGTCATCACAACGCAACATATAGA
>DRR000031.2
TGTAATGATTATGATTCTCAGGGATTGGGAAAGGT
>DRR000031.3
TCAAAAATACGGAAGTTAGGGTGACAAAGTTTGACA
>DRR000031.4
TGAGGTGGGAGTTTTAGCTAGCTTTGTTGGGTGT
>DRR000031.5
TTCAGGAAGCTGGTGATGGAGCACCAGAGGGTGGT
>DRR000031.6
TTTTTTTAAAATAGCACTTTAAATATTTATTTTTT
>DRR000031.7
GGAGGGTAAATCTGAGGCAGTATACTAAGTTAAGG
>DRR000031.8
TTATCATCTTCACAATCTAATNNNACTGACTATCC
>DRR000031.9
TTTTAAATGTAATTTTTTATTGGAAAACAATAT
>DRR000031.10
TGGTAACAGCCTGATGGGTTATTTGACTGCACTAAG
    
```

Navigation

- Submission [DRA000011](#) FTP
- Study [DRP000011](#)
- Experiment [DRX000011](#) FASTQ SRA

Navigation

- Study [DRP000011](#)
- Experiment [DRX000011](#) FASTQ SRA
- Sample [DRS000011](#)
- Run [DRR000031](#) FASTQ SRA

①

DRR000031

①これがリードの実体。②DRR000031の場合は、総リード数が③4,653,053個あることがわかる(約465万リード)。リード長は36 bpなので、総塩基数が $4,653,053 \times 36 = 167,509,908$ bpとなる。④のNumber of basesと完全に一致

DRR000031 - DRA Search

DRASearch Search Home

DRR000031 FASTQ SRA

Run Detail	
Alias	DRR000031
Instrument model	
Date of run	2008-04
Run center	UT-MGS
Number of spots	4,653,053
Number of bases	167,509,908

Navigation

- Submission [DRA000011](#) FTP
- Study [DRP000011](#)
- Experiment [DRX000011](#) FASTQ SRA

READS (joined) quality filter 10 rows 1 / 465306 Page

```

>DRR000031.1
TTTAAAAGATAATGTCATCACAACGCAACATATAGA
>DRR000031.2
TGTAATGATTATGATTCTCAGGGATTGGGAAAGGT
>DRR000031.3
TCAAAAAATACGAAAGTTAGGGTGACAAAGTTTGACA
>DRR000031.4
TGAGGTGGGAGTTTTAGCTAGCTTTGTTGGGTGT
>DRR000031.5
TTCAGGAAGCTGGTGATGGAGCACCAGAGGGTGGT
>DRR000031.6
TTTTTTTAAAATAGCACTTTAAATATTTATTTTTTT
>DRR000031.7
GGAGGGTTAATCTGAGGCAGTATACTAACTTAAGG
>DRR000031.8
TTATCATCTTCACAATTCTAATNNNACTGACTATCC
>DRR000031.9
TTTTAAATGTAATTTTTTATTGGAAAACAAATAT
>DRR000031.10
TGGTAACAGCCTGATGGGTTATTTGACTGCACTAAG
    
```

Website policy | © DNA Data Bank of Japan

Navigation

- Study [DRP000011](#)
- Experiment [DRX000011](#) FASTQ SRA
- Sample [DRS000011](#)
- Run [DRR000031](#) FASTQ SRA



クオリティ情報

①qualityのところをチェックをいれると、クオリティスコア情報も表示される。ベースコールとは、A,C,G,Tからなる4文字の塩基のうち、どれか1つを選択すること。クオリティスコアは、そのベースコール結果がどれだけ確からしいかをスコア化したものであり、高いほどよい

DRR000031 - DRA Search

DRR000031 FASTQ SRA

Run Detail	
Alias	DRR000031
Instrument model	
Date of run	2008-04-01
Run center	UT-MGS
Number of spots	4,653,053
Number of bases	167,509,968

Navigation

- Submission [DRA000011](#) FTP
- Study [DRP000011](#)
- Experiment [DRX000011](#) FASTQ SRA

READS (joined) quality show 10 rows << < 1 / 465306 Page >>

