上机实验报告

姓名：祝海涛
学号：024415910010

（**Lab report： please finish the following tasks and submit your report to course website**）

在超算/lustre/share/class/BIO8402/lab/data/路径下，拟南芥 illumina 测序数据为SRR5029637.fasta，拟南芥参考基因组 GCF_000001735.3_TAIR10_genomic.fna 及用 makeblastdb 所建 index，用 BLAST 2.5.0+(blastn)进行比对。
(In Pi2.0, please use makeblastdb to create a database for blast program. Data are under /lustre/share/class/BIO8402/lab/data/, including illumine sequencing data SRR5029637.fasta, the reference genome for Arabidopsis is GCF_000001735.3_TAIR10_genomic.fna. Use BLAST 2.5.0+(blastn) for sequence alignment.)

测序数据：
/lustre/share/class/BIO8402/lab/data/SRR5029637.fasta

```
[stu542@pilogin4 RNA]$ cat /lustre/share/class/BIO8402/lab/data/SRR5029637.fasta | head -n 10
>SRR5029637.1 SEQCORE-1795804:236:HWKKCADXX:1:1101:1245:2059 length=101
AANGCCAAAGACTCATACGGACTTTGGCTACACCATGAAAGCTTTGAGAAGCTAGAAGAAGGTTGGTTAG
TGTTTTGGAGTCGAATATGACTTGATGTCAT
>SRR5029637.2 SEQCORE-1795804:236:HWKKCADXX:1:1101:1185:2076 length=101
ATCCATATTATGCAAGGAGACATTGCTTTTGCTAATTCGAATTGAAGGGTGNTATAAAATCGGTCTATTT
CCAACATCATATCCATAGTTAGCGCATTCAT
>SRR5029637.3 SEQCORE-1795804:236:HWKKCADXX:1:1101:1158:2093 length=101
CTTTGATTATAGATAGAAGAGACCTTAGAGGGCCATCTCAGCCTGTAATGCNGCGAGTTCTTCTTCCTCA
GCAGTCCGCTTCTGGGGAACAGGACGAGCCG
>SRR5029637.4 SEQCORE-1795804:236:HWKKCADXX:1:1101:1358:2058 length=101
[stu542@pilogin4 RNA]$
```

参考基因组：/lustre/share/class/BIO8402/lab/data/GCF_000001735.3_TAIR10_genomic.fna

```
[stu542@pilogin4 RNA]$ cat /lustre/share/class/BIO8402/lab/data/GCF_000001735.3_TAIR10_genomic.fna | head -n 10
>NC_003070.9 Arabidopsis thaliana chromosome 1 sequence
ccctaaaccctaaaccctaaaccctaaacctctGAATCCTTAATCCCTAAATCCCTAAATCTTTAAATCCTACATCCATG
AATCCCTAAATACCTAAttccctaaacccgaaaccggTTTCTCTGGTTGAAAATCATTGTGtatataatgataatttttat
CGTTTTTATGTAATTGCTTATTGTTGTGtgtagatttttttaaaaatatcatttgagGTCAATACAAATCCTATTTCTTGT
GGTTTTCTTTCCTTCACTTAGCTATGGATGGTTTATCTTCATTTGTTATATTGGATACAAGCTTTGCTACGATCTACATT
TGGGAATGTGAGTCTCTTATTGTAACCTTAGGGTTGGTTTATCTCAAGAATCTTATTAATTGTTTGGACTGTTTATGTTT
GGACATTTATTGTCATTCTTACTCCTTTGTGGAAATGTTTGTTCTATCAATTTATCTTTTGTGGgaaaattatttagttg
taGGGATGAAGTCTTTCTTCGTTGTTGTTACGCTTGTCATCTCATCTCTCAATGATATGGGATGGTCCTTTAGCATTTAT
TCTGAAGTTCTTCTGCTTGATGATTTTATCCTTAGCCAAAAGGATTGGTGGTTTGAAGACACATCATATCAAAAAAGCTA
TCGCCTCGACGATGCTCTATTTCTATCCTTGTAGCACACATTTTGGCACtcaaaaaagtatttttagatgtttgttttgc
[stu542@pilogin4 RNA]$
```

makeblastdb 所建 index
BLAST 2.5.0+(blastn)

