# 16S Metagenomics App

はじめに	3
16Sメタゲノム解析のラン	5
16Sメタゲノム解析の出力	
16Sメタゲノム解析方法	
テクニカルサポート	



本文書およびその内容は、Illumina, Inc.およびその関連会社(以下、「イルミナ」という)の所有物であり、本文書に記載 された製品の使用に関連して、イルミナの顧客が契約上使用することのみを意図したものであり、その他の目的を意図し たものではありません。本文書およびその内容を、イルミナの書面による事前同意を得ずにその他の目的で利用または配 布してはならず、また方法を問わず、その他伝達、開示または複製してはなりません。イルミナは、本文書によって、自 身の特許、商標、著作権またはコモンロー上の権利に基づくいかなるライセンスも譲渡せず、また第三者の同様の権利も 譲渡しないものとします。

本文書に記載された製品の適切かつ安全な使用を徹底するため、資格を有した、適切なトレーニングを受けた担当者が、 本文書の指示を厳密かつ明確に遵守しなければなりません。当該製品の使用に先立ち、本文書のすべての内容を熟読し、 理解する必要があるものとします。

本文書に含まれるすべての説明を熟読せず、明確に遵守しない場合、製品を損ない、使用者または他者を含む個人に傷害 を負わせ、その他の財産に損害を与える結果となる可能性がある。

イルミナ は本文書に記載された製品(その部品またはソフトウェアを含む)の不適切な使用から生じる責任、または、顧客による当該製品の取得に関連してイルミナ から付与される明示的な書面によるライセンスもしくは許可の範囲外で当該 製品が使用されることから生じる責任を一切負わない。

© 2014 Illumina, Inc. All rights reserved.

Illumina, IlluminaDx, 24sure, BaseSpace, BeadArray, BeadXpress, BlueFish, BlueFuse, BlueGnome, cBot, CSPro, CytoChip, DASL, DesignStudio, Eco, GAlk, Genetic Energy, Genome Analyzer, GenomeStudio, GoldenGate, HiScan, HiSeq, HiSeqX, Infinium, iScan, iSelect, MiSeq, MiSeqDx, NeoPrep, Nextera, NextSeq, NuPCR, SeqMonitor, Solexa, TruGenome, TruSeq, TruSight, Understand Your Genome, UYG, VeraCode, VeriSeq.パンプキンオレンジ色および遺伝子エネルギーの流れをベース としたデザインは、米国および/またはその他の国のIllumina, Inc.の登録商標です。本文書に含まれるその他すべてのブランドおよび名称は、それら個別の所有者に帰属する所有物です。

はじめに

16S Metagenomics Appでは、原核生物の16S小サブユニットrRNA遺伝子のアンプリコン シーケンスからDNAを解析します。リード分類の分類には、RDP Naïve Bayes分類学的手 法のアルゴリズムの高性能版が用いられます。分類統計データは、サンプルおよび集計の 両方で計算され、結果はインタラクティブな可視化にまとめられます。分類の生データも ダウンロードして入手可能です。

16Sメタゲノム解析によって作成されるメインの出力ファイルは以下の通りです:

- ▶ [Summary.csv] ファイル。各サンプルをまとめた分類統計データが入っています。
- ▶ [Txt.gz] 圧縮ファイル。各サンプルのリードごとの分類が入っています。
- ▶ [Aggregate\_Counts.csv] ファイル。すべてのサンプルの分類学的レベルごとの集計分類結果が入っています。

この他にも、サンプルごとに集計したPDFとHTMLのレポート、XML統計ファイルがあります。

詳細については、「16Sメタゲノム解析方法」(12ページ)および「16Sメタゲノム解析の出力」(6ページ)を参照してください。

図1 16S Metagenomics Appワークフロー



### バージョン

以下のモジュールバージョンが16S Metagenomics Appで使用されます。

- ▶ Isis v2.5.35.6
- 2013年5月のGreengenes分類学的データベースをイルミナがキュレーションした バージョン

このごせ

### 現時点での制限

16S Metagenomics Appのランには、以下の制限があります。

- 2013年5月のGreengenes分類学データベースをイルミナがキュレーションした版であること
- ▶ 100 bp以上のリード長であること
- ▶ データセットサイズが50ギガ塩基未満であること
- ▶ 種レベルまでの分類をサポートするが、サブタイプの分類には未対応。

