基因组组装

日期: 2022-11-23

实验者: 生信 2001 张子栋

MarkdownNotes/软件第4次作业.md at main · Bluuur/MarkdownNotes (github.com)
生物信息学原理/软件第4次作业.md · blur/MarkdownNotes - 码云 - 开源中国 (gitee.com)

实验目的

- 1. 回顾 Linux 系统的常用命令的使用。
- 2. 掌握常用三代和二代测序组装软件各至少一种的使用,并理解关键参数的含义,熟悉测序数据 fastq 等格式。
- 3. 会编写程序计算 N50 / L50 等组装连续性指标。
- 4. 会使用基因组比对工具 MUMmer 进行序列比对,并寻找 SNP 等变异。

实验内容

- 使用组装软件 SOAPdenovo、canu、Hifiasm 分别组装大肠杆菌 Escherichia coli K12 基因组的二代和三代测序数据。
- 编写程序计算 SOAPdenovo 组装 contig 和 scaffold 序列的 N50 / L50 等组装质量评估指标。
- 使用基因组比对工具 MUMmer 比较 canu 组装的 contig 序列和 hifiasm 组装的 contig 序列,并 寻找两者之间的序列差异。

实验结果

使用 soapdenovo2 组装 $E.\ coli$ 基因组 illumina 二代测序数据

```
[uu01@localhost soap]$ pwd
/home/uu01/01 zzd/soap
[uu01@localhost soap]$ date
Thu Nov 24 14:10:40 CST 2022
[uu01@localhost soap]$ ls -lh
total 250M
-rw-r--r--. 1 uu01 WBJIAO 1.5M Nov 23 21:31 ecoli-soap.Arc
rw-r--r--. 1 uu01 WBJIA0
                               0 Nov 23 21:32 ecoli-soap.bubbleInScaff
-rw-r--r--. 1 uu01 WBJIAO 9.3M Nov 23 21:31 ecoli-soap.contig
-rw-r--r--. 1 uu01 WBJIAO 497K Nov 23 21:31 ecoli-soap.ContigIndex
rw-r--r-. 1 uu01 WBJIAO 204K Nov 23 21:32 ecoli-soap.contigPosInscaff
rw-r--r-. 1 uu01 WBJIA0
                             30M Nov 23 21:30 ecoli-soap.edge.gz
rw-r--r--. 1 uu01 WBJIA0
                               0 Nov 23 21:32 ecoli-soap.gapSeq
-rw-r--r--. 1 uu01 WBJIAO 1.1K Nov 23 21:30 ecoli-soap.kmerFreq
rw-r--r--. 1 uu01 WBJIAO 2.9M Nov 23 21:32 ecoli-soap.links
rw-r--r--. 1 uu01 WBJIAO 3.8M Nov 23 21:31 ecoli-soap.markOnEdge
rw-r--r-. 1 uu01 WBJIAO 1.2M Nov 23 21:32 ecoli-soap.newContigIndex
rw-r--r-. 1 uu01 WBJIA0
                             91M Nov 23 21:31 ecoli-soap.path
 rw-r--r--. 1 uu01 WBJIA0
                              41 Nov 23 21:32 ecoli-soap.peGrads
 rw-r--r-. 1 uu01 WBJIA0
                             22M Nov 23 21:31 ecoli-soap.preArc
 rw-r--r-. 1 uu01 WBJIA0
                             78 Nov 23 21:31 ecoli-soap.preGraphBasic
 rw-r--r-- 1 uu01 WBJIA0
                             41M Nov 23 21:32 ecoli-soap.readInGap.gz
                             20M Nov 23 21:32 ecoli-soap.readOnContig.gz
rw-r--r--. 1 uu01 WBJIA0
rw-r--r-. 1 uu01 WBJIAO 1.6M Nov 23 21:32 ecoli-soap.scaf
rw-r--r--. 1 uu01 WBJIAO 270K Nov 23 21:32 ecoli-soap.scaf gap
rw-r--r-. 1 uu01 WBJIAO 7.4M Nov 23 21:32 ecoli-soap.scafSeq
-rw-r--r--. 1 uu01 WBJIAO 1.7K Nov 23 21:32 ecoli-soap.scafStatistics
-rw-r--r--. 1 uu01 WBJIAO 6.2M Nov 23 21:31 ecoli-soap.updated.edge
rw-r--r-. 1 uu01 WBJIA0
                             14M Nov 23 21:31 ecoli-soap.vertex
-rw-----. 1 uu01 WBJIAO 10K Nov 23 21:32 nohup.out
```