1） 请填写数据量大小?（10 分）
(what is the size of the input file?, 10 points)
文件大小(file size)：5.8G
read 数 (read number)： **33884651**
每条 read 长度(the read length)：101 （python和record同）

```
[stu542@pilogin4 RNA]$ ls -lh /lustre/share/class/BIO8402/lab/data/SRR5029637.fasta
-rw-rwxr--+ 1 stu438 stu438 5.8G Mar  5  2024 /lustre/share/class/BIO8402/lab/data/SRR5029637.fasta
[stu542@pilogin4 RNA]$
```

```
[stu542@pilogin4 data]$ tree -h .
.
├── [ 4.0K]  AS
│   ├── [  835]  AS.nhr
│   ├── [  184]  AS.nin
│   └── [  29M]  AS.nsq
├── [  45M]  chr21.fa
├── [ 116M]  GCF_000001735.3_TAIR10_genomic.fna
├── [ 9.3G]  m54113_160913_184949.subreads.bam
├── [ 5.8G]  SRR5029637.fasta
├── [ 5.5G]  SRR5231434.fastq
├── [ 1.2G]  SRR5231434.fastq.gz
├── [ 1.4G]  SRR5811639.fastq.gz
└── [  14M]  wget-log

1 directory, 11 files
[stu542@pilogin4 data]$
```

```
[stu542@pilogin4 data]$ grep ">" /lustre/share/class/BIO8402/lab/data/SRR5029637.fasta  | wc -l
33884651
[stu542@pilogin4 data]$
```

```
>SRR5029637.1 SEQCORE-1795804:236:HWKKCADXX:1:1101:1245:2059 length=101
AANGCCAAAGACTCATACGGACTTTGGCTACACCATGAAAGCTTTGAGAAGCTAGAAGAAGGTTGGTTAG
TGTTTTGGAGTCGAATATGACTTGATGTCAT
>SRR5029637.2 SEQCORE-1795804:236:HWKKCADXX:1:1101:1185:2076 length=101
ATCCATATTATGCAAGGAGACATTGCTTTTGCTAATTCGAATTGAAGGGTGNTATAAAATCGGTCTATTT
CCAACATCATATCCATAGTTAGCGCATTCAT
>SRR5029637.3 SEQCORE-1795804:236:HWKKCADXX:1:1101:1158:2093 length=101
CTTTGATTATAGATAGAAGAGACCTTAGAGGGCCATCTCAGCCTGTAATGCNGCGAGTTCTTCTTCCTCA
GCAGTCCGCTTCTGGGGAACAGGACGAGCCG
>SRR5029637.4 SEQCORE-1795804:236:HWKKCADXX:1:1101:1358:2058 length=101
[stu542@pilogin4 data]$ python3
Python 3.6.8 (default, Feb  5 2024, 01:17:28)
[GCC 8.5.0 20210514 (kos 8.5.0-10.0.2)] on linux
Type "help", "copyright", "credits" or "license" for more information.
>>> len("AANGCCAAAGACTCATACGGACTTTGGCTACACCATGAAAGCTTTGAGAAGCTAGAAGAAGGTTGGTTAGTGTTTTGGAGTCGAATATGACTTGATGTCAT")
101
>>>
```

2）blastn 支持 MPI 吗？若不支持，为保证在同一个节点上计算，当指定核数-n 大于等于 2 时，超算上要和哪个参数一起使用？（10 分）

(Does blastn support MPI? If not, what parameter you need to use to ensure your task will run in one node if you use option -n >= 2?)

Blastn不支持跨节点计算MPI；

★区分-n 和--ntasks-per-node **(Note：-n and --ntasks-per-node is different)**

②当任务**不支持** MPI **时**时，假如要指定 cpu 节点 8 个核，-n 和--ntasks-per-node 要一起使用才能**保证 8 个核心都来自同一个节点上**。

（If MPI is not required for a task, if you want to assign 8 cores to a cpu node, you should use options -n and -ntasks-per-node simultaneously to ensure the 8 cores are from the same node.）

```
#SBATCH -n 8
#SBATCH --ntasks-per-node=8
```

-n和--ntasks-per-node参数一起用

3) 选择什么参数? （20 分）

(Which parameter should you choose?, 20 points)

将拟南芥测序数据 SRR5029637.fasta 与其参考基因组进行 blastn 比对，

在给定条件下选择 slurm 作业参数：任务名为 blastn，指定核数为 8，指定最大虚拟内存数为 200G，作业结束后发邮件通知，希望输出报错文件。

请在要选择的参数处 √，需要填写具体数目的请填写。

（Please align a sequence file SRR5029637.fasta to the Arabidopsis reference genome using blastn. Choose the slurm parameters as required: task name as blastn, number of cores 8, maximum verture memory 200GB, send a mail after task finishs, output an error file. Please put a √ if you need to specify this parameter and fill the cell with a value if needed.）

参数(parameters)	是否选择及数目(parameter value)
#!/bin/bash #SBATCH --job-name=fastqc	√，blastn
#SBATCH --partition=cpu	√，huge
#SBATCH -n 16	√，8
#SBATCH --ntasks-per-node=16	√，8
#SBATCH --mail-type=end	√，结束时通知
#SBATCH --mail-user=[your_mail_address]	√，zht161932@sjtu.edu.cn
#SBATCH --output=%j.out	√，普通输出log
#SBATCH --error=%j.err	√，错误输出文件

Pi2.0 中的队列
1）cpu 允许单作业 CPU 核数为 1~24000，每核配比 4G 内存，节点可共享使用；单节点配置为 40 核，192G 内存
2）huge 允许单作业 CPU 核数为 1~80，每核配比 35G 内存，节点可共享使用；单节点配置为 80 核，3T 内存
3）192c6t 允许单作业 CPU 核数为 1~192，每核配比 31G 内存，节点可共享使用；单节点配置为 192 核，6T 内存

因为是使用cpu队列，
指定最大虚拟内存数为 200G
而每核配比4G内存，所以我们需要申请50核，但是单节点配置最多就是40核，需要多节点
因为blastn不支持MPI，
所以我们用其他队列，比如说是huge——》在限制8核内，每个核起码25G内存
-n以及-ntasks-per-node

4）阅读以下实例分析，考虑应该选择的线程数 （10）
(read the analysis below and give the number of threads you need to set. 10 points)

拟南芥 pacbio 测序数据 subreads-A01.fasta（数据文件未提供），数据量大小：5.2G，reads 数目：561176，每条 read 长度不等，碱基总数：748508361。用 BLAST 2.5.0+与拟南芥参考基因组进行比对，在用整个文件比对前首先用小文件进行测试，选择最重要的参数-n=？-num_threads=?

