同一份 10x 文库分了两条 lane 测序，为什么不能各算一份样本?

把 FASTQ 名称拆成文库、lane、读端和分块，逐个检查 R1/R2 是否配齐，再生成按物理文库组织的 Cell Ranger 输入清单。



运行教学示例

Python 3.10 或以上，仅使用标准库。检查可以离线运行；生成的 Cell Ranger 命令需真实参考、FASTQ 和对应软件。

```
python run.py --input example --out results
```

在解压后的资料包根目录运行。example 是教学输入，results 保存本次输出，expected 保存可供核对的参考结果。

输入字段

runs.tsv 每行一个交付目录与 FASTQ 前缀，填写真实的捕获编号、文库编号及供者。

files.tsv 每行一个相对路径，须与交付目录、样本前缀、lane、读端和分块对应。

example/fastqs 故意保留一组缺失 R2 的教学微型 FASTQ，仅用于演练配对。

核对输出，再换自己的数据

pairs.tsv 逐目录、前缀、lane 和分块列出读端配对状态。

libraries.tsv 每个捕获对应的物理文库、可用读段对、lane 和阻塞原因。

commands.txt 为输入完整的常规 3′ 表达文库生成可读的 Cell Ranger 命令模板。

用示例验算

1 L_A 汇合两个 lane，得到 2 组配对读段，仍只对应一次捕获。

2 L_B 和 L_A 来自同一位患者但来自不同捕获，分别生成计数任务。

3 L_C 的一组 R2 缺失，保留问题记录且不生成该库命令。

换用真实数据

先从测序交付记录确定每一批 FASTQ 归属的物理文库，再把目录及文件前缀填进 runs.tsv。对于不同目录下相同的 lane 编号，目录也参与配对键。把输入目录放在清单根目录下或按实际目录重建相同相对路径。

示例限定常规 10x 基因表达单文库、同一文库的前缀一致。混合 feature barcode、Flex 等实验应按平台文档走相应 multi 流程。教学读段不用于比对或生成表达矩阵。

方法资料

10x 如何指定输入 FASTQ

Cell Ranger count 官方流程