

Stratégies de reconstruction de génomes microbiens à partir de métagénomomes

Kévin Gravouil^{1,2,3}, Corentin Hochart², Bérénice Batut¹, Clémence Defois¹, Cyrielle Gasc¹, Pierre Peyret¹, Didier Debroas², Marie Pailloux³, Eric Peyretailade¹

¹ EA 4678 CIDAM ; ² UMR CNRS 6023 LMGE ; ³ UMR CNRS 6158 LIMOS
Contacts : kevin.gravouil@udamail.fr ; didier.debroas@univ-bpclermont.fr ; pailloux@isima.fr ; eric.peyretailade@udamail.fr

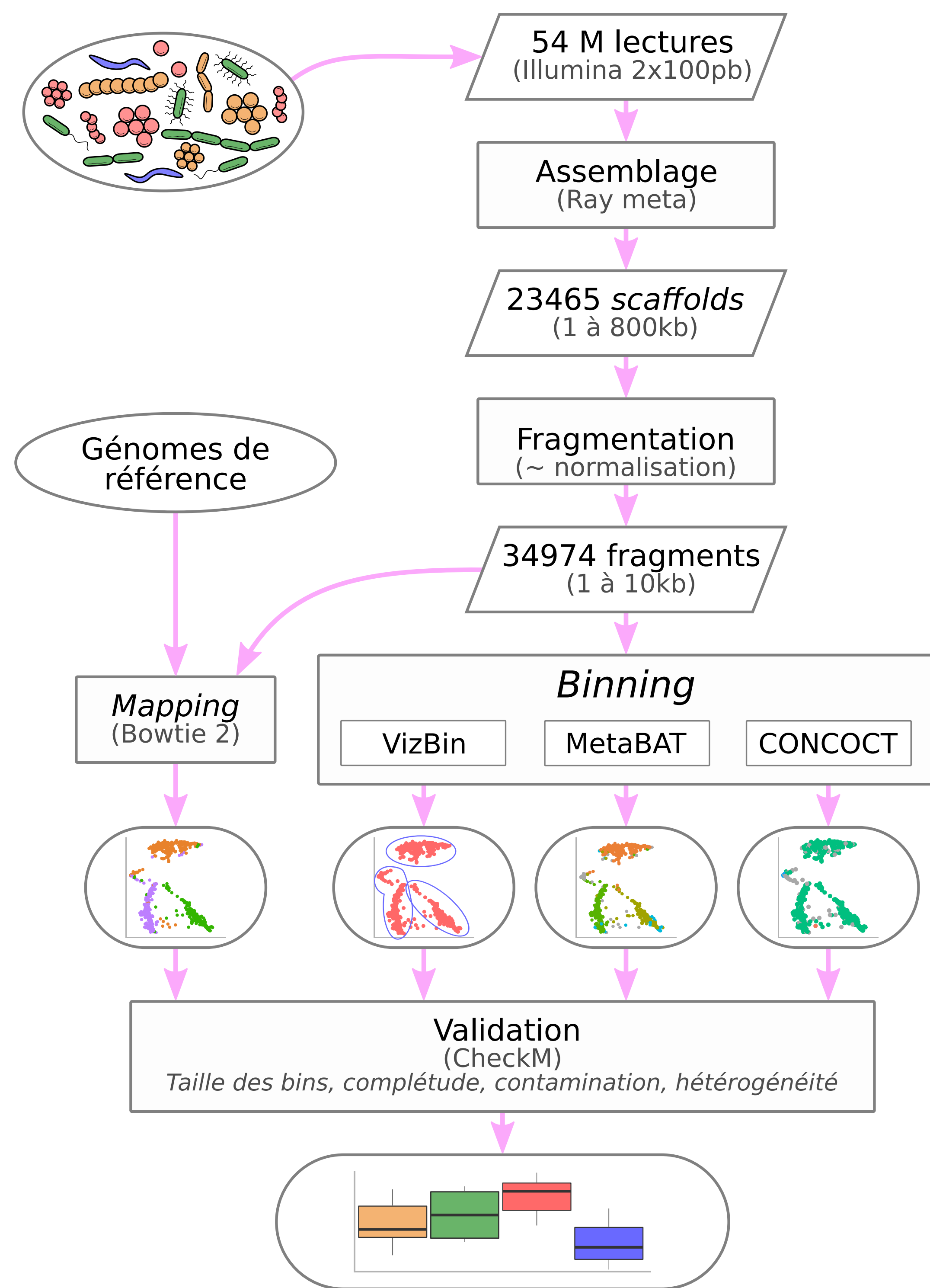
Introduction

Le séquençage à haut-débit permet d'accéder à l'extraordinaire diversité des micro-organismes notamment par des **approches métagénomiques**. Néanmoins, la compréhension globale d'un écosystème nécessite de relier efficacement **structure et fonctions**. De ce fait, la **reconstruction de génomes individuels** à partir de métagénomomes devient une approche nécessaire pour remplir cet objectif.

La diversité génomique n'est pas connue *a priori* et dépend fortement de l'environnement étudié. Il convient donc d'employer des méthodes **non ciblées** et *de novo* pour explorer ces environnements.

Malgré la grande diversité de micro-organismes, le **binning** est une approche qui rend possible la reconstruction de génomes^[1]. Cette approche repose sur le fait que deux **séquences similaires** en terme de composition appartiendraient à un **même génome**. Plusieurs stratégies ont depuis été proposées mais **aucun consensus** n'a pu être dégagé.

Matériel et méthodes



Afin d'évaluer la pertinence des méthodes de **binning** existantes, différents outils ont été testés sur un jeu de données **simulant un métagénome** composé de **64 micro-organismes** dont les génomes sont disponibles (SRR606249). Les bins de références sont obtenus par alignement (*mapping*) sur ces génomes.

Différents logiciels de **binning** ont été testés : (i) **VizBin**^[2] qui exploite la composition nucléotidique ; (ii) **MetaBAT**^[3] et (iii) **CONCOCT**^[4] qui utilisent à la fois la composition et les différences de couverture des séquences. Ces trois approches diffèrent également par leurs méthodes de **clustering**. VizBin propose à l'utilisateur de définir les **bins manuellement** ; MetaBAT utilise un algorithme des **k-medoids** modifié ; CONCOCT utilise un **modèle de mélanges gaussiens** complétée d'une **approche bayésienne**.

La validation des **bins** avec **CheckM**^[5] consiste à rechercher des **gènes-marqueurs uniques** au sein d'une lignée phylogénétique, évaluant ainsi : (i) la « **complétude** » (nombre de marqueurs au sein d'un **bin** par rapport à l'attendu) ; (ii) la **contamination** (nombre de marqueurs en plusieurs copies) et (iii) l'**hétérogénéité** de souche.