BLAST 2.5.0+(blastn)

```
[stu542@pilogin3 RNA]$ blastn -help | grep " -n"
 -num_descriptions <Integer, >=0>
 -num_alignments <Integer, >=0>
 -negative_gilist <String>
 -negative_seqidlist <String>
 -negative_taxids <String>
 -negative_taxidlist <String>
 -no_greedy
 -num_threads <Integer, >=1>
[stu542@pilogin3 RNA]$
```

```
[stu542@pilogin3 RNA]$ module load blast-plus
[stu542@pilogin3 RNA]$ blastn
BLAST query/options error: Either a BLAST database or subject sequence(s) must be specified
Please refer to the BLAST+ user manual.
[stu542@pilogin3 RNA]$
```

在本例中，选择了 100 条 reads、561 条 reads 和 1000 条 reads 三个文件分别进行 blastn 比对，选择核数分别为 1，2，4，8，16，线程参数选择为 1，2，4，8，16，32，64，统计出在固定核和固定线程下的计算时间，然后估算出相应参数下整个文件 subreads-A01.fasta 计算完成的时间，并计算出在相应参数下的计算核时。

Supporse we have a sequence file subreads-A01.fasta (data file not provided), the size of the file: 5.2GB, the number of reads: 561176, the length for each read is different, and the total number of bases: 748508361. If you want to align this file to the Arabidopsis reference genome using BLAST 2.5.0+， before you use the whole file you want to test the pipeline with a smaller file. Please choose two important parameters -n=? and -num_tread=?)

100 条reads 的计算时间（s）（computing time for 100 reads）

thread / core	1	2	4	8	16	32	64
n1	460	462	462	463	463	463	463
n2		330	267	257	277	262	259
n4			207	205	207	201	199
n8				196	192	191	191
n16					188	190	190

561 条reads 的计算时间（s）（computing time for 561 reads）

thread / core	1	2	4	8	16	32	64
n1	1220	1340	1354	1350	1345	1343	1229
n2		753	765	776	778	800	765
n4			623	598	573	570	578
n8				522	517	517	517
n16					505	502	503

1000 条reads 的计算时间（s）（computing time for 1000 reads）

thread / core	1	2	4	8	16	32	64
n1	2409	2420	2432	2436	2429	2428	2431
n2		1334	1389	1357	1342	1365	1383
n4			1032	1012	996	1007	1005
n8				937	929	932	931
n16					909	910	912

根据 100 条reads 测试结果估算原文件的计算时间（h）
（Estimated computing time （hours）based on 100 reads）

thread / core	1	2	4	8	16	32	64
n1	717.06	720.18	720.18	721.73	721.73	721.73	721.73
n2		514.41	416.21	400.62	431.79	408.41	403.73
n4			322.68	319.56	322.68	313.32	310.21
n8				305.53	299.29	297.74	297.74
n16					293.06	296.18	296.18

根据 561 条reads 测试结果估算原文件的计算时间（h）
（Estimated computing time （hours）based on 561 reads）

thread / core	1	2	4	8	16	32	64
n1	339.00	372.34	376.23	375.12	373.73	373.17	341.50
n2		209.23	212.57	215.62	216.18	222.29	212.57
n4			173.11	166.16	159.22	158.38	160.61
n8				145.05	143.66	143.66	143.66
n16					140.32	139.49	139.77

根据 1000 条 reads 测试结果估算原文件的计算时间（h）
（Estimated computing time （hours）based on 1000 reads）

thread / core	1	2	4	8	16	32	64
n1	375.52	377.23	379.11	379.73	378.64	378.48	378.95
n2		207.95	216.52	211.53	209.19	212.78	215.59
n4			160.87	157.75	155.26	156.97	156.66
n8				146.06	144.81	145.28	145.13
n16					141.70	141.85	142.16

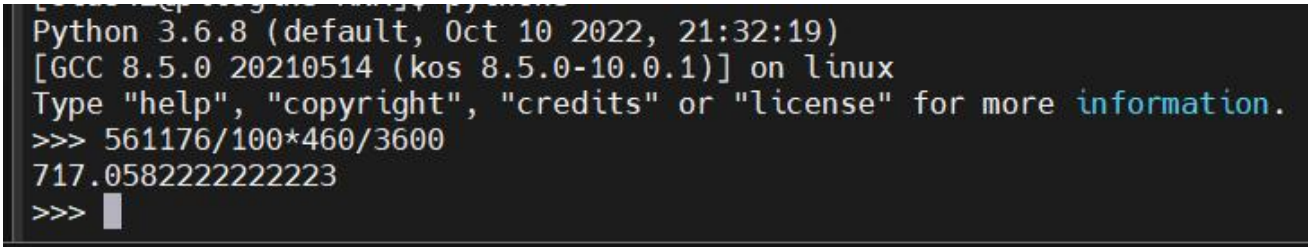
根据 561 条 reads 测试结果估算原文件的计算核时（h）
（Estimated computing core hours based on 561 reads）

thread / core	1	2	4	8	16	32	64
n1	339.00	372.34	376.23	375.12	373.73	373.17	341.50
n2		418.46	425.13	431.25	432.36	444.58	425.13
n4			692.44	664.65	636.87	633.53	642.42
n8				1160.36	1149.25	1149.25	1149.25
n16					2245.15	2231.81	2236.26

