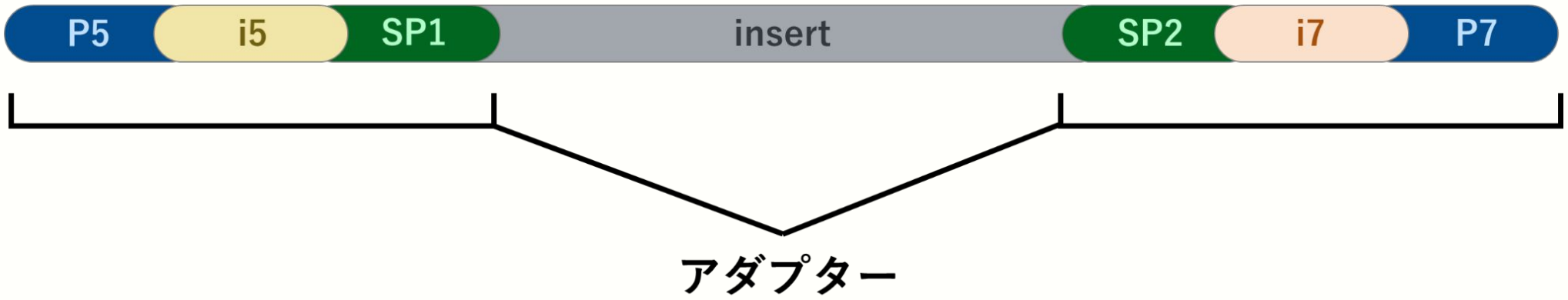
adapter/アダプター

サンプル配列（insert）の両端に付加するオリゴDNA。これらの配列を基にNGS機器でシーケンスを行う。



BEDファイルフォーマット

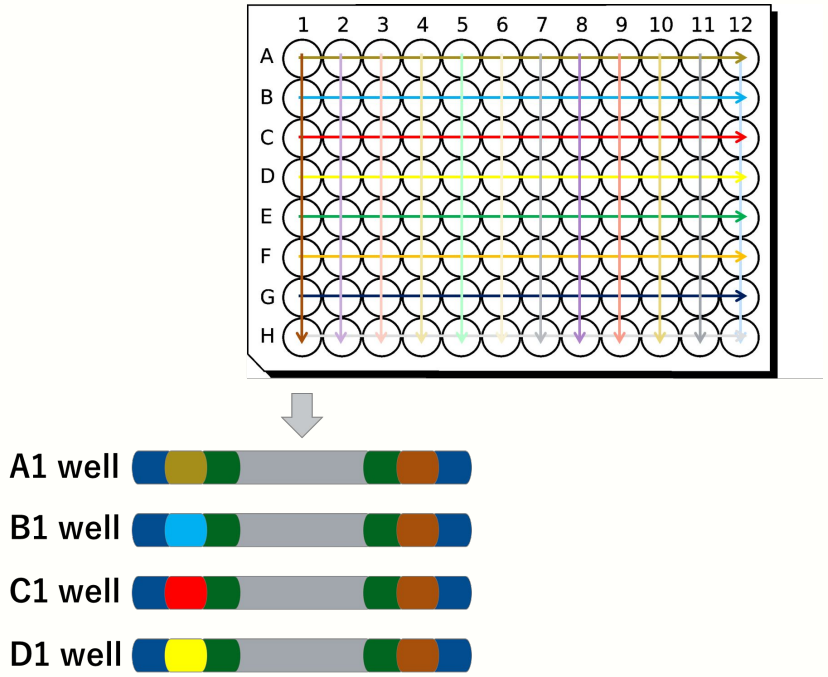
BED (Browser Extensible Data)。ゲノム上の位置を示すのに使われているフォーマット。染色体名、スタート位置、エンド位置は必須で、他にも任意で名称やストランド情報なども記載できる。

染色体	スタート位置	エンド位置	名称	ストランド
chr7	127471196	127472363	Pos1	+
chr7	127472363	127473530	Pos2	+
chr7	127473530	127474697	Pos3	+
chr7	127474697	127475864	Pos4	+
chr7	127475864	127477031	Neg1	-
chr7	127477031	127478198	Neg2	-
chr7	127478198	127479365	Neg3	-
chr7	127479365	127480532	Pos5	+
chr7	127480532	127481699	Neg4	-

https://en.wikipedia.org/wiki/BED_(file_format)