```

>DRR000031.1
TTTAAAAGATAATGTCATCAACGCAACATATAGA
40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40
40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40

>DRR000031.2
TGTAATGATTATGATTCTCAGGGATTGGGAAAGGT
40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40
40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40

>DRR000031.3
TCAAAAAATACGAAGTTAGGGTGACAAAGTTTGACA
40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40
40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40

>DRR000031.4
TGAGGTGGGAGTTTGTAGCTAGCTTTGTTGGGTGT
40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 24 40 40 40 40 13 40 40
40 6 40 40 40 40 22 40 40 40 40 5 40 35 40 40

>DRR000031.5
TTCAGGAAGCTGGTGATGGAGCACCAGAGGGTGGT
40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40
40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40

>DRR000031.6
TTTTTTTAAAATAGCACTTTAAATATTTATTTTTT
40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 17 40 10 40 5 27 23 36 40
40 40 12 26 40 40 40 5 17 27 40 40 40 40 40 40
    
```

Navigation

- Study [DRP000011](#)
- Experiment [DRX000011](#) FASTQ SRA
- Sample [DRS000011](#)
- Run [DRR000031](#) FASTQ SRA



クオリティ情報

例えば、①一番最初のリード(リードIDがDRR000031.1)の②最後の塩基のクオリティスコアは、③40と読み解きます

DRASearch Search Home DRA Home

DRR000031 FASTQ SRA

Run Detail	
Alias	DRR000031
Instrument model	
Date of run	2008-04-01
Run center	UT-MGS
Number of spots	4,653,053
Number of bases	167,509,908

Navigation

- Submission DRA000011 FTP
- Study DRP000011
- Experiment DRX000011 FASTQ SR

READS (joined) quality show 10 rows << < 1 / 465306 Page >>

```
>DRR000031.1
TTTAAAAGATAATGTCATCACAACGCAACATATAGA
40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40
40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40

>DRR000031.2
TGTAATGATTATGATTCACAGGGATTGGGGAAAGGT
40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40
40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40

>DRR000031.3
TCAAAAAATACGAAGTTAGGGTGACAAAGTTTGACA
40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40
40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40

>DRR000031.4
TGAGGTGGGAGTTTTAGCTAGCTTTGTTGGGGTGT
40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 24 40 40 40 40 13 40 40
40 6 40 40 40 40 22 40 40 40 40 5 40 35 40 40

>DRR000031.5
TTCAGGAAGCTGGTGATGGAGCACCAGAGGGTGGT
40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40
40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40

>DRR000031.6
TTTTTTTAAAATAGCACTTTAAATATTTATTTTTT
40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 17 40 10 40 5 27 23 36 40
40 40 12 26 40 40 40 5 17 27 40 40 40 40 40 40 40

>DRR000031.7
```

クオリティ情報

また、①4番目のリード(DRR000031.4)の、②右から5番目の塩基のクオリティスコアは、③5と読み解きます

DRASearch

DRR000031 FASTQ SRA

Run Detail	
Alias	DRR000031
Instrument model	
Date of run	2008-04-01
Run center	UT-MGS
Number of spots	4,653,053
Number of bases	167,509,908

Navigation

- Submission DRA000011 FTP
- Study DRP000011
- Experiment DRX000011 FASTQ SR

READS (joined) quality show 10 rows << < 1 / 465306 Page >>

```

>DRR000031.1
TTTAAAAGATAATGTCATCACAACGCAACATATAGA
40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40
40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40

>DRR000031.2
TGTAATGATTATGATTCTCAGGGATTGGGAAAGGT
40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40
40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40

>DRR000031.3
TCAAAAAATACGAAGTTAGGTTGACAAAGTTTGACA
40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40
40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40

>DRR000031.4
TGAGGTGGGAGTTTTAGCTAGCTTTGTTGTGGGTGT
40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 24 40 40 40 40 13 40 40
40 6 40 40 40 40 22 40 40 40 40 5 40 35 40 40

>DRR000031.5
TTCAGGAAGCTGGTGATGGAGCACCAGAGGGTGGT
40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40
40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40