根据 1000 条 reads 测试结果估算原文件的计算核时（h）
（Estimated computing core hours based on 1000 reads）

根据 1000 条 reads 测试结果估算原文件的计算核时

thread / core	1	2	4	8	16	32	64
n1	375.52	377.23	379.11	379.73	378.64	378.48	378.95
n2		415.89	433.04	423.06	418.39	425.56	431.17
n4			643.48	631.01	621.03	627.89	626.65
n8				1168.49	1158.52	1162.26	1161.01
n16					2267.15	2269.65	2274.63



从统计结果可以看出，

①从估算出的整个文件 subreads-A01.fasta 比对完成的时间来看，561 条和 1000 条统计出的时间几乎一样，而用 100 条估算出的时间与它们相差较大，可能原因为当条数很少时计算时间并不占主要时间，因此**不可以选择 100 条 reads 当作测试文件**。

②当**核数为 1** 时，线程为 1 计算最快，在此例子中**线程增加没有加快计算速度**。

③当**核数大于 1** 时，程序实现真正的并行计算，当核数增加时，速度变快，但增速的速度会变慢，从核数 1 到核数 2 速度接近变为 2 倍，从核数 8 到核数 16 速度只变快非常少，因此用 16 个核是非常浪费的，**应该在核数 2，4，8 中选择**。

④在核数 2，4，8 的计算时间对比中，考虑到速度排除核数 2，因为核数 4 和 8 比核数 2 时要快四五十个小时。**核数 4 和 8 中，虽然当指定 8 个核时速度有所提升，但相对差别不大，而计算核时却大大提高**。

问题：从速度和经济的综合考虑，这个任务最好应该选择____4__个核，__16__个线程。

5）你会怎么选择？（How will you choose?）50 points

请在教学服务器上进行以下计算，请用上述提到的拟南芥 illumina 测序数据 SRR5029637.fasta 与其参考基因组进行 blastn 比对，命令行如下：

(Please align the sequence file above to the abrabidopsis reference genome using blastn with the command line below:)

```
echo -e " -n2-threads2 starts at `date`.\n" >>n2.log
start=$(date +%s)
blastn -task blastn -query query.fasta -db index -evalue 1e-5 -outfmt 7 –max_target_seqs 1 -num_threads 2 -out 2.blastn
end=$(date +%s)
time=$(( $end - $start ))
echo -e "difftime is $time\n" >>n2.log
echo -e " -n2-threads2 ends at `date`.\n" >>n2.log
```

解读：

```
[stu542@pilogin4 ~]$ blastn -help | grep -A 3 " -task"
 -task <String, Permissible values: 'blastn' 'blastn-short' 'dc-megablast'
                'megablast' 'rmblastn' >
   Task to execute
   Default = `megablast'
```

```
[stu542@pilogin4 ~]$ blastn -help | grep -A 3 " -query"
 -query <File_In>
   Input file name
   Default = `-'
 -query_loc <String>
   Location on the query sequence in 1-based offsets (Format: start-stop)
 -strand <String, `both', `minus', `plus'>
   Query strand(s) to search against database/subject
[stu542@pilogin4 ~]$
```

```
[stu542@pilogin4 ~]$ blastn -help | grep -A 3 " -db"
 -db <String>
   BLAST database name
    * Incompatible with:  subject, subject_loc
```

```
[stu542@pilogin4 ~]$ blastn -help | grep -A 3 " -evalue"
 -evalue <Real>
   Expectation value (E) threshold for saving hits
   Default = `10'
```

```
[stu542@pilogin4 ~]$ blastn -help | grep -A 70 " -outfmt"
 -outfmt <String>
   alignment view options:
     0 = Pairwise,
     1 = Query-anchored showing identities,
     2 = Query-anchored no identities,
     3 = Flat query-anchored showing identities,
     4 = Flat query-anchored no identities,
     5 = BLAST XML,
     6 = Tabular,
     7 = Tabular with comment lines,
     8 = Seqalign (Text ASN.1),
     9 = Seqalign (Binary ASN.1),
    10 = Comma-separated values,
    11 = BLAST archive (ASN.1),
    12 = Seqalign (JSON),
    13 = Multiple-file BLAST JSON,
    14 = Multiple-file BLAST XML2,
    15 = Single-file BLAST JSON,
    16 = Single-file BLAST XML2,
    17 = Sequence Alignment/Map (SAM),
    18 = Organism Report
```

```
[stu542@pilogin4 ~]$ blastn -help | grep -A 6 " -max_target_seqs"
 -max_target_seqs <Integer, >=1>
   Maximum number of aligned sequences to keep
   (value of 5 or more is recommended)
   Default = `500'
    * Incompatible with:  num_descriptions, num_alignments

 *** Discontiguous MegaBLAST options
[stu542@pilogin4 ~]$
```

```
[stu542@pilogin4 ~]$ blastn -help | grep -A 6 " -num_threads"
 -num_threads <Integer, >=1>
   Number of threads (CPUs) to use in the BLAST search
   Default = `1'
    * Incompatible with:  remote
```

```
[stu542@pilogin4 ~]$ blastn -help | grep -A 3 " -out"
 -out <File_Out, file name length < 256>
   Output file name
   Default = `-'
```