## 16Sメタゲノム解析のラン

- 1 解析したいプロジェクトまたはサンプルへと進みます。
- 2 [Apps] ボタンをクリックし、ドロップダウンリストから [16S Metagenomics] を選択します。
- 3 使用許諾契約をご覧になられたら、お読みの上同意する場合は [Accept] をクリックします。
- 4 16Sメタゲノム解析の入力フォームに必要なフィールドに記入します:
  - a [Analysis Name] :解析名を入れてください。デフォルト名はアプリ名と解析が 開始された日時です。
  - b [Save Results To] : アプリの結果を保存するプロジェクトを選択してください。
  - c [Sample(s)] : 解析したいサンプルを選んでチェックボックスをオンにしてくだ さい。複数のサンプルを解析することができます。

図2 16Sメタゲノム解析入力フォーム

Analysis Name: Save Results To:	16S Metagenomics 03/31/2014 10:00:00 Select a Project	0	This app is free.
Sample(s):	Select Sample	0	Continue

5 [Continue] をクリックします。

サンプルの解析が開始します。アプリ解析のステータスが更新され、アプリ解析の進捗状況を表示します。完了したら、アプリ解析のステータスが [Complete] に設定され、 ユーザー宛にメールが送信されます。

## 16Sメタゲノム解析の出力

本章では16S Metagenomics Appの出力を説明します。結果を見るには、 [Projects] ボタンをクリックしてプロジェクトを開き、次に解析を開きます。

図3 16Sメタゲノム解析の出力ナビゲーションバー

i Analysis Info
➡ Inputs
Output Files
Analysis Reports
Aggregate Result
ECRAT.I3.1007.537.C3
ECRAT.I3.1007.537.c2
ECRAT.I2.1007.532.c3

解析が完了したら、左側にあるナビゲーションバーから出力ファイルにアクセスすることができます。ナビゲーションバーには以下のものがあります。

- ▶ [Analysis Info] : このアプリの出力設定の概要。詳細については「[Analysis Info] ページで解析について概要を説明します。」(8ページ)を参照してください。
- [Output Files]:出力ファイルにアクセスします。サンプルごとに構成されています。詳細については「16Sメタゲノム解析の出力ファイル」(9ページ)を参照してください。
- ▶ [Inputs] :入力設定の概要です。「入力概要」(9ページ)を参照してください。
- 「Aggregate Result】:集計結果の解析メトリクスにアクセスします。複数のサンプルの解析が実行されると、「Aggregate Summary Page」のみが表示されます。 「Aggregate Summary Page」(6ページ)を参照してください。
- 「Sample Pages]:各サンプルの解析レポートにアクセスします。「[Sample Pages]では、サンプルごとの統計データについて概要を説明します。PDFにサマリーレポートをダウンロードすることもできます。」(7ページ)を参照してください。

#### Aggregate Summary Page

「Aggregate Summary」ページ上に全サンプル比較が示されます。サンプル結果の比較を示 すインタラクティブな図を閲覧することができます。もしくは、集計結果ファイルをダウ ンロードすることができます。

#### 集計結果

集計結果のセクションにはダウンロード用のサマリーファイルが含まれます。PDF集計サマリーレポートにはBaseSpaceレポートと同じ情報を示す表が含まれます。CSVファイルにはサンプルごとに各分類に分けられたリード数が含まれ、分類の分類学的レベルごとに整理されています。