Combinatorial Dual Index（CDI）

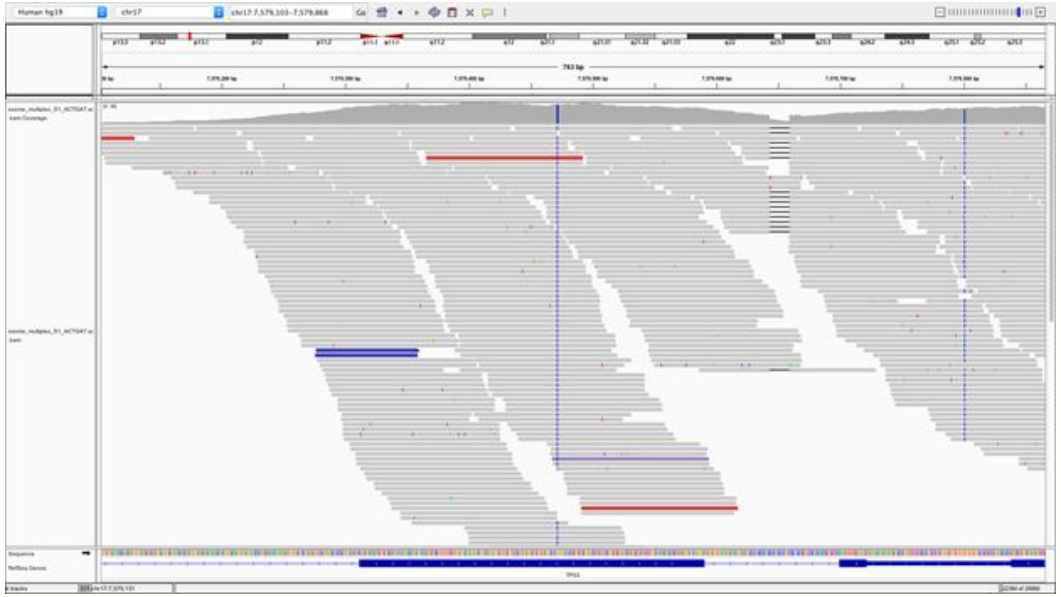
Dual Indexのひとつで、i5とi7の組み合わせで振り分け可能なサンプル数を増やす。index primerのコストを抑えながら、indexの組み合わせ数を増やすことができるが、index hoppingの問題があり徐々にUnique Dual Index（UDI）のユーザーが増えている傾向。



220801

coverage/カバレッジ/depth/深度

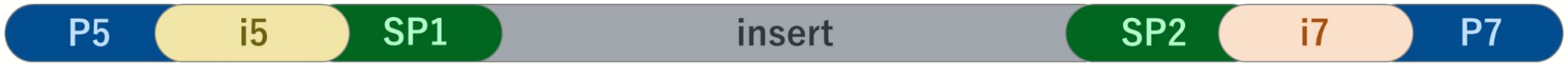
特定のサンプル配列に対して、シーケンス機器で読まれた数。10回読まれると10Xや10xのように表記される。NGSではPCRエラーやシーケンスエラーが発生するため、カバレッジ数が多いほど正確な結果とされるが、過剰に行うと無駄なコストが発生するため実験目的にあわせたカバレッジを計画する必要がある。



220804

Dual Index/デュアルインデックス

両側にインデックス配列をもつ。



Exome-seq/エクソームシーケンス

ヒトゲノムのタンパク質をコードするエクソン領域のみを解析する手法。エクソン領域は全ゲノムの数%以下だが、タンパク質に翻訳される領域であることから、疾患に関わる変異の多くがエクソン領域にあると考えられている。そのため全ゲノムシーケンスよりも格段に低コストでありながら、重要な配列を解析できる効率の良い手法とされる。

FASTAファイルフォーマット

塩基配列またはアミノ酸配列を表記するフォーマット。1行目は”>”で始まり配列の名称やコメントなどを記載し、2行目に実際の配列を記載する。

```
>NM_000546.6 Homo sapiens tumor protein p53 (TP53), transcript variant 1, mRNA
CTCAAAAGTCTAGAGCCACCGTCCAGGGAGCAGGTAGCTGCTGGGCTCCGGGGACACTTTGCGTTCGGGC
TGGGAGCGTGCTTTCCACGACGGTGACACGCTTCCCTGGATTGGCAGCCAGACTGCCTTCCGGGTCACTG
CCATGGAGGAGCCGCAGTCAGATCCTAGCGTCGAGCCCCCTCTGAGTCAGGAAACATTTTCAGACCTATG
GAAACTACTTCCTGAAAACAACGTTCTGTCCCCCTTGCCGTCCCAAGCAATGGATGATTTGATGCTGTCC
CCGGACGATATTGAACAATGGTTCACTGAAGACCCAGGTCCAGATGAAGCTCCCAGAATGCCAGAGGCTG
```

FASTQファイルフォーマット

シーケンスした塩基配列とそのクオリティスコアを表記するフォーマット。1行目は"@"で始まり配列のIDと任意でコメントなどを、2行目に実際の塩基配列を、3行目に"+"とIDなどを、4行目に2行目の配列と対応する配列のクオリティ値を記載する。クオリティ値には文字や記号などが表記されているが、ASCII（というもの）を使用しており、1文字に対して2桁の数値で処理できる。

```
@SEQ_ID
GATTTGGGGTTCAAAGCAGTATCGATCAAATAGTAAATCCATTTGTTCAACTCACAGTTT
+
!''*((((***+))%%%++)(%%%%).1***-+*''))**55CCF>>>>>>CCCCCCC65
```