使用 **-task blastn** 指定基本核酸序列比对，**-query SRR5029637.fasta** 指定待比对序列文件，**-db arabidopsis_index** 指定参考基因组数据库前缀，**-evalue 1e-5** 设置期望值阈值，**-outfmt 7** 输出为表格格式，**-max_target_seqs 1** 限定只保留最高匹配结果1条，**-num_threads 2** 使用 **2** 个线程加快比对，**-out out_2.blastn** 定义结果输出文件；

理论上还是使用第8题中所涉及的数据以及指令，理论上应该seqtk随机提取出50000条reads，然后执行命令之后实际记录时间，但是既然要评估整体运行时间，也可以直接跑全程。
但是下方表格已经给出了数据；
自行脚本处理part见该题尾部

请变换不同的指定核数和线程参数进行计算，并填写以下三张表格中的括号处。

(Please use different number of cores and threads to do the computing and file the three tables below.)

50000 条 reads 的计算时间（s）

The computing time using 50000 reads(seconds)

thread / core	1	2	4	8	16	32	64
n1	1036	652	513	416	418	421	423
n2		646	509	411	412	419	415
n4			509	413	416	417	419

根据 50000 条 reads 测试结果估算原文件的计算时间（h）

The computing time (CPU hours) estimated for the whole file using 50000 reads

thread / core	1	2	4	8	16	32	64
n1	195.02	122.74	96.57	78.31	78.69	79.25	79.63
n2		121.61	95.82	77.37	77.56	78.88	78.12
n4			（95.82）	（77.75）	（78.31）	（78.50）	（78.88）

33884651这个是原文件的reads数目

```
>>> 33884651/50000*1036/3600
195.0249913111111
>>> 33884651/50000*652/3600
122.73773584444446
>>> 33884651/50000*513/3600
96.57125535
>>> 33884651/50000*416/3600
78.31119342222223
>>> 33884651/50000*418/3600
78.68768954444445
>>> 33884651/50000*421/3600
79.25243372777777
>>> 33884651/50000*423/3600
79.62892985
>>>
```

上面是第1行的预估事件计算

然后第3行是：

```
>>> 33884651/50000*509/3600
95.81826310555556
>>> 33884651/50000*413/3600
77.74644923888889
>>> 33884651/50000*416/3600
78.31119342222223
>>> 33884651/50000*417/3600
78.49944148333334
>>> 33884651/50000*419/3600
78.87593760555556
>>>
```

根据 50000 条 reads 测试结果估算的原文件的计算核时

The computing core hours estimated for the whole file using 50000 reads(hours)

thread / core	1	2	4	8	16	32	64
n1	195.02	122.74	96.57	78.31	78.69	79.25	79.63
n2		243.22	191.64	154.74	155.12	157.75	156.25
n4			（383.27）	（310.99）	（313.24）	（314.00）	（315.50）

此处的第3行也就是乘个系数罢了

```
>>> 33884651/50000*509/3600*4
383.27305242222224
>>> 33884651/50000*413/3600*4
310.98579695555554
>>> 33884651/50000*416/3600*4
313.2447736888889
>>>
KeyboardInterrupt
>>> 33884651/50000*417/3600*4
313.99776593333337
>>> 33884651/50000*419/3600*4
315.50375042222225
```

四舍五入保留2位小数

（1） 请填写 n=4 时，估算的计算时间和计算核时。

(If n=4, estimate the cpu hours and core hours for the computing task.)

结果填写如上

（2）根据上述计算结果，你会选择的指定核数为（1），线程参数为（8），此时原文件计算完成估算时间约为（78.31）小时，计算核时为（78.31），如果此为在超算上的计算结果，每个核时 0.05 元，则此计算任务需要花费（3.92）元。

(based on the estimation result, you will choose the number of cores = ( ), number of threads = ( ), the computing time for the whole file will be about ( ) hours, ( ) core hours. Every core hour costs 0.05￥, and the total cost for this computing task (￥)。)

这是仅仅依据计算运行的时间：运行时间角度

根据 50000 条 reads 测试结果估算原文件的计算时间（h）

The computing time (CPU hours) estimated for the whole file using 50000 reads

thread / core	1	2	4	8	16	32	64
n1	195.02	122.74	96.57	78.31	78.69	79.25	79.63
n2		121.61	95.82	77.37	77.56	78.88	78.12
n4			(95.82)	(77.75)	(78.31)	(78.50)	(78.88)