使用 canu 组装 Nanopore 测序读段

```
[uu01@localhost canu-ont]$ pwd
/home/uu01/01_zzd/canu-ont
[uu01@localhost canu-ont]$ date
Thu Nov 24 14:12:27 CST 2022
[uu01@localhost canu-ont]$ ls -lh
total 64M
drwxr-xr-x. 2 uu01 WBJIA0
                               67 Nov 23 21:36 canu-logs
drwxr-xr-x. 2 uu01 WBJIA0
                               10 Nov 23 21:36 canu-scripts
drwxr-xr-x. 7 uu01 WBJIAO
                              263 Nov 23 21:44 correction
rw-r--r-. 1 uu01 WBJIAO 4.5M Nov 23 21:47 ecoli-ont.contigs.fasta
 rw-r--r-. 1 uu01 WBJIAO 313K Nov 23 21:47 ecoli-ont.contigs.layout.readToTig
 rw-r--r-. 1 uu01 WBJIA0
                              226 Nov 23 21:47 ecoli-ont.contigs.layout.tigInfo
 rw-r--r-. 1 uu01 WBJIA0
                              30M Nov 23 21:44 ecoli-ont.correctedReads.fasta.gz
rw-r--r--. 1 uu01 WBJIA0
                              41K Nov 23 21:47 ecoli-ont.report
drwxr-xr-x. 5 uu01 WBJIAO 4.0K Nov 23 21:45 ecoli-ont.seqStore
-rw-r--r-. 1 uu01 WBJIAO 738 Nov 23 21:36 ecoli-ont.seqStore.err
-rwxr-xr-x. 1 uu01 WBJIAO 925 Nov 23 21:36 ecoli-ont.seqStore.sh
 rw-r--r--. 1 uu01 WBJIA0
                              29M Nov 23 21:45 ecoli-ont.trimmedReads.fasta.gz
 rw-r--r--. 1 uu01 WBJIA0
                              14K Nov 23 21:47 ecoli-ont.unassembled.fasta
 rw-----. 1 uu01 WBJIAO
                              81K Nov 23 21:47 nohup.out
drwxr-xr-x. 6 uu01 WBJIAO
                              199 Nov 23 21:45 trimming
drwxr-xr-x. 9 uu01 WBJIAO 4.0K Nov 23 21:46 unitigging
```

使用 hifiasm 组装 PacBio HiFi 测序数据

```
[uu01@localhost hifiasm]$ pwd
/home/uu01/01_zzd/hifiasm
[uu01@localhost hifiasm]$ date
Thu Nov 24 14:13:42 CST 2022
[uu01@localhost hifiasm]$ ls -lh
total 2.6G
 rw-r--r--. 1 uu01 WBJIAO 5.0M Nov 24 07:01 ecoli-hifi.bp.hap1.p ctg.gfa
 rw-r--r-. 1 uu01 WBJIAO 8.6K Nov 24 07:01 ecoli-hifi.bp.hap1.p ctg.lowQ.bed
 rw-r--r-. 1 uu01 WBJIAO 508K Nov 24 07:01 ecoli-hifi.bp.hap1.p ctg.noseq.gfa
 rw-r--r-. 1 uu01 WBJIAO 5.0M Nov 24 07:01 ecoli-hifi.bp.hap2.p_ctg.gfa
 rw-r--r-. 1 uu01 WBJIAO 8.6K Nov 24 07:01 ecoli-hifi.bp.hap2.p_ctg.lowQ.bed
 rw-r--r--. 1 uu01 WBJIAO 504K Nov 24 07:01 ecoli-hifi.bp.hap2.p_ctg.noseq.gfa
rw-r--r--. 1 uu01 WBJIAO 5.0M Nov 24 07:01 ecoli-hifi.bp.p_ctg.gfa
rw-r--r--. 1 uu01 WBJIAO 8.6K Nov 24 07:01 ecoli-hifi.bp.p_ctg.lowQ.bed
 rw-r--r-. 1 uu01 WBJIAO 501K Nov 24 07:01 ecoli-hifi.bp.p_ctg.noseq.gfa
 rw-r--r-. 1 uu01 WBJIAO 5.2M Nov 24 07:01 ecoli-hifi.bp.p_utg.gfa
 rw-r--r-. 1 uu01 WBJIAO 19K Nov 24 07:01 ecoli-hifi.bp.p_utg.lowQ.bed
 rw-r--r-. 1 uu01 WBJIAO 502K Nov 24 07:01 ecoli-hifi.bp.p_utg.noseq.gfa
 rw-r--r-. 1 uu01 WBJIAO 5.2M Nov 24 07:01 ecoli-hifi.bp.r utg.gfa
                                 19K Nov 24 07:01 ecoli-hifi.bp.r utg.lowQ.bed
 rw-r--r--. 1 uu01 WBJIA0
 rw-r--r-. 1 uu01 WBJIAO 502K Nov 24 07:01 ecoli-hifi.bp.r_utg.noseq.gfa
 rw-r--r-. 1 uu01 WBJIAO 337M Nov 24 06:59 ecoli-hifi.ec.bin rw-r--r-. 1 uu01 WBJIAO 4.6M Nov 24 07:00 ecoli-hifi.ovlp.reverse.bin rw-r--r-. 1 uu01 WBJIAO 2.2G Nov 24 07:00 ecoli-hifi.ovlp.source.bin rw-r--r-. 1 uu01 WBJIAO 4.5M Nov 24 13:06 ecoli-hifi.p_ctg.fa
               1 uu01 WBJIAO 97K Nov 24 07:01 nohup.out
```

比较 canu 的 ONT 组装和 hifiasm 的 hifi 组装

SNP 数量: 1018indel 数量: 4702

Data	
snps	5720 obs. of 14 variables
Values	
indel.num	4702L
snps.num	1018L

讨论

在这次上机实验中熟悉掌握了几种基因组组装软件和基因组比对工具。