https://en.wikipedia.org/wiki/FASTQ_format

hg19

ヒトゲノムのレファレンス配列で2009年にリリースされたもの。数字が大きいものほど新しいバージョンとなる。

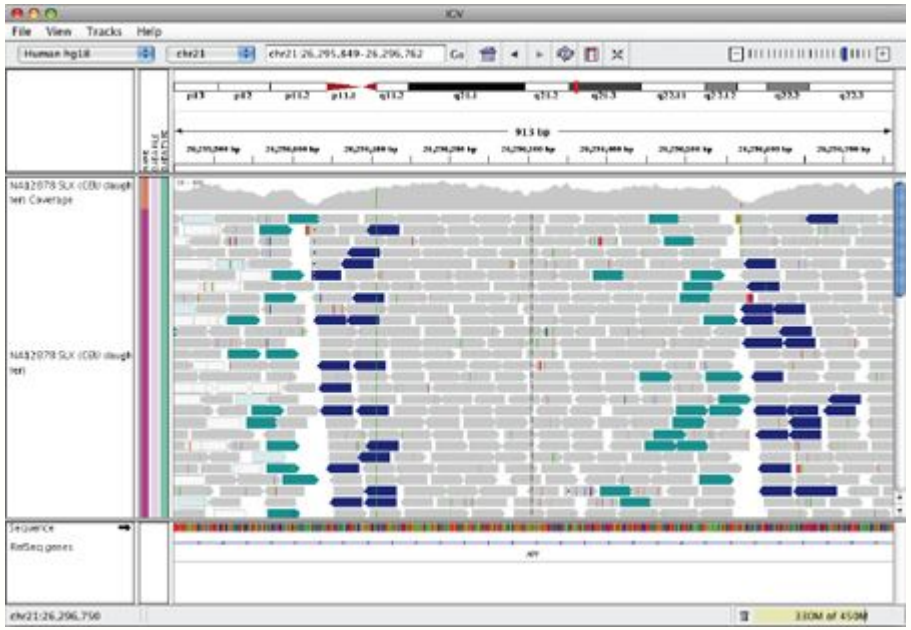
hg38

ヒトゲノムのレファレンス配列で2013年にリリースされたもの。数字が大きいものほど新しいバージョンとなる。

IGV

ゲノムブラウザの一つ。各ファイルデータを簡単に素早く視認できるため使用されることが多い。ソフトウェアをダウンロードしてローカルで使用できる。

IGVはIntegrative Genomics Viewerの略。

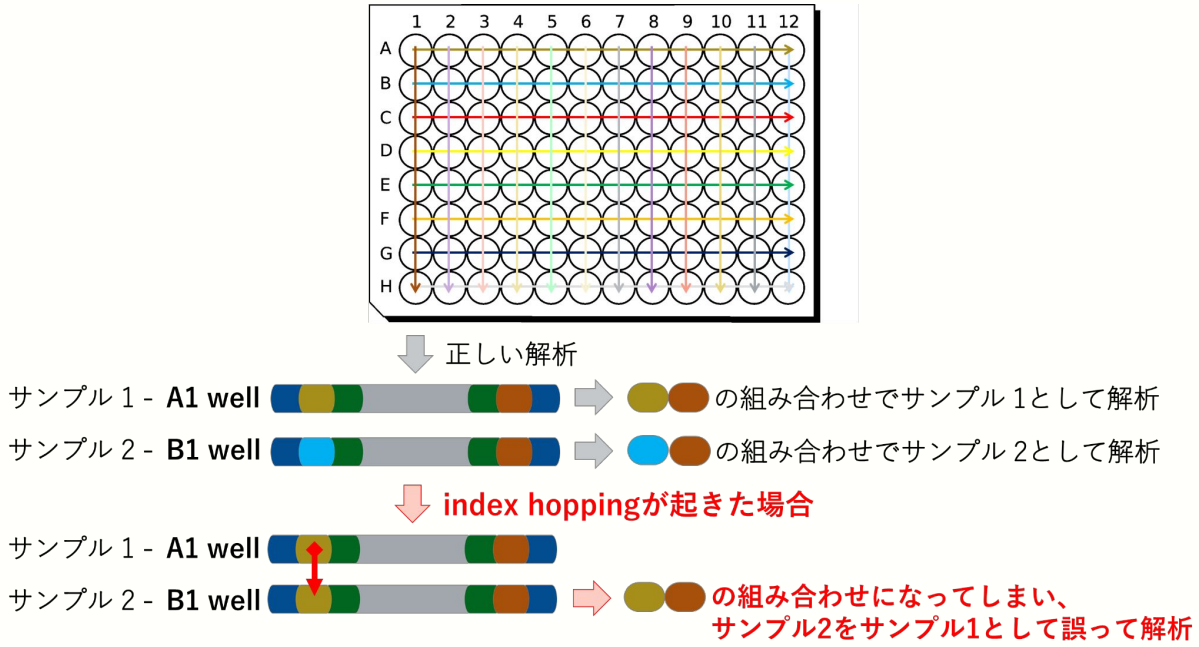


https://software.broadinstitute.org/software/igv/interpreting_pair_orientations

220822

index hopping/インデックスホッピング

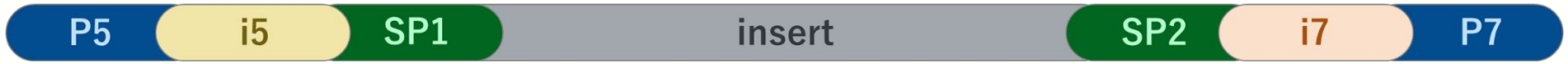
複数ライブラリーをプールした際にindexの組み換えが起こり、別のライブラリー由来のシーケンス結果がふくまれてしまう現象。Illuminaシーケンサーの、比較的新しい機種で採用されている方式（Patterned Flow Cell）で高い割合で発生したため、NGS業界では一時期大きな話題となった。



220804

i5とi7

illuminaシーケンサーのインデックス/バーコード配列のこと。Dual Indexでは両端にインデックス/バーコード配列が付加されるため、i5とi7の名称で識別される。



