


Oxford Nanopore Test Run 結果

- シーケンサー Oxford Nanopore MinION Mk1B
- フローセル MinION Flow Cell Mk I (R9)
- ワークフロー 2D Basecalling RNN for SQK-NSK007(48hrs)

- 解析対象 Geobacillus Kaustophilus ●●株
- (Genome Size 約3.5Mbp, GC 52.1%)

- ライブラリー収量・サンプルのプライミング両方に問題あり、
- データ収量が低くなっている。



Run 結果

- ▶ Total reads (2D) : 4,172 (Calibration Strand 含む)
- ▶ Total Bases : 22,498,848 (6.35X)
- ▶ Mean Length : 5,392.82
- ▶ Median Length : 5,447
- ▶ Minimum Length : 148
- ▶ Maximum Length : 13,366
- ▶ N50 Length : 6202

(統計除法はpopetool で取得)

データ解析

- ▶ Raw dataから2D Readのみ抽出(pore tool)
- ▶ Canu でde novo Assembly (1)
- ▶ Nanopolish でPolishing (データ精度向上)(2)

- ▶ SPAdes で別途取得したMiSeq 75PE データ(100X)を de novo Assembly(3)
- ▶ SPAdes でMiSeqデータをde novo Assembly、Nanopore 2D Read でScaffold 作製(4)

- ▶ Quast で(1) (2) (3) (4) のアセンブル結果を評価

- ▶ Nanocorr で2D ReadをMiSeq のデータを用いて補正
(データが減りすぎて、de novo Assembly 不可)

Quast 評価結果(1)

	No of contigs / scaffolds	No of contigs / scaffolds (>1kbp)	Total length (bp)	Largest contig / scaffold	N50 (bp)
(1)	77	77	2,794,139	160,075	46,590
(2)	77	75	2,837,609	164,274	47,173
(3)	383	107	3,485,859	220,901	83,408
(4)	60	12	3,573,010	737,678	491,746

	Total alignments length (bp)	Genome fraction (%)	NG50 (bp)	Fully unaligned contigs / scaffolds	Fully unaligned length (bp)
(1)	2,736,557	78.074	36,716	2	32,391
(2)	2,796,673	78.581	38,063	2	33,035
(3)	3,447,517	95.859	81,741	2	1,719
(4)	3,561,798	99.036	491,746	0	0

Quast 評価結果(2)

	Missmatches	Indels	Indels length (bp)	Missmatches / 100k bp	Indels / 100kbp
(1)	6,503	48,332	77,286	231.84	1,740.93
(2)	14,210	38,556	56,100	503.34	1,365.71
(3)	205	122	330	5.95	3.54
(4)	264	133	229	7.42	3.74