>DRR000031.6
TTTTTTTAAAATAGCACTTTAAATATTTATTTTTT
40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 17 40 10 40 5 27 23 36 40
40 40 12 26 40 40 40 5 17 27 40 40 40 40 40 40

>DRR000031.7

```

①

②

③

ベースコールエラー率

クオリティスコア q の閾値は、20や30が目安。
 。 $q = 20$ はベースコール結果が間違っている確率 (エラー率 p) が1%という意味である。
 また、 $q = 30$ は $p = 0.1\%$ に相当する

http://ddbj.nig.ac.jp//DRASearch/run?acc=DRR000031 検索...

DRR000031 - DRA Search

DRASearch Search Home DRA Home

DRR000031 FASTQ SRA

Run Detail	
Alias	DRR000031
Instrument model	
Date of run	2008-04-01
Run center	UT-MGS
Number of spots	4,653,053
Number of bases	167,509,908

Navigation

- Submission DRA000011 FTP
- Study DRP000011
- Experiment DRX000011 FASTQ SR

READS (joined) quality show 10 rows << < 1 / 465306 Page >>

```
>DRR000031.1
TTTAAAAGATAATGTCATCACAACGCAACATATAGA
40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40
40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40

>DRR000031.2
TGTAATGATTATGATTCTCAGGGATTGGGAAAGGT
40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40
40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40

>DRR000031.3
TCAAAAAATACGAAGTTAGGGTGACAAAGTTTGACA
40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40
40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40

>DRR000031.4
TGAGGTGGGAGTTTTAGCTAGCTTTGTTGTGGGTGT
40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 24 40 40 40 40 40 13 40 40
40 6 40 40 40 40 22 40 40 40 40 5 40 35 40 40

>DRR000031.5
TTCAGGAAGCTGGTGATGGAGCACCAGAGGGTGGT
40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40
40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40

>DRR000031.6
TTTTTTTAAAATAGCACTTTAAATATTTATTTTTT
40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 17 40 10 40 5 27 23 36 40
40 40 12 26 40 40 40 5 17 27 40 40 40 40 40 40

>DRR000031.7
```

```
>DRR000031.4
TGAGGTGGGAGTTTTAGCTAGCTTTGTTGTGGGTGT
40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 24 40 40 40 40 40 13 40 40
40 6 40 40 40 40 22 40 40 40 40 5 40 35 40 40
```


数式で表すと...

$$q = -10 \times \log_{10}(p) \quad \text{①}$$

$$q = -10 \times \log_{10}(10^{-3}) \quad \text{②}$$
$$q = -10 \times \underline{(-3)} = 30$$

$$q = -10 \times \log_{10}(10^{-5}) \quad \text{③}$$
$$q = -10 \times (-5) = 50$$

クオリティスコア q とエラー率 p の関係は、①式で表されます。一見ややこしいですが、② $p = 0.1\% = 10^{-3}$ だと考えれば意外と簡単です。③ エラー率が低いほどクオリティスコア q は上がります。

数式で表すと...

$$q = -10 \times \log_{10}(p) \quad \text{①}$$

$$q = -10 \times \log_{10}(10^{-3}) \quad \text{②}$$
$$q = -10 \times \underline{(-3)} = 30$$

$$q = -10 \times \log_{10}(10^{-5}) \quad \text{③}$$
$$q = -10 \times (-5) = 50$$

$$q = -10 \times \log_{10}(10^{-1}) \quad \text{④}$$
$$q = -10 \times (-1) = 10$$

クオリティスコア q とエラー率 p の関係は、①式で表されます。一見ややこしいですが、② $p = 0.1\% = 10^{-3}$ だと考えれば意外と簡単です。③エラー率が低いほどクオリティスコア q は上がります。④エラー率が高いほどクオリティスコア q は下がります。

クオリティスコア $q = 5$ の場合

①クオリティスコア q が5の場合は、②が-0.5になるので、③エラー率 $p = 10^{-0.5} = 0.316$ となる。④Gというベースコール結果は正確性が低いと判断する

