

16S rRNA データ解析手順

1. 16S rRNA解析は、amplicon rRNA データ解析プラットフォーム qiime2 [version 2023.9] を用いて行いました。
2. 取得したfastqに対し、bbduk.sh [version 39.01]を用いてアダプター配列のトリミング、低品質リードの除去を行いました。指定しているオプションは、ktrim=r ref=adapters k=23 mink=11 hdist=1 tpe tbo qtrim=r rimq=10 minlength=40 maxns=1 minavgquality=15 となります。
3. DADA2 denoise-paired により品質管理およびフィーチャーテーブルの構築を行いました。指定しているオプションは、--p-trim-left-f 20 --p-trim-left-r 5 --p-trunc-len-f 0 --p-trunc-len-r 250 となります。
4. DADA2 により決定された代表配列を用いて、feature-classifier classify-sklearn により生物系統を推定しました。参照しているデータベースは、SILVA 138の99%クラスタリングデータです。
5. 推定された生物系統データを用いて、taxa collapse により、domain, phylum, class, order, family, genus, species レベルのフィーチャーテーブルを作成しました。
6. 推定された生物系統データを用いて、taxa barplot により、生物系統を棒グラフで可視化しました。
7. DADA2により決定された代表配列を用いて、phylogeny align-to-tree-mafft-fasttree により 系統樹を構築しました。オプションはデフォルトとなります。
8. 系統樹およびフィーチャーテーブルを用いて、diversity core-metrics-phylogenetic により多様性メトリクスを作成しました。オプション--p-sampling-depthにはnon-chimericリード数の最小値を指定しました。
9. 提供する α 多様性は、Shannon's diversity index, Observed Features, Faith's Phylogenetic Diversity, Evenness の4種類です。
10. 提供する β 多様性は、Jaccard, Bray-Curtis, unweighted UniFrac, weighted UniFrac の4種類です。