220804

mm10

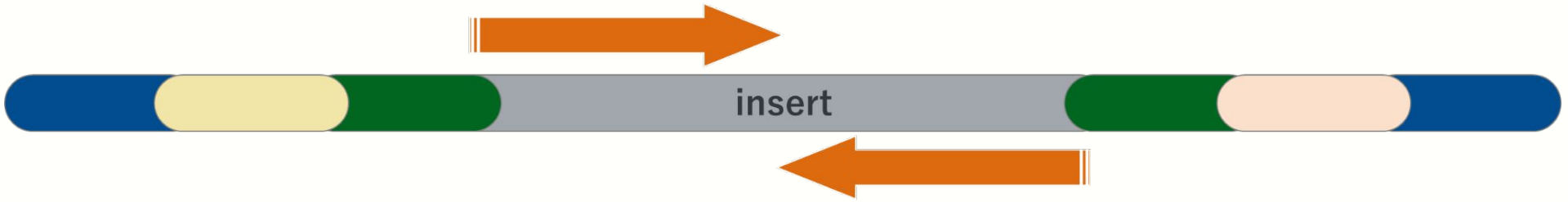
マウスゲノムのレファレンス配列で2011年にリリースされたもの。数字が大きいものほど新しいバージョンとなる。

mm39

マウスゲノムのレファレンス配列で2020年にリリースされたもの。数字が大きいものほど新しいバージョンとなる。

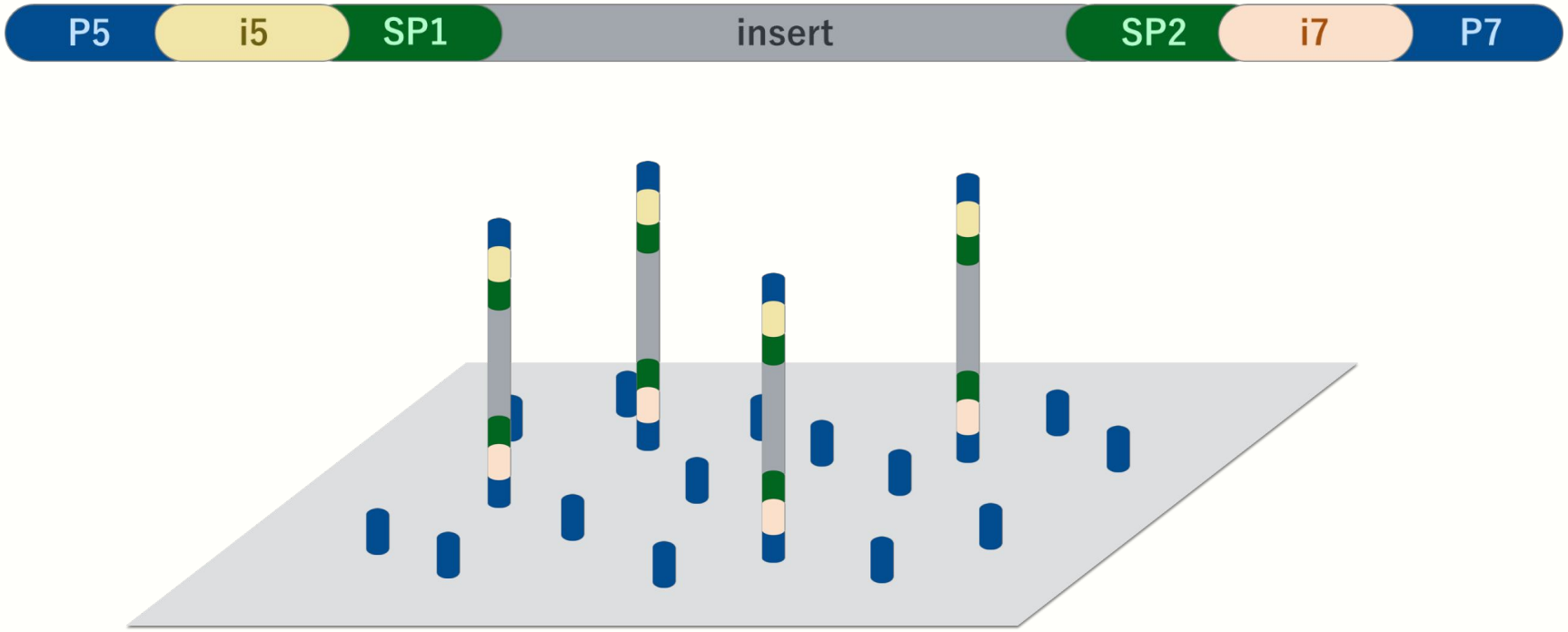
paired-end/ペアエンド

ライブラリーの両側からシーケンスを読む。データ量はシングルエンドの2倍になる。シングルエンドと比べてコストが高いが、シーケンス結果から得られる情報も多く、より正確な解析が可能。