```
>DRR000031.4
TGAGGTGGGAGTTTTAGCTAGCTTTGTTGTGGGTGT
40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 24 40 40 40 40 13 40 40
40 6 40 40 40 40 22 40 40 40 40 5 40 35 40 40
```

$$q = -10 \times \log_{10}(10^{-0.5})$$

$$q = -10 \times (-0.5) = 5$$



Tips

① ということです。2乗して10になるのが3.162278くらいであることを思い出せば、なんとか理解できるでしょう

$$q = -10 \times \log_{10}(10^{-0.5})$$
$$q = -10 \times (-0.5) = 5$$

```
R Console
> 10^(-0.5)
[1] 0.3162278
> 1/(10^0.5)
[1] 0.3162278
> sqrt(10)
[1] 3.162278
> sqrt(1/10)
[1] 0.3162278
> 1/sqrt(10)
[1] 0.3162278
> 0.3162278*0.3162278
[1] 0.1
> 3.162278*3.162278
[1] 10
> |
```

おさらい

クオリティスコア q の閾値は、
キリがいいので20や30が目安

DRASearch Search Home DRA Home

DRR000031 FASTQ SRA

Run Detail	
Alias	DRR000031
Instrument model	
Date of run	2008-04-01
Run center	UT-MGS
Number of spots	4,653,053
Number of bases	167,509,908

Navigation

- Submission DRA000011 FTP
- Study DRP000011
- Experiment DRX000011 FASTQ SR

READS (joined) quality show 10 rows << < 1 / 465306 Page >>

```
>DRR000031.1
TTTAAAAGATAATGTCATCACAACGCAACATATAGA
40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40
40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40

>DRR000031.2
TGTAATGATTATGATTCTCAGGGATTGGGAAAGGT
40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40
40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40

>DRR000031.3
TCAAAAAATACGAAGTTAGGGTGACAAAGTTTGACA
40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40
40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40

>DRR000031.4
TGAGGTGGGAGTTTTAGCTAGCTTTGTTGTGGGTGT
40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 24 40 40 40 40 40 13 40 40
40 6 40 40 40 40 22 40 40 40 40 5 40 35 40 40

>DRR000031.5
TTCAGGAAGCTGGTGATGGAGCACCAGAGGGTGGT
40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40
40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40

>DRR000031.6
TTTTTTTAAAATAGCACTTTAAATATTTATTTTTT
40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 17 40 10 40 5 27 23 36 40
40 40 12 26 40 40 40 5 17 27 40 40 40 40 40 40