这是仅仅依据运行核时的角度：经济收费角度

根据 50000 条 reads 测试结果估算的原文件的计算核时

The computing core hours estimated for the whole file using 50000 reads(hours)

thread / core	1	2	4	8	16	32	64
n1	195.02	122.74	96.57	78.31	78.69	79.25	79.63
n2		243.22	191.64	154.74	155.12	157.75	156.25
n4			(383.27)	(310.99)	(313.24)	(314.00)	(315.50)

其实运行时间上最佳的几个都差不多，所以要考虑的实际上就是运行核时，在物理运行时间拉不开的情况下，可以选择尽可能的经济

```
>>> 78.31*0.05
3.9155
>>>
```

```
[stu542@pilogin4 blast_time_test]$ sbatch blast_test.slurm
Submitted batch job 42309524
[stu542@pilogin4 blast_time_test]$ squeue
             JOBID PARTITION     NAME     USER ST       TIME  NODES NODELIST(REASON)
          42309524       cpu    blast   stu542 PD       0:00      1 (Priority)
```

```
[stu542@pilogin4 blast_time_test]$ squeue
             JOBID PARTITION     NAME     USER ST       TIME  NODES NODELIST(REASON)
          42309524       cpu    blast   stu542  R       0:18      1 cas027
```

再尝试另外一个脚本，用于seqtk抽取5w条read进行处理：

```
[stu542@pilogin4 5w_test]$ squeue
             JOBID PARTITION     NAME     USER ST       TIME  NODES NODELIST(REASON)
          42310193       cpu     bash   stu542 PD       0:00      1 (AssocMaxJobsLimit)
          42309524       cpu    blast   stu542  R       8:55      1 cas027
[stu542@pilogin4 5w_test]$
```

先cancel

```
[stu542@pilogin4 ~]$ srun -p cpu -n 4 --pty /bin/bash
srun: job 42310193 queued and waiting for resources

srun: job 42310193 has been allocated resources

bash-4.4$
bash-4.4$ module load miniconda3
bash-4.4$ which conda
/lustre/opt/cascadelake/linux-rhel8-skylake_avx512/gcc-8.5.0/miniconda3-24.3.0-3zpgys4jvd5jttc4curqobgdnwpkxawb/condabin/conda
bash-4.4$
```

```
bash-4.4$ mamba
bash: mamba: command not found
bash-4.4$ conda search seqtk
Loading channels: done
No match found for: seqtk. Search: *seqtk*

PackagesNotFoundError: The following packages are not available from current channels:

  - seqtk

Current channels:

  - https://repo.anaconda.com/pkgs/main/linux-64
  - https://repo.anaconda.com/pkgs/main/noarch
  - https://repo.anaconda.com/pkgs/r/linux-64
  - https://repo.anaconda.com/pkgs/r/noarch

To search for alternate channels that may provide the conda package you're
looking for, navigate to

    https://anaconda.org

and use the search bar at the top of the page.


bash-4.4$ conda search -c bioconda  seqtk
Loading channels: done
# Name                       Version           Build  Channel
seqtk                            r75               0  bioconda
seqtk                            r82               0  bioconda
seqtk                            r82               1  bioconda
seqtk                            r93               0  bioconda
seqtk                            1.2               0  bioconda
seqtk                            1.2               1  bioconda
seqtk                            1.3      h5bf99c6_3  bioconda
seqtk                            1.3      h7132678_4  bioconda
seqtk                            1.3      h7132678_5  bioconda
seqtk                            1.3      h84994c4_1  bioconda
seqtk                            1.3      ha92aebf_0  bioconda
seqtk                            1.3      he4a0461_5  bioconda
seqtk                            1.3      he4a0461_6  bioconda
```

先创建环境再测试软件下载

```
bash-4.4$ conda create -y  -n blast4test
Channels:
 - defaults
Platform: linux-64
Collecting package metadata (repodata.json): done
Solving environment: done

## Package Plan ##

  environment location: /lustre/home/acct-stu/stu542/.conda/envs/blast4test



Preparing transaction: done
Verifying transaction: done
Executing transaction: done
#
# To activate this environment, use
#
#     $ conda activate blast4test
#
# To deactivate an active environment, use
#
#     $ conda deactivate
```

```
bash-4.4$ source activate blast4test
(blast4test) bash-4.4$ conda install seqtk -c bioconda -n blast4test
Channels:
 - bioconda
 - defaults
Platform: linux-64
Collecting package metadata (repodata.json): -
```

```
(blast4test) bash-4.4$ seqtk

Usage:   seqtk <command> <arguments>
Version: 1.3-r106

Command: seq       common transformation of FASTA/Q
         comp      get the nucleotide composition of FASTA/Q
         sample    subsample sequences
         subseq    extract subsequences from FASTA/Q
         fqchk     fastq QC (base/quality summary)
         mergepe   interleave two PE FASTA/Q files
         trimfq    trim FASTQ using the Phred algorithm

         hety      regional heterozygosity
         gc        identify high- or low-GC regions
         mutfa     point mutate FASTA at specified positions
         mergefa   merge two FASTA/Q files
         famask    apply a X-coded FASTA to a source FASTA
         dropse    drop unpaired from interleaved PE FASTA/Q
         rename    rename sequence names
         randbase  choose a random base from hets
         cutN      cut sequence at long N
         listhet   extract the position of each het
```

```
(blast4test) bash-4.4$ seqtk sample -s 2025 /lustre/share/class/BIO8402/lab/data/SRR5029637.fasta 50000 > /lustre/home/acct-stu/stu542/hw/test_class3/blast_time_test/SRR5029637_sub5w.fasta
(blast4test) bash-4.4$ grep ">"  /lustre/home/acct-stu/stu542/hw/test_class3/blast_time_test/SRR5029637_sub5w.fasta | wc -l
50000
(blast4test) bash-4.4$
```

```
(blast4test) bash-4.4$ conda deactivate
bash-4.4$ conda remove -n blast4test --all

Remove all packages in environment /lustre/home/acct-stu/stu542/.conda/envs/blast4test:


## Package Plan ##

  environment location: /lustre/home/acct-stu/stu542/.conda/envs/blast4test


The following packages will be REMOVED:

  _libgcc_mutex-0.1-main
  _openmp_mutex-5.1-1_gnu
  libgcc-ng-11.2.0-h1234567_1
  libgomp-11.2.0-h1234567_1
  seqtk-1.3-h5bf99c6_3
  zlib-1.2.13-h5eee18b_1


Proceed ([y]/n)? y

Preparing transaction: done
Verifying transaction: done
Executing transaction: done
Everything found within the environment (/lustre/home/acct-stu/stu542/.conda/envs/blast4test), including any conda environment configurations and any non-conda files, will be deleted. Do you wish to continue?
 (y/[n])? y

bash-4.4$
```

```
[stu542@pilogin4 5w_test]$ scancel 42310193
[stu542@pilogin4 5w_test]$
```