#### サンプル情報

サンプル情報の表は、各サンプルの属レベルでの分類率と一次解析に関するサンプル数、 サンプルIDおよび統計データを示します。

統計データ	定義
Number reads PF	クオリティフィルターをパスした、サンプルにマッチ するインデックスシーケンスをもつリードの総数
% Reads PF Classified to Genus	(属レベル分類でのReads番号) / (Reads PF番号)* 100

#### 主座標分析(PCoA)

主座標分析はすべてのサンプルのノーマライズした相対的存在量間の類似性を示します。 PCoAは、古典的MDSを用いて作成され、サンプルごとにノーマライズした分類存在量の ベクトルから作られたピアソン共分散距離行列上に生成されます。図上部のスクロール バーを調整することで最大レベルを選択し、最大レベルでサンプルを比較することができ ます。ポイントは、サンプルIDの略称で示され、どのポイントにマウスを置いても、その サンプルIDの正式名称を確認することができます。

#### 階層的クラスタリングの系統樹

系統樹は、属レベルの分類に基づいたサンプルの階層的クラスタリングを示します。棒グ ラフ上にマウスを置き、分類ラベルを確認します。

#### 種多様性の結果

統計データ	定義
Shannon Species Diversity	サンプルに対する種レベルのShannonによる多様性の指標(詳細についてはen.wikipedia.org/wiki/Shannon- Wiener_indexを参照)
Number of species identified	サンプル内の独自の種分類数、種レベルに分類された リード数のみを含む。

#### Sample Summary Page

[Sample Pages] では、サンプルごとの統計データについて概要を説明します。PDFにサマリーレポートをダウンロードすることもできます。

#### サンプル結果

このサンプル結果セクションは、PDFのサマリーレポートを含み、分類学的レベルごとの 分類率と上位のサンプル分類に関する情報を示します。また、CSV分類サマリーも含まれ ており、対象サンプルの集計した分類数を示します。

#### サンプル情報

このサンプル情報の表は、対象サンプルの一次解析の基本情報を示します。

統計データ	定義
Number reads PF	クオリティフィルターをパスした、サンプルにマッチ するインデックスシーケンスをもつリードの総数

#### 分類統計

この分類統計セクションでは、分類学的レベルごとの分類率に関する情報を示します。

統計データ	定義
Reads PF Classified to Taxonomic Level	規定の分類学的レベルで分類された、サンプルのPF リードの総数
% Reads PF Classified to Taxonomic Level	(分類学的レベルに分類された# Reads PF/# Reads PF)* 100

#### Sunburst Classification Chart

このSunburst Classification Chartは、サンプル中の分類の相対的存在量および分類学的階層に関する統計データを示します。

統計データ	定義
Total Reads	# Reads PF
% Total Reads	(分類学的カテゴリーに分類された# Reads PF / # Reads PF) * 100
% [parent category] reads	(分類学的カテゴリーに分類された# Reads PF / # 元の分類学的カテゴリーに分類された# Reads PF) * 100

#### 分類学的レベルごとのトップ20の分類結果

縦列の表は、各分類学的レベルでの分類の相対的存在量の比較を示し、各分類学的レベル で分類されなかったリードを除外します。

統計データ	定義
Total reads	# Reads PF
% Reads classified to level	(分類カテゴリーに分類された# Reads PF / # 分類 学的レベルに分類されたReads PF) * 100
% total reads	(分類学的カテゴリーに分類された# Reads PF / # Reads PF) * 100

#### Analysis Info

[Analysis Info] ページで解析について概要を説明します。

メトリクスの簡単な説明を以下の表に示します。

数値データ	定義
Name	アプリ解析名

数値データ	定義
Application	この解析を行うアプリ
Date Started	このアプリ解析の開始日時
Date completed	このアプリ解析の終了日時
Duration	解析の期間
Session Type	用いられるノード数
Size	あらゆる出力ファイルの合計サイズ
Status	アプリ解析のステータス

#### Log Files

[Analysis Info] の下の [Log Files] リンクをクリックすると、16S Metagenomics Appのログファイルにアクセスします。ログファイルは [Output Files] セクションのフォルダにあります。