>DRR000031.7
```

>DRR000031.4
TGAGGTGGGAGTTTTAGCTAGCTTTGTTGTGGGTGT
40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 40 24 40 40 40 40 40 13 40 40
40 6 40 40 40 40 22 40 40 40 40 5 40 35 40 40

データのダウンロード

①DRAの場合は、②FASTQ形式、③SRA形式ファイルのいずれでもダウンロード可能。同じ番号のところなら、どちらをクリックしてもよい。④このデータは10年以上前のものから存在するので、FASTQとSRAの両方がダウンロード可能になっている

The screenshot shows the DRA Search interface for run DRR000031. At the top, there are navigation links and a search bar. Below the search bar, there are three red arrows labeled 1, 2, and 3 pointing to the search bar, the 'FASTQ' download button, and the 'SRA' download button respectively. The main content area is divided into two sections: 'Run Detail' and 'READS (joined)'. The 'Run Detail' section contains a table with the following information:

Run Detail	
Alias	DRR000031
Instrument model	
Date of run	2008-04-01
Run center	UT-MGS
Number of spots	4,653,053
Number of bases	167,509,908

A red arrow labeled 4 points to the 'Date of run' field. Below the 'Run Detail' section is the 'READS (joined)' section, which displays sequence data for runs DRR000031.1 through DRR000031.7. To the right of the 'Run Detail' section is a 'Navigation' sidebar with the following items:

- Submission: DRA000011 (FTP)
- Study: DRP000011
- Experiment: DRX000011 (FASTQ, SRA)

This is a close-up of the 'Navigation' sidebar. It lists the following items with download buttons:

- Study: DRP000011
- Experiment: DRX000011 (FASTQ, SRA)
- Sample: DRS000011 (FASTQ, SRA)
- Run: DRR000031 (FASTQ, SRA)

Red arrows labeled 2 and 3 point to the FASTQ and SRA download buttons for the 'Run' item.

最新のデータだと...

これまで見ていたのは、①のデータなので、②を押して最新のデータがあると思われる最終ページに飛ぶ

Result List - DRA Search

DRA Search Search Home DRA Home

Accession :

Organism : StudyType :

CenterName : Platform :

Keyword :

Show records Sort by Search Clear

Search Results (19035 studies) << < 1 / 952 Page > >>

#	STUDY	SUBMISSION	STUDY_TITLE	STUDY_TYPE	ORGANISM	BASES	SUBMITTED	CENTER_NAME
1	DRP000003	DRA000003	Comprehensive identification and characterization of the nucleosome structure	Transcriptome Analysis	Homo sapiens	7.5G	2009-07-02	UT-MGS
2	DRP000004	DRA000004	Comprehensive identification and characterization of the transcripts, their expression levels and sub-cellular localizations	Transcriptome Analysis	Homo sapiens	2G	2009-07-02	UT-MGS
3	DRP000005	DRA000005	Comprehensive identification and characterization of the transcripts, their expression levels and sub-cellular localizations	Transcriptome Analysis	Homo sapiens	1.7G	2009-07-02	UT-MGS
4	DRP000006	DRA000006	Comprehensive identification and characterization of the transcripts, their expression levels and sub-cellular localizations	Transcriptome Analysis	Homo sapiens	1.7G	2009-07-02	UT-MGS
5	DRP000007	DRA000007	Comprehensive identification and characterization of the binding sites of polymerase II	Transcriptome Analysis	Homo sapiens	1.7G	2009-07-02	UT-MGS
6	DRP000008	DRA000008	Comprehensive identification and characterization of the binding sites of polymerase II	Transcriptome Analysis	Homo sapiens	1.6G	2009-07-02	UT-MGS
7	DRP000011	DRA000011	Comprehensive analysis of cytoplasmic mRNAs in HT29 cell.	Transcriptome Analysis	Homo sapiens	167.5M	2009-08-17	UT-MGS
8	DRP000012	DRA000012	Comprehensive analysis of cytoplasmic mRNAs in HT29 cell at 4hr after treatment with tunicamycin.	Transcriptome Analysis	Homo sapiens	173.7M	2009-08-17	UT-MGS