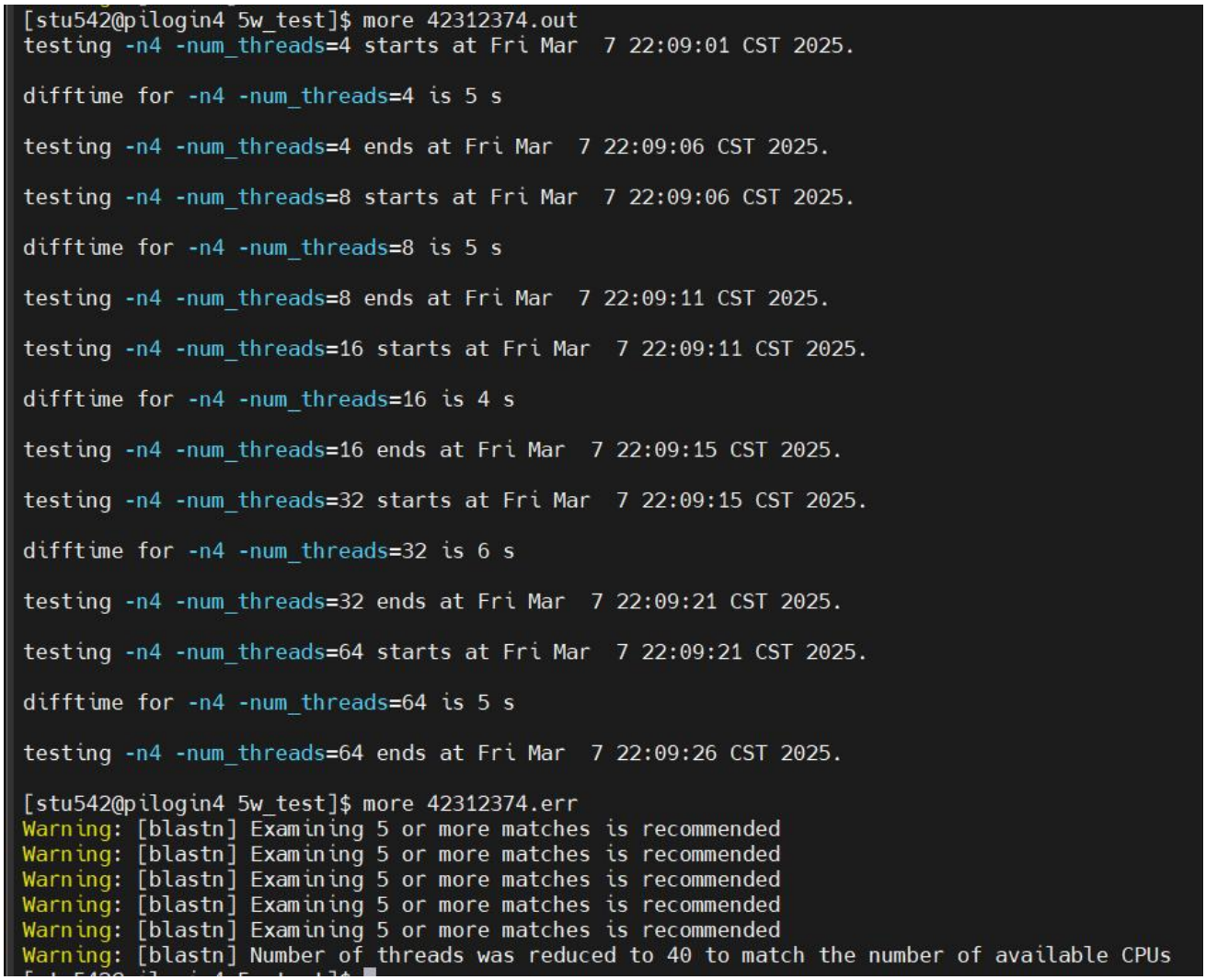
```
bash-4.4$ srun: Force Terminated job 42310193
srun: Job step aborted: Waiting up to 32 seconds for job step to finish.
slurmstepd: error: *** STEP 42310193.0 ON cas024 CANCELLED AT 2025-03-07T22:05:19 ***
exit
[stu542@pilogin4 ~]$
```