- Output-AppSessionID.log: IsisおよびClassifyReadsからの未処理のコンソール出力 を表示
- Spacedock-AppSessionID.log: SpaceDockおよびBaseSpaceのコミュニケーションや入出力ファイルのステージングからのコンソール出力を表示

### 16Sメタゲノム解析ステータス

単一または複数のサンプルの場合、16S Metagenomics Appのステータスでは以下の値を得ることができます。

- 1 初期値
- 2 PendingExecution
- 3 ラン中の値
- 4 ダウンロード中のアプリケーションアプリケーション・コンテナ
- 5 Launching Isis
- 6 分類中のサンプル
- 7 計測中の統計データ
- 8 作成中のメタゲノム解析レポート
- 9 アップロード中の結果
- 10 正常完了したアプリケーション

### 入力概要

16S Metagenomics Appは、16Sメタゲノム解析のランのセットアップ時に指定された 入力サンプルと設定の概要を説明します。

### 16Sメタゲノム解析の出力ファイル

出力ファイルのリンク先では出力ファイルにアクセスすることができます。詳細について は以下のトピックを参照してください。

#### サンプルごとの出力:

- ▶ [Summary.csv] (10ページ)
- ▶ 「Txt.gz」(10ページ)
- ▶ 「Report.pdf」 (10ページ)
- ▶ 「Report.html」 (10ページ)

#### 集計出力:

- ▶ 「MetagenomicsAggregateReport.html」 (11ページ)
- ▶ 「MetagenomicsAggregateReport.pdf」 (10ページ)
- ▶ 「Aggregate\_Counts.csv」(10ページ)

#### Summary.csv

Summary.csvは、リードがサンプルにどのように分類されていたかを表す概数を示します。独自の分類はそれぞれ1行に対応し、ヒット数および総ヒットの%は各行に記録されます。一部の分類(例えば、綱レベル分類が作成されたが、目レベル分類ではない)には、分類されていない空白のエントリーがあります。

#### Txt.gz

未処理のclassifier出力を示します。ファイルのエントリーには以下のものが含まれます:

- ▶ 入力FASTQファイルからのリード識別子。
- ▶ 分類上の各分類学的レベルで、Oから1の範囲で信頼値を有するリードに割り当てられた分類。

#### Report.pdf

サンプルごとのPDFレポートには、BaseSpaceのサンプルごとのレポートに示された情報と類似したサンプルに関するサマリー情報が含まれます。すべての統計データは BaseSpaceのサンプルごとのレポートと同じ定義です。PDFレポートにはインタラク ティブな可視化は含まれていません。

#### Report.html

サンプルごとのHTMLレポートにはBaseSpaceのサンプルごとのレポートに示されたものと同じ情報が含まれます。BaseSpaceバージョンとスタンドアロンバージョンではフォーマットにいくつかの違いがありますが、統計データと結果は同一です。

#### Aggregate\_Counts.csv

Aggregate\_Counts.csvファイルは、全サンプルのレベルごとの集計数を示します。ファ イルは分類学的レベルごとに分けられ、ファイル名上に表示されます(例えば*Class\_ Level\_Aggregate\_Counts.csv*)。各行は、1つ以上のサンプルに生じた独自の分類を表 します。各サンプルは縦列に割り当てられています。ヘッダー行にサンプルDが示されて います。表のエントリーは、縦列のサンプルに行の分類ラベルをもつリード数を表しま す。

#### MetagenomicsAggregateReport.pdf

集計したPDFレポートにはBaseSpace集計レポート上のものと同じ統計表が含まれます。定義および統計の値はBaseSpaceレポートでレポートされた統計と同一です。集計したPDFレポートにはインタラクティブな可視化は含まれません。