P5とP7

Illuminaシーケンサーのフローセルに結合するための配列。両端で異なる配列を付加する必要があるため、P5とP7の名称で識別される。



220801

RNA-Seq

RNAサンプルをシーケンス解析する手法。DNAと違い転写物の発現量や、転写時の変異や融合遺伝子を検出することが可能。

Single Index/シングルインデックス

片側のみインデックス配列をもつ。

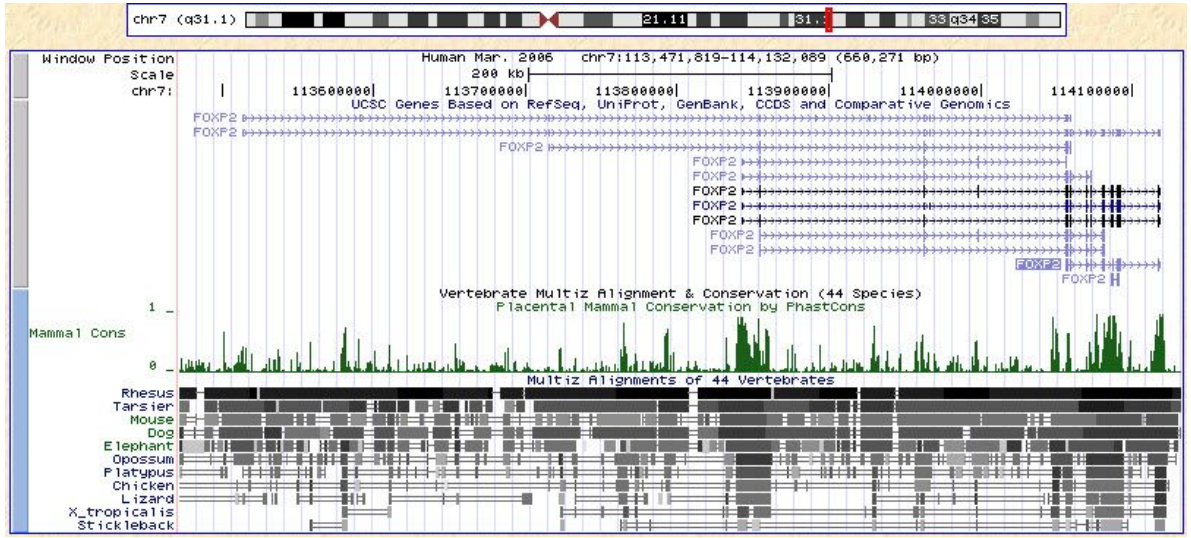
single-read/シングルリード

ライブラリーの片側のみからシーケンスを読む。ペアエンドと比べてコストが低い。

UCSC Genome Browser

オンラインでゲノムの各情報を確認可能なブラウザ。ヒトや主要のモデル生物に対応しており、各データベースにアクセスしたり、ダウンロードすることも可能。

名前の由来は開発した米国カリフォルニア大学サンタクルーズ校（UCSC：University of California, Santa Cruz）から。



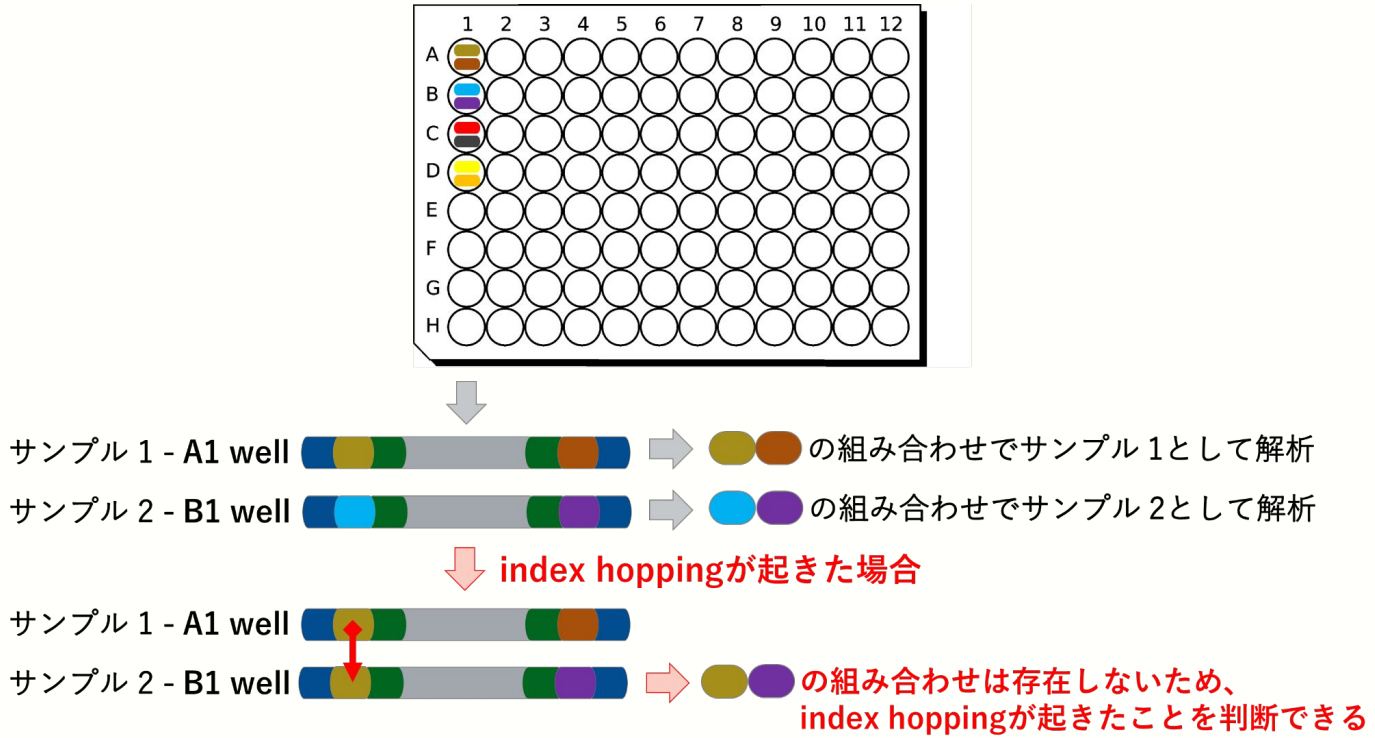
https://en.wikipedia.org/wiki/UCSC_Genome_Browser

uniformity/均一性

ターゲット領域に対してどの程度均一なcoverageが取得できたかの指標。coverage uniformityとも言われる。特にターゲットシーケンスにおいてuniformityが高い（coverageが均一）なほど良いデータとされる。

