

Remote guppy basecalling

Die einfachere Lösung ist: Daten auf den prom computer kopieren (mit `cp /Ordner/mit/Daten /mnt/promdata/`), dann basecalling in der MinKNOW software nach dieser Anleitung:

https://community.nanoporetech.com/protocols/experiment-companion-minknow/v/mke_1013_v1_revbn_11apr2016/post-run-basecalling

Damit geht auch Super Accurate

Einstellungen:

compress fastq files: ja, Output fast5 files: nein, trim barcodes: ja, barcode both ends: nein, mid read barcodes: nein, minimum barcoding score: 60
barcode kit angeben, auch wenn die fast5 files schon demultiplexed sind

Settings on the PromethION computer (server side):

Muss nicht jedes Mal gemacht werden, der Server läuft dauerhaft im Hintergrund und startet vermutlich automatisch beim Einschalten des Prom Computers.

1. List all the config files:

```
ls /opt/ont/guppy/data/
```

2. For high accuracy basecalling we can choose

```
dna_r9.4.1_450bps_hac.cfg
```

3. Set guppy_basecall_service:

```
guppy_basecall_server \  
--config /opt/ont/minknow/guppy/data/dna_r9.4.1_450bps_hac.cfg \  
--log_path /var/log/minknow/guppy/ \  
--port 5555 \  
--ipc_threads 16 \  
--num_callers 8 \  
-x cuda:all
```

On the Workstation computer (client side):

4. Run basecalling on the workstation (client side):

```
guppy_basecall_client \  
--input_path reads \  
--save_path output_folder/basecall \  
--config dna_r9.4.1_450bps_hac.cfg \  
--port 169.254.24.35:5555
```

Use other ports, e.g. 5556 in case this one is busy. After finishing, stop the server (only after using another port than 5555).

Useful links:

https://community.nanoporetech.com/protocols/Guppy-protocol/v/gpb_2003_v1_revq_14dec2018/guppy-basecall-server

Anmerkung: In der ursprünglichen Version von Angel hieß der Befehl "guppy_basecaller" statt "guppy_basecall_client". Dann kommt aber eine Fehlermeldung, dass --port kein valider Parameter ist

Anmerkung:

Um das basecalling für alle barcodes zu machen, muss man als input den übergeordneten Ordner und zusätzlich --recursive eingeben. Mit der Option --recursive wird das komplette Verzeichnis nach fast5s durchsucht.

z.B. folgenden Befehl:

```
guppy_basecall_client --input_path fast5_pass --recursive --save
path basecall_all --config dna_r.9.4.1_450bps_hac.cfg --port
169.254.24.35:5555
```

Anmerkung:

-tGuppy auf der Workstation aktualisieren:

https://community.nanoporetech.com/protocols/Guppy-protocol/v/gpb_2003_v1_revx_14dec2018/linux-guppy

On the Workstation - demultiplexing

This step can also be done on the prom to use the GPUs... to see available kits

```
guppy_barcode -print_kits
```

To do demultiplexing

```
guppy_barcode -t 112 -i fastq --compress_fastq --save_path fastq_demux -q 0
--barcode_kits EXP-NBD104
```

"fastq": Ordner mit den fastq files

"barcode_kits" entsprechend anpassen

To run pycoQC on this

```
pycoQC -f fastq/sequencing_summary.txt -b fastq_demux/barcoding_summary.txt -o
pycoQC_barcoding.html
```