#### MetagenomicsAggregateReport.html

集計したHTMLレポートにはBaseSpace集計レポート上のものと同じ情報が含まれます。BaseSpaceバージョンとスタンドアロンバージョンではフォーマットにいくつかの 違いがあります。統計データおよび結果は同じです。

## 16Sメタゲノム解析方法

本章では16S Metagenomics Appで使用される手法について説明します。

#### リード分類

分類のステップでは、2007年にWang Qらが提唱したリボソームデータベースプロジェ クト(RDP) classifierを高性能なレベルで実現した、ClassifyReadsを使用しています (dx.doi.org/10.1128%2FAEM.00062-07)。オリジナルのRDP classifierのアル ゴリズムは実施制約により8塩基のワードを使用しました。ClassifyReadsでは、より有 効なデータ構造が使用され、各ワードに各種ごとの特異性を与える32塩基のワードの使用 が可能です。以下では、ClassifyReadsを使用した分類ステップを説明します。

#### ワード特有Prior

W={w,w,…,w}を可能な32塩基の全ワードのセットとします。Nシーケンスのコーパスから、<sup>1</sup>n (w) をサブシーケンスwを含むシーケンス数とします。全体のコーパス上のシーケンスにある、観察されているウードwの尤度のワード特有Prior推定値は、以下の公式で計算されます。

$$P_i = \frac{n(w_i) + 0.5}{N+1}$$

#### 分類学的の条件付き確度

オリジナルのRDPClassifierでは、分類は属レベルで実施されました。ClassifyReadsでは、このレベルを種レベルまで広げます。以下のセクションでは、Tは規定の分類学的レベル(属、種、またはサブタイプ)を表します。デフォルトでは種レベルで分類されています。

Mシーケンスで構成されるトレーニングセットを有する種Tの場合、m(w)をワードwを 含むシーケンス数とします。Tのメンバーがwを含む条件付き確度は以下の方程式で概算し ました:

$$P(w_i|T) = \frac{m(w_i) + P_i}{M+1}$$

種Tから、一連のワードを含む部分シーケンスS、つまりV = {v,v,···,v} (V  $\subseteq$  W)を観察した共同確率は、以下の通り概算しました:

$$P(S|T) = \prod P(v_i|T)$$

Naïve Bayesianの割り当て

ベイズの定理によって、未知のクエリーシーケンスSが種Tのメンバーである確度は以下の 通り求められます:

$$P(T|S) = \frac{P(S|T)P(T)}{P(S)}$$

P(T)は、TのメンバーであるシーケンスのPrior確度です。 P(S)は(あらゆる種の)シーケンスSを観察する全体の確度です。 すべての種が等しい確率だと仮定すると(等質優先)、一定期間P(T)およびP(S)は無視されます。最も高い確度スコアを与える属メンバーとしてシーケンスが分類されます。

#### 例

典型的な分類結果です(結果は対数領域にあります):

Methanocaldococcaceae;MethanocaldococcusP(T|S) = -367.7Methanococcaceae;MethanothermococcusP(T|S) = -2936Thermofilaceaen;ThermofilumP(T|S) = -2963.2

自然対数変換の確度は、共同確率計算中の乗法のため低くなります。ベストヒットとセカンドベストヒット間の大きな違いは顕著です。ベストヒットの場合、3の差違は20倍高い確度を示すことがあります。ここでは、その差違は2568.3です(すなわち2.5 × 10<sup>1115</sup>の高確度)。

#### 分類学的レベルの削除

2つのベストヒット間の差が小さい場合、つまり対数領域が0.05(1.6倍以内の高い確度)の場合、セカンドベストヒットと同じになるまでベストヒットの分類学的レベルを削除します。

例えば、以下の結果を考慮します:

Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Prevotellaceae;Prevotella; melaninogenica - P(T|S) = -200.00

Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Prevotellaceae;Prevotella; histicola - P(T|S) = -200.04

この場合、上の2つのヒット間の差は0.05より小さくなります。したがって、両方のヒットが同じになるまで、下(種)から上(界)までの分類学的レベルを削除します。この場合、Prevotella(属)分類に達すると、削除を中止します。