有了数据再提交

```
[stu542@pilogin4 5w_test]$ vim blast_test_5w.slurm
[stu542@pilogin4 5w_test]$ sbatch blast_test_5w.slurm
Submitted batch job 42312374
[stu542@pilogin4 5w_test]$ squeue
             JOBID PARTITION     NAME     USER ST       TIME  NODES NODELIST(REASON)
          42312374       cpu blast_5w   stu542 PD       0:00      1 (Priority)
```

```
[stu542@pilogin4 5w_test]$ squeue
             JOBID PARTITION     NAME     USER ST       TIME  NODES NODELIST(REASON)
          42312374       cpu blast_5w   stu542  R       0:02      1 cas027
[stu542@pilogin4 5w_test]$
```

```
[stu542@pilogin4 5w_test]$ ls -lh
total 41M
-rw-rw-r-- 1 stu542 stu542  397 Mar  7 22:09 42312374.err
-rw-rw-r-- 1 stu542 stu542  879 Mar  7 22:09 42312374.out
-rw-rw-r-- 1 stu542 stu542  924 Mar  7 22:08 blast_test_5w.slurm
-rw-rw-r-- 1 stu542 stu542 8.9M Mar  7 22:09 n4t16.out
-rw-rw-r-- 1 stu542 stu542 8.9M Mar  7 22:09 n4t32.out
-rw-rw-r-- 1 stu542 stu542 8.9M Mar  7 22:09 n4t4.out
-rw-rw-r-- 1 stu542 stu542 8.9M Mar  7 22:09 n4t64.out
-rw-rw-r-- 1 stu542 stu542 8.9M Mar  7 22:09 n4t8.out
[stu542@pilogin4 5w_test]$
```



直到32线程数的数据还是可供参考的

个人脚本如下：

```
#!/bin/bash
#SBATCH --job-name=blast_5w
#SBATCH --partition=cpu
#SBATCH -n 4
#SBATCH --ntasks-per-node=4
#SBATCH --output=%j.out
#SBATCH --error=%j.err
#SBATCH --mail-type=end
#SBATCH --mail-user=zht161932@sjtu.edu.cn

module load blast-plus

threads_list=(4 8 16 32 64)

for threads in "${threads_list[@]}";do
  echo -e "testing -n4 -num_threads=$threads starts at $(date).\n"
  start=$(date +%s)
  blastn -query /lustre/home/acct-
stu/stu542/hw/test_class3/blast_time_test/SRR5029637_sub5w.fasta  \
```

```
    -db /lustre/share/class/BIO8402/lab/test/chr21 \
    -evalue 1e-5 \
    -outfmt 7  \
    -max_target_seqs 1 \
    -num_threads "$threads" \
    -out /lustre/home/acct-
stu/stu542/hw/test_class3/blast_time_test/5w_test/n4t${threads}.out
  end=$(date +%s)
  time=$(( end - start ))
  echo -e "difftime for -n4 -num_threads=$threads is $time s\n"
  echo -e "testing -n4 -num_threads=$threads ends at $(date).\n"
done
```

6)、运行太慢且不支持 MPI 怎么办？（10 分）

(What could you do if your program does not support MPI? 10 points)

根据 4 中的估计，原文件计算结束的时间估算约为 156—158 小时，且程序 blastn 不支持跨节点运算，在已经选择了计算速度最快的参数下，可以采取什么方法？请给出你认为合理的解决方法。

(According to the estimation in 4, the total time to finish the whole file is estimated to be 156-158 hours and program blastn does not support MPI, running in multiple nodes for a task. If you already picked the parameters for fatest speed to run it in a

node, what can you do to speed up the computing? Please give a reasonable solution for this.)

已经选择了计算速度最快的参数——假设对于线程数，以及队列中的线程数、cpu数等都已经在小数据试验中找到了最佳的参数，所以这一部分已经优化好了。

那其他还能优化速度的方法：

我们的任务需求本质上是单节点优化问题：

（1）单节点使用更强cpu、更大核心数的队列，例如192c6t队列

（2）既然 BLASTN 不支持跨节点并行，那就可以通过“数据并行”的方式来实现；

也就是将输入的 FASTA 文件拆分成多个较小的文件，每个文件独立运行 BLASTN，最后将所有结果合并

——》总之：

拆分输入文件：

将大的输入文件（如 subreads-A01.fasta）拆分成多个较小的文件。

每个小文件包含一定数量的 reads。

生成的文件名可以是 subreads-A01_part_1.fasta, subreads-A01_part_2.fasta, 等。

并行运行 BLASTN：

对每个小文件分别运行 BLASTN。

每个 BLASTN 任务使用相同的参数。

每个任务在不同的节点或核心上运行。

合并结果：

将所有小文件的比对结果合并成一个文件