Unique Dual Index（UDI）

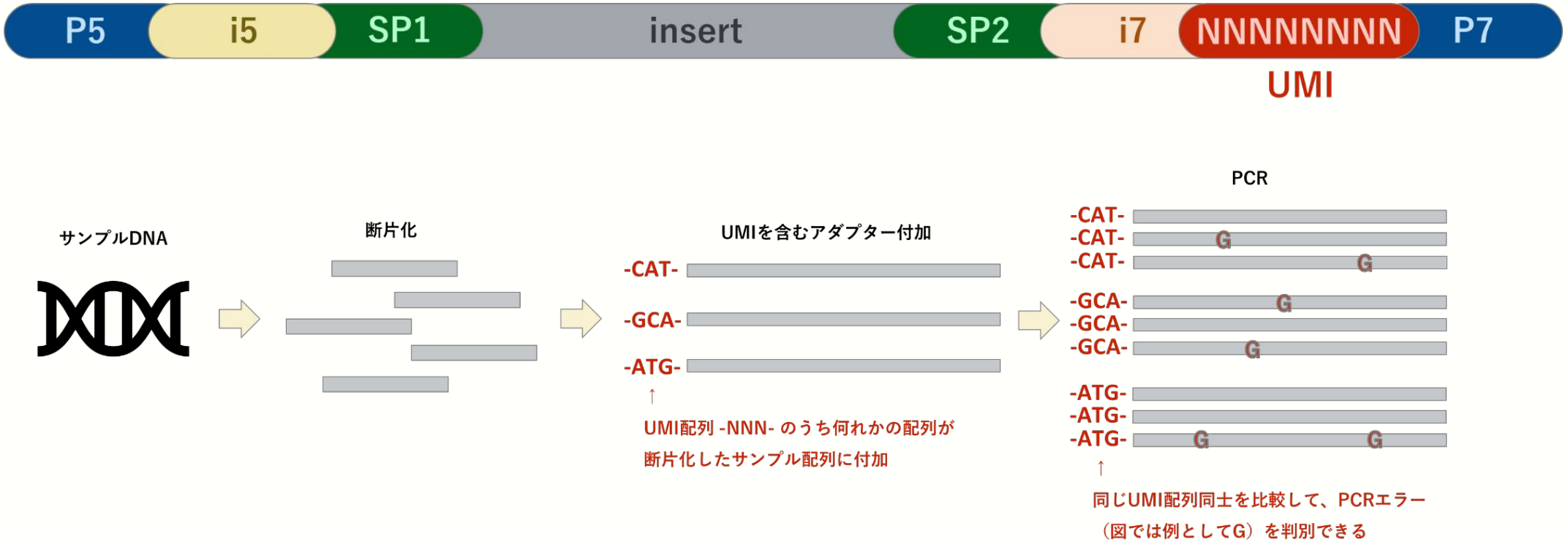
Dual Indexのひとつで、i5とi7すべてで異なるindex配列を使用する。index hoppingの問題を大幅に低減することが可能。



220804

Unique Molecular Identifier（UMI）/分子バーコード

アダプターに含まれる、各サンプル断片に固有の配列。この配列を基に解析中にPCRエラーを判別でき、より精度の高い結果を取得できる。



220804

whole-genome sequencing/全ゲノムシーケンス

対象サンプルの全ゲノム（すべての配列）をシーケンスする手法。対象サンプルの配列を漏れなく解析できるが、配列が多い分シーケンスや解析のコストが高い。10年ほど前まではヒトゲノム1人分1,000ドルが目標と言われていたが、現在目標はクリアし100ドルゲノムと言われることも。

https://jp.illumina.com/science/technology/next-generation-sequencing/beginners/ngs-cost.html

220804

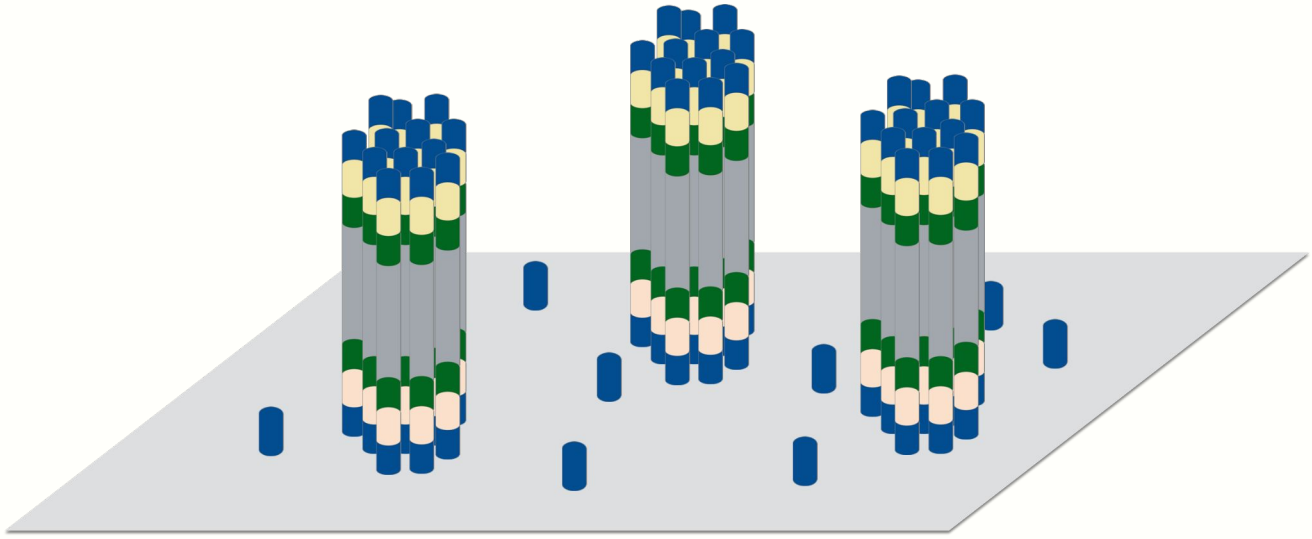
アンプリコンシーケンス/AmpSeq

ターゲットシーケンスの一つで、目的のサンプル配列のみをPCR増幅し解析する手法。PCRしながらライブラリー作製が出来るためプローブキャプチャー法より手間が少なく安価だが、プローブ設計自体が難しくPCRバイアスが発生しやすい。メタゲノム解析では、16S領域をアンプリコンシーケンスし、構成する菌種を特定していくことが多い。