削除手順は、リードはPrevotella属からのものであるという確かなエビデンスがあるということを表す一方、どの種かを推定するための十分なエビデンスを持っていないことを示しています。

削除の閾値(0.05)は、Greengenesデータベースのループバック分類中の誤分類を解析 することにより、求められました。

#### 種レベルの分類の取得

ClassifyReadsはGreengenesのフルデータベースを使用します。データベースへのエントリーの一部は、属レベルまでしか分類できませんが、一方でその他のエントリーは種およびサブタイプレベルまで分類されます。場合によっては、一番上の結果は以下のようになります:

Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Prevotellaceae;Prevotella; - P(T|S) = -200.000

Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Prevotellaceae;Prevotella; histicola - P(T|S) = -200.000

Bacteria;Firmicutes;Bacilli;Gemellales;Gemellaceae;Gemella;haemolysans - P (T|S) = -1846 この場合、ベストヒットは属レベルまで分類され、セカンドベストヒットは種レベルまで 分類されます。2つのベストヒット間の差違が類似している場合(対数領域に0.001未満 の差違)、代わりに種レベル分類を使用します。

#### 分類の信頼度

RDP classifierでは、分類の信頼度を求めるためにシーケンスのワードをランダムにサブサンプリングしたブーストラッピング法を使用していました。

ClassifyReadsでは、このブーストラッピング法を用いていません。主に性能面からの理由(ブーストラッピング法によりアルゴリズムは20~50倍遅くなる)と、結果として生じる信頼度の推定と実際の分類の正確性との相関関係の弱さがあったため、変更されました。

現在、信頼度は異なる分類学的レベルごとに全体的な分類アルゴリズムの正確性を基に静 的に割り当てられています。

分類学的レベル	正確性
界	100%
門	100%
綱	100%
注文	99.98%
科	99.97%
属	99.65%
種	98.24%

### 分類学的データベース

2013年5月にリリースしたGreengenesコンソーシアムデータベース (greengenes.secondgenome.com/downloads) に対し、イルミナがキュレーション したバージョンを使用しました。

以下はそのデータベースの現時点での統計データです:

分類学的レベル	分類番号	
界	3	
門	33	
綱	74	
目	148	
科	321	
属	1086	
種	6466	

種レベルに下げた分類法を得るために、Greengenes SQLデータベースファイル(gg\_ 13\_5.sql.gz)を使用しました。特に、当社のデータベースは、Greengenesクローン、 分離株、共生生物の表を含む、あらゆるものからスタートしました。そこからフィルター ー式が適用されています:

- 1 16Sシーケンス長が1250 bp未満だった、すべてのエントリーをフィルター。
- 2 50を超えるゆらぎ塩基対があった、すべてのエントリーをフィルター(すなわちM、 R、W、S、Y、K、V、H、D、B、N)
- 3 部分的分類のみが適用された、すべてのエントリーをフィルター(属または種の場合、分類なし)

Greengenesデータベースには誤ったフィールドに配置された分類が数多くありました。 つまり、不適切な種名または属名や、種フィールドへのクローンIDや株IDなどの配置があ りました。これらのエントリーを識別し整理するためのプログラムが開発されました。

事実上、空の分類学的レベルと同じ意味のため、あいまいな名称および分類(sp、aff、 cf、genosp、genomosp)を削除しました。

Listeria monocytogenes (GenBankエントリーX56153.1)、Listeria innocua (GenBankエントリーFJ774235.1)、およびPhiX (NCBIリファレンスシーケンス: NC\_001422)はデータベースに追加し、内部のリサーチプロジェクトをサポートしまし た。

#### Aggregate PCoA Chart

集計レポートの主座標分析(PCoA)表は、各サンプルのノーマライズした分類ベクトル に対し古典的多次元尺度構成法(MDS)を用いて作成されます。アルゴリズムのステップ の概要は本章で説明します。