9	DRP000013	DRA000013	Comprehensive analysis of cytoplasmic mRNAs in HT29 cell at 16hr after treatment with tunicamycin.	Transcriptome Analysis	Homo sapiens	179.9M	2009-08-17	UT-MGS
10	DRP000014	DRA000014	Comprehensive analysis of polysomal mRNAs in HT29 cell.	Transcriptome Analysis	Homo sapiens	182.8M	2009-08-17	UT-MGS
11	DRP000015	DRA000015	Comprehensive analysis of polysomal mRNAs in HT29 cell at 4hr after treatment with tunicamycin.	Transcriptome Analysis	Homo sapiens	180M	2009-08-17	UT-MGS
12	DRP000016	DRA000016	Comprehensive analysis of polysomal mRNAs in HT29 cell at 16hr after treatment with	Transcriptome	Homo	147.3M	2009-08-17	UT-MGS



最新のデータだと...

①最後のページに飛んだところ。②
SUBMITTEDの日付もないが、数字も大
きいのでかなり最近公開されたものなの
でしょう。例えば③をクリックすると...

Result List - DRA Search

DRASearch Search Home DRA Home

Accession :

Organism : StudyType :

CenterName : Platform :

Keyword :

Show records Sort by Search Clear

Search Results (19056 studies)

<< < 953 / 7 page > >>

#	STUDY	SUBMISSION	STUDY_TITLE	STUDY_TYPE	ORGANISM	BASES	SUBMITTED	CENTER_NAME
19041	SRP139542	SRA687053	Molecular subtype-specific immunocompetent models of high-grade glioma reveal differential antigen expression and response to immunotherapy	Transcriptome Analysis	Mus musculus			GEO
19042	SRP139587	SRA687274	Transcriptome profiling of <i>Cryptosporidium parvum</i> infected lung and intestinal organoids	Transcriptome Analysis	Homo sapiens			GEO
19043	SRP139667	SRA687634	Next Generation Sequencing Facilitates Quantitative Analysis of conventional and ischemia-free liver transplantation Transcriptomes	Transcriptome Analysis	Homo sapiens			GEO
19044	SRP139685	SRA687768	Transcriptomes of <i>Pleurotus ostreatus</i> in four different development stages (mycelium, primordium, young fruit body, mature fruit body)	Transcriptome Analysis	Pleurotus ostreatus			GEO
19045	SRP139743	SRA688052	Fasting-induced JMJD3 histone demethylase epigenetically activates mitochondrial fattyacid beta-oxidation	Transcriptome Analysis	Mus musculus			GEO
19046	SRP139744	SRA688054	Selective inhibition of CDK9 in DLBCL cell lines	Transcriptome Analysis	Homo sapiens			GEO
19047	SRP139796	SRA688228	Uterine glands synchronize embryo-endometrial interactions and coordinate on-time embryo implantation and stromal cell decidualization for pregnancy success	Transcriptome Analysis	Mus musculus			GEO
19048	SRP139808	SRA688302	Role of Epstein-Barr Virus (EBV) latency protein EBNA3C in EBV-induced lymphomagenesis in a cord blood-humanized mouse model	Transcriptome Analysis	Homo sapiens			GEO
19049	SRP139810	SRA688305	Sequencing of human chain specific ribosome transcriptional group	Transcriptome Analysis	Homo sapiens			GEO
			Exacerbated <i>S. aureus</i> foot infections in obese/diabetic mice are associated with	Transcriptome				

最新のデータだと...

こんな感じになりました。この場合は①FASTQどころか②SRAもまだダウンロードできないようです。こういうこともあります

The screenshot shows the DRASearch website for submission SRA687053. The page is divided into two main sections: Submission Detail and Navigation.

Submission Detail

Alias	GEO: GSE112973
Submission ID	
Submission Date	
Center Name	GEO
Lab Name	

Navigation

Study	SRP139542		
Experiment	SRX3923604	FASTQ	SRA
	SRX3923605	FASTQ	SRA
	SRX3923606	FASTQ	SRA
	SRX3923607	FASTQ	SRA
	SRX3923608	FASTQ	SRA
	SRX3923609	FASTQ	SRA
	SRX3923610	FASTQ	SRA
	SRX3923611	FASTQ	SRA
	SRX3923612	FASTQ	SRA
