

fastp ile Okuma Kalite Kontrolü ve Cutadapt ile Ön İşlem

Bu konu ile ilgili ekran görüntülerini 02_04 numaralı dökümanda bulabilirsiniz.

fastp aracı, aynı FastQC gibi okuma kalitelerinin incelendiği (hatta daha çok veri sunan) bir araçtır. FastQC'den daha pratiktir ve kullanışlıdır.

Cutadapt aracı, okumalara ön işlem uygulamak için kullanılır. Örneğin belirli uzunluktaki, kalitedeki veya derinlikteki okumalar seçilebilir, adaptörler kesilebilir...

Maddelerin başındaki sayılar, ilgili sunumun sayfa sayısını temsil etmektedir.

30. slayt, tüm sürecin pipeline özetidir, çalışmaya başlamadan önce burayı incelemeniz önerilir.

Veri Yükleme

- 3: Öncelikle çift yönlü okumalarımızı tarihçeye indirelim. Burada, hazır bilgisayara kaydedilmiş okumalar "Upload data" aracı ile tarihçeye eklenmiştir.
- 4, 5, 6: Choose local files butonuna tıkladığınızda bilgisayarda okularınızın kaydedildiği yere ulaşırsınız. Seçim yaptıktan sonra Start tuşuna basarak yüklemeyi başlatabilirsiniz. Yükleme takibi edin, hepsi problemsiz bir şekilde tamamlandıysa Close tuşu ile paneli kapatın.

Kalite Kontrol

- 8: Tools panelinden fastp aracını seçin. Bu araç FastQC'den farklı olarak girdileri tek tek alıp çok basamakta işlemek yerine her iki okumayı da alıp tek seferde işlemektedir.
- 9: "Single end or paired ends" kısmını "Paired" olarak seçtikten sonra sayfa iki girdi eklenecek şekilde değişecektir.
- 10, 11, 12: Input 1 kısmına xxxx_1 (forward/ileri okuma) dosyasını, input 2 kısmına ise xxxx_2 (reverse/geri okuma) dosyasını ekleyin. "Execute" tuşuna basarak işlemi başlatın. Eğer süreç problemsiz ilerlediyse tarihçenizde bütün çıktılar yeşil görünecektir.
- 13: HTML report çıktınızda göz işaretine tıkladığınızda okuma kalite raporu görüntülenir. Aynı kısımda "download" tuşuna bastığınızda bu çıktı bilgisayarınıza indirilir ki fastp çıktısı bilgisayar üzerinde eksiksiz olarak görülebilmektedir. Bilgisayarda bu dosyayı açıp kalite raporunu inceleyebilirsiniz.

*FastQC Hatırlatma

- 15, 16, 17, 18: Aynı işlemi daha az pratik bir şekilde FastQC aracı ile de yapabilirsiniz. Bu araçta hem ileri yönlü hem de geri yönlü olmak üzere ayrı ayrı çalışmanız gerekir. Buraya, bu aracın uygulaması hatırlatma amacı ile eklenmiştir.

Ön işlem

- 20: Okumalarımızı ön işlemden geçirelim. Cutadapt aracını seçiniz, tekrar "Single end or paired end reads" kısmını paired end olarak seçiniz. Araç sizden fastp/fastq çıktılarının ileri ve geri yönlü okuma versiyonlarını isteyecektir. Dosyalarınızı öncesine benzer bir mantıkla uygun olarak araca aktarınız.
- 21: Sayfada aşağıya indikçe, okumalar üzerinde yapabileceğiniz modifikasyonları görebilirsiniz. Burada örnek olarak "en az 20 uzunluktaki okumaları al" işlemi yapılmıştır. Normalde, önceki fastp raporunda gözlemlediğiniz "anormallikleri" gidermeye veya azaltmaya yönelik işlem yapılmalıdır.
- 22: "Execute" tuşuna basarak işlemi başlatın.
- 23, 24: İşlem tamamlandıktan sonra iki tane çıktınız olacaktır. Bu çıktıları göz işaretine tıklayarak inceleyebilirsiniz.

İkinci Kalite Kontrol

- 26, 27, 28, 29: İşlemin başarısını ve gerçekleşen değişiklikleri gözlemek için tekrar bir kalite kontrol raporu işlemi yapın. Bu şekilde okumaların daha sonraki süreçlere dahil edilebilecek düzeyde temizlenip temizlenmediğini tespit edebilir; gerekirse temizleme işlemi tekrar uygulayabilirsiniz.