220822

クラスター

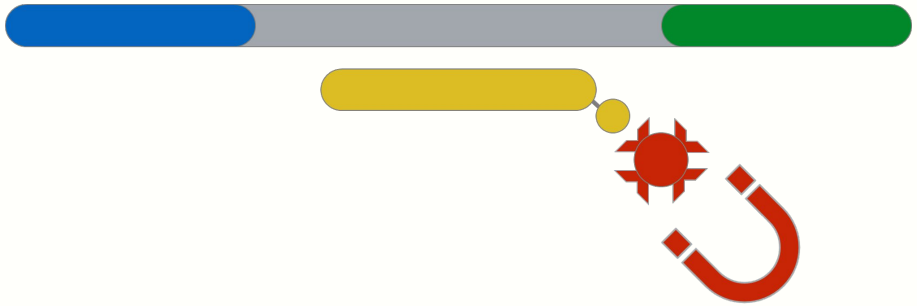
ライブラリーの1本鎖DNAを基に、illuminaシーケンス機器で解析可能な状態まで増幅したもの。



220804

ターゲットシーケンス

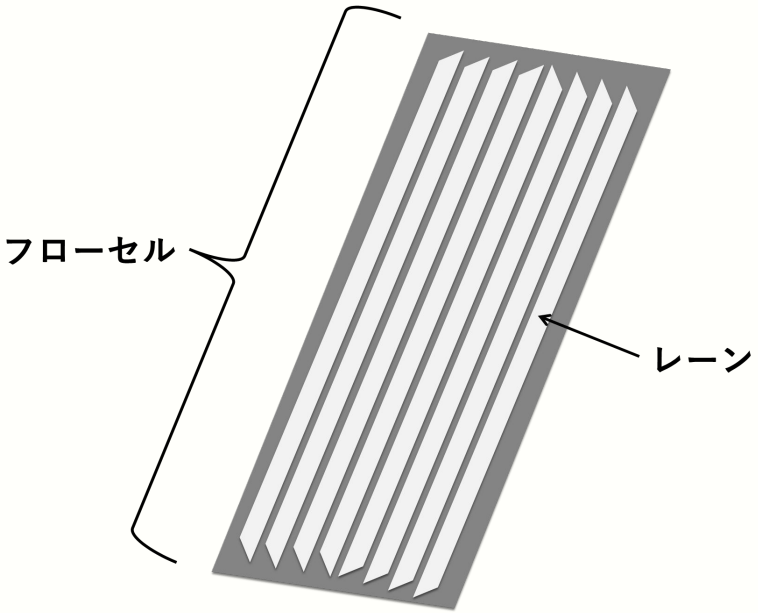
サンプル中の特定の配列に絞ってシーケンスを行う手法。関心のある領域をより詳細に解析でき、余計な領域分にコストをかけず、解析の手間を減らすことができる。プローブキャプチャーまたはアンプリコンシーケンスによる手法が一般的。



220810

フローセル

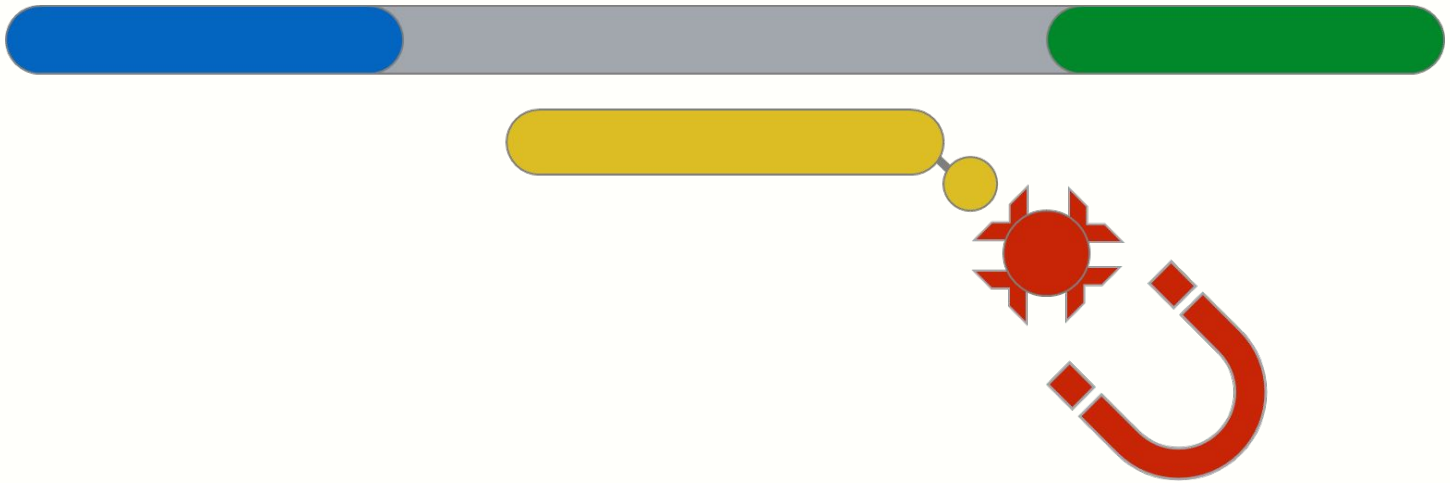
illuminaシーケンサーにおいて、P5/P7配列のオリゴが表面にあるスライドガラス。この表面に作製したライブラリーを流しクラスター形成後、シーケンスを行う。