	SRX3923613	FASTQ	SRA
	SRX3923614	FASTQ	SRA
	SRX3923615	FASTQ	SRA
	SRX3923616	FASTQ	SRA
	SRX3923617	FASTQ	SRA
	SRX3923618	FASTQ	SRA
	SRX3923619	FASTQ	SRA
	SRX3923620	FASTQ	SRA
	SRX3923621	FASTQ	SRA
	SRX3923622	FASTQ	SRA
	SRX3923623	FASTQ	SRA
	SRX3923624	FASTQ	SRA
	SRX3923625	FASTQ	SRA
	SRX3923626	FASTQ	SRA
	SRX3923627	FASTQ	SRA
	SRX3923628	FASTQ	SRA
	SRX3923629	FASTQ	SRA
	SRX3923630	FASTQ	SRA
	SRX3923631	FASTQ	SRA
	SRX3923632	FASTQ	SRA
	SRX3923633	FASTQ	SRA
	SRX3923634	FASTQ	SRA
	SRX3923635	FASTQ	SRA
	SRX3923636	FASTQ	SRA

Two red arrows labeled ① and ② point to the FASTQ and SRA download icons for the first experiment (SRX3923604).

そこそこのデータだと...

①ここを600とかにして、②SRA352409を見してみる。見る日によっても位置は異なるかもしれないので、③で一旦Search homeに戻ってから、④のAccessionのところからSRA352409と打ち込んでもいいかも...

Result List - DRA Search

https://trace.ddbj.nig.ac.jp/DRASearch/query?study_type=Transcriptome+Analysis&show=20&sort=& 検索...

DRASearch Search Home DRA Home

Accession : **④**

Organism : StudyType : Transcriptome Analysis

CenterName : Platform :

Keyword :

Show 20 records Sort by Study Search Clear **①**

Search Results (19056 studies) << < 600 / 953 Page > >>

#	STUDY	SUBMISSION	STUDY_TITLE	STUDY_TYPE	ORGANISM	BASES	SUBMITTED	CENTER_NAME
11981	SRP069827	SRA352409 ②	<i>Oryza sativa</i> cultivar: BRS Querência Transcriptome or Gene expression	Transcriptome Analysis	<i>Oryza sativa</i>	14.1G		BioProject
11982	SRP069833	SRA352473	An increase in negative supercoiling in bacteria reveals topology-reacting gene clusters and a homeostatic response mediated by the DNA topoisomerase I gene [RNA-Seq]	Transcriptome Analysis	<i>Streptococcus pneumoniae</i> R6	13.5G		GEO
11983	SRP069835	SRA352492	Transcriptomic profiles and RNA half-life of <i>M. acetivorans</i> growing in acetate, methanol, and trimethylamine	Transcriptome Analysis	<i>Methanosarcina acetivorans</i>	287.7G		GEO
11984	SRP069838	SRA352576	Complex Balanced Translocation Disrupting TCF4 and Altering TCF4 Isoform Expression Segregates as Mild Autosomal Dominant Intellectual Disability	Transcriptome Analysis	<i>Homo sapiens</i>	38.2G		GEO
11985	SRP069839	SRA352578	Marker gene/pathway discovery for polystyrene particle toxicity in zebrafish larvae	Transcriptome Analysis	<i>Danio rerio</i>	13.3G		GEO
11986	SRP069852	SRA352605	Combinatorial DNA methylation codes at repetitive elements [RNA-Seq]	Transcriptome Analysis	<i>Mus musculus</i>	18.7G		GEO
11987	SRP069860	SRA352656	Transcriptome data used for gene annotation	Transcriptome Analysis	<i>Sus scrofa</i>	491.7G		GEO
11988	SRP069861	SRA352717	Protracted NP95 binding to hemimethylated DNA disrupts SETDB1-mediated proviral silencing [RNA-seq]	Transcriptome Analysis	<i>Mus musculus</i>	30G		GEO
11989	SRP069869	SRA352729	Gene expression profiling of <i>Drosophila melanogaster</i> 30 minutes after alcohol exposure	Transcriptome Analysis	<i>Drosophila melanogaster</i>	4.8G		GEO
11990	SRP069870	SRA352730	Feedback regulation of cholesterol metabolism by LeXis, a lipid-responsive non-coding RNA	Transcriptome Analysis	<i>Mus musculus</i>	30.8G		GEO
			Uncoupling X chromosome number from					

そこそこのデータだと...

①同じSubmission IDでも、②一部のSRA形式ファイルのみしかダウンロードできないようなものもあります。実は①SRA352409の場合、欧のEMBL-EBI ENAでFASTQファイルをダウンロード可能...

DRASearch

SRA352409

Submission Detail	
Alias	CIS
Submission ID	
Submission Date	
Center Name	UFPEL
Lab Name	LCTP

Navigation	
Study	SRP069827
Experiment	SRX1568591