#### ノーマライズした分類マトリックス

ノーマライズした分類マトリックスは分類レベルの範囲で作成されます。分類学的レベルの総範囲が種レベルの分類マトリックス内にあるとされるまで、最初のマトリックスには界分類のみを、2つめのマトリックスには界や門などの分類を含みます。これらの範囲は集計レポートでのユーザーが選択可能なレベルに対応しています。

全サンプルにわたる現時点での分類学的レベル範囲内に示す分類セットが収集されます。 次に、ベクトルに独自のインデックスで各固有の分類を配置することで、ラベルベクトル が作成されます。現時点での分類学的範囲内に各サンプル用の分類が集められ、 [unclassified] 分類が除去されます。ベクトルは各サンプルごとに作成され、これは各 インデックスで空ではない全分類のラベルベクトル上の現時点での分類範囲内での、サン プル分類の予測となります。各サンプルのベクトルは、サンプルのベクトル合計の逆数 で、すべてのインデックスを乗することにより、L-1ノーマライズされます。

結果として生じるベクトルは、分類マトリックスを作成します。この分類マトリックスでは、各行のデータが現時点での分類学的範囲内に示される、空ではない独自の分類を表します。各縦列は、このスペース上にある空ではない分類の1サンプルのL-1ノーマライズ予測を表します。

ピアソンの相関距離マトリックス

ピアソンの相関ではL-1ノーマライズサンプル分類ベクトルの各ペアを計算します。その後、距離マトリックスが1-rとして計算されます。このrは2サンプルのノーマライズした

分類ベクトル間を測定するピアソン相関です。

#### 古典的MDS

古典的MDSは前のステップから距離マトリックス出力上で実施されます。MDSは steep.inrialpes.fr/~Arnaud/indexation/mdsO3.pdfでの説明の通り実行されます。

#### Aggregate Dendrogram Chart

サンプルごとの分類ベクトルは、「Aggregate PCoA Chart」(15ページ)に記載され た同じ方法を用いて各サンプルを作成します。差違とは、現時点での分類範囲が属のみ (属レベルのみ、空ではない分類を考慮している)として定義されることです。次に、 「ピアソンの相関距離マトリックス」(15ページ)に記載されたピアソンの相関距離マト リックスを計算します。最後に、標準的なUPGMA階層クラスタリングを使用し、系統樹 を作成します。

テクニカルサポート

#### テクニカルサポートについては、イルミナテクニカルサポートにお問い合わせください。

#### 表1 イルミナー般問合せ先

ウェブサイト	jp.illumina.com
電子メール	techsupport@illumina.com

#### 表2 イルミナカスタマーサポート電話番号

地域	電話番号	地域	電話番号
北米	1.800.809.4566	台湾	00806651752
日本	0800.111.5011	中国	400.635.9898
アイルランド	1.800.812949	デンマーク	80882346
イタリア	800.874909	ドイツ	0800.180.8994
英国	0800.917.0041	ニュージーランド	0800.451.650
オーストラリア	1.800.775.688	ノルウェー	800.16836
オーストリア	0800.296575	フィンランド	0800.918363
オランダ	0800.0223859	フランス	0800.911850
シンガポール	1.800.579.2745	ベルギー	0800.81102
スイス	0800.563118	香港	800960230
スウェーデン	020790181	その他の国	+44.1799.534000
スペイン	900.812168		

#### 製品安全データシート

製品安全データシート(SDS)は、イルミナウェブサイト support.illumina.com/sds.ilmnから入手できます。

#### 製品文書

PDFの製品文書は、イルミナのウェブサイトからダウンロードして入手できます。 support.illumina.comにアクセスして製品を選び、 [Documentation & Literature] をク リックします。

### 

イルミナ株式会社
 〒108-0014
 東京都港区芝5-36-7三田ベルジュビル22階
 サポート専用フリーダイヤル 0800-111-5011
 techsupport@illumina.com
 jp.illumina.com