220804

プローブ/ベイト

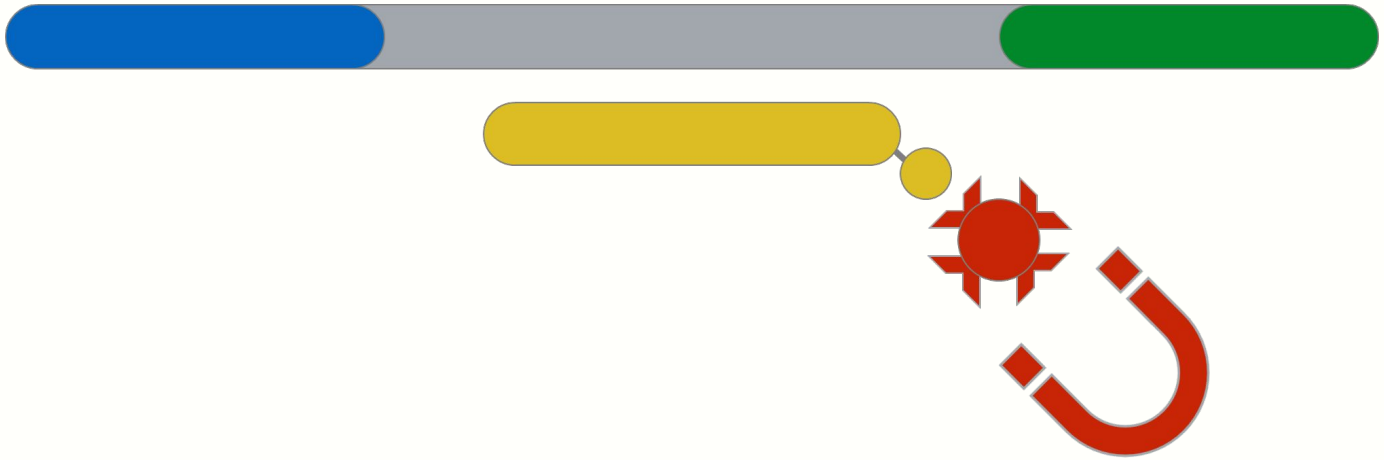
ターゲットシーケンスを行う際に用いる、ターゲット特異的な配列のDNA/RNAオリゴ。ビオチン修飾が含まれており、ストレプトアビジンビーズと結合させて、目的の配列とハイブリダイゼーションした配列断片を濃縮する。



220804

プローブキャプチャー法

ターゲットシーケンスの一つで、目的のサンプル配列に相補的なプローブ/ベイトを用いて濃縮する。アンプリコンシーケンスよりPCRバイアスが少なく均一なカバレッジが取得出来るが、作業の手間が多くプローブコストが別途発生する。



220822

ライブラリー

サンプルDNAやRNAをシーケンス機器で解析可能な状態にしたもの。サンプルは適当な長さにし両側にアダプターが付加されている。

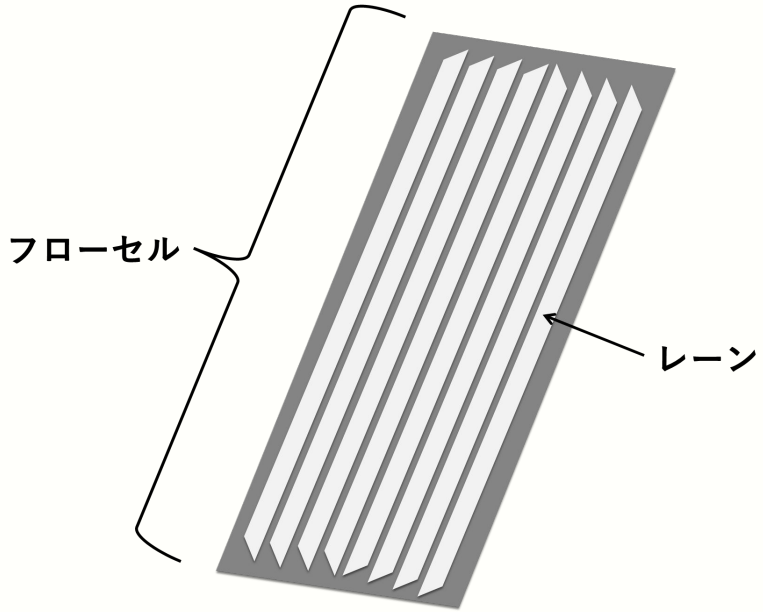
リード

シーケンス機器によって読まれた各サンプルの配列。Illuminaでは正確だが読める長さが数百塩基と短いためショートリード、PacBioやNanoporeは数千～塩基読めるためロングリードと呼ばれる。

220804

レーン

illuminaシーケンサーのフローセル上にある、ライブラリーを流す通り道。



220804

0.2X mean coverage

平均カバレッジ（mean coverage）の0.2X以上となったターゲット配列の割合。主にアンプリコンシーケンス時の均一性の指標に利用される。例えば極端にカバレッジが低い領域があると、0.2X mean coverageの値が下がり均一性の低い結果と評価される。