	SRX1568731
	SRX1568734
	SRX1568735
Sample	SRS1282422
	SRS1282428
	SRS1282458
	SRS1282568
Run	SRR3157922
	SRR3157924
	SRR3157925
	SRR3157927

Website policy | © DNA Data Bank of Japan

公共DB

NGSデータの公共DBは、①DDBJ SRA、②NCBI SRA、③EMBL-EBI ENAの三極で運用されており、データ共有がなされている。とはいえ、**タイムラグは結構あるので注意してください**

- ・ [イントロ](#) | [一般](#) | [配列取得](#) | [トランスクリプトーム配列](#) | [GenomicFeatures\(Lawrence 2009\)](#)
- ・ [イントロ](#) | [一般](#) | [配列取得](#) | [トランスクリプトーム配列](#) | [biomaRt\(Durinck 2009\)](#) (last modified 2015/11/15)
- ・ [イントロ](#) | [一般](#) | [読み込み](#) | [xlsx形式](#) | [openxlsx](#) (last modified 2015/11/15)
- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [様々なプラットフォーム](#) (last modified 2016/03/24)
- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [qPCRやmicroarrayなどとの比較](#) (last modified 2014/11/12)
- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [可視化\(ゲノムブラウザやViewer\)](#) (last modified 2016/12/22)
- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [配列取得](#) | [FASTQ or SRA](#) | [公共DBから](#) (last modified 2015/02/23)
- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [配列取得](#) | [FASTQ or SRA](#) | [SRADB\(Zhu 2013\)](#) (last modified 2015/02/24)
- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [配列取得](#) | [シミュレーションデータ](#) | [について](#) (last modified 2015/01/18)
- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [配列取得](#) | [シミュレーションデータ](#) | [ランダムな塩基配列の生成から](#) (last modified 2015/01/18)
- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [アノテーション情報取得](#) | [について](#) (last modified 2014/03/26)

イントロ | NGS | 配列取得 | FASTQ or SRA | 公共DBから **NEW**

- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [アノテーション情報取得](#)
- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [アノテーション情報取得](#)
- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [アノテーション情報取得](#)
- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [アノテーション情報取得](#)
- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [アノテーション情報取得](#)
- ・ [イントロ](#) | [NGS](#) | [アノテーション情報取得](#)

次世代シーケンサ(NGS)から得られる塩基配列データを公共データベースから取得する際には以下を利用します。マイクロアレイデータ取得のときと同様、NGSデータも [ArrayExpress](#) 経由でダウンロードするのがいいかもしれません。メタデータの全貌を把握しやすいこと、生データ(raw data)だけでなく加工済みのデータ(processed data)がある場合にはその存在がすぐにわかることなど、操作性の点で他を凌駕していると思います。上記でも触れているようにFASTQファイルのダウンロードからマッピングまでを行うのはエンドユーザーレベルでは大変ですが、submitterが提供してくれている場合は(まだまだ少ないようですが)リファレンス配列へのマップ後のデータ、つまりBAM形式ファイルの提供もすでに始まっているようです。2014年6月26日に知りました(DDBJ見玉さんありがとうございますm(_ _)m)。

データの形式は基本的に [Sanger type](#) のFASTQ形式です。FASTA形式はリードあたり二行(idの行と配列の行)で表現します。FASTQ形式はリードあたり4行(@から始まるidの行と配列の行、および+から始まるidの行とbase callの際のqualityの行)で表現します。FASTQ形式は、Sangerのものがデファクトスタンダード(業界標準)です。かつてIlluminaのプラットフォームから得られるのはFASTQ-like formatという表現がなされていたようです([Cock et al., Nucleic Acids Res., 2010](#))。しかし少なくとも2013年頃には、IlluminaデータもBaseSpaceやCASAVA1.8のconfigureBclToFastq.plなどを用いることで業界標準のFASTQ形式(つまりSanger typeのデータ)に切り替えられるようすし、NCBI SRAなどの公共DBから取得するデータは全てはSanger typeのデータになっていたと思います([Kibukawa E., テクニカルサポートウェビナー, 2013](#))。

- ① [DDBJ Sequence Read Archive \(DRA\): Kodama et al., Nucleic Acids Res., 2012](#)
 - ② [EMBL-EBI European Nucleotide Archive \(ENA\): Eickert et al., Nucleic Acids Res., 2015](#)
 - ③ [NCBI Sequence Read Archive \(SRA\): NCBI Resource Coordinators., Nucleic Acids Res., 2014](#)
- ・ [ArrayExpress: Kolesnikov et al., Nucleic Acids Res., 2015](#)
 - ・ [GEO: Barrett et al., Nucleic Acids Res., 2013](#)
 - ・ [DBCLS SRA: Nakazato et al., PLoS One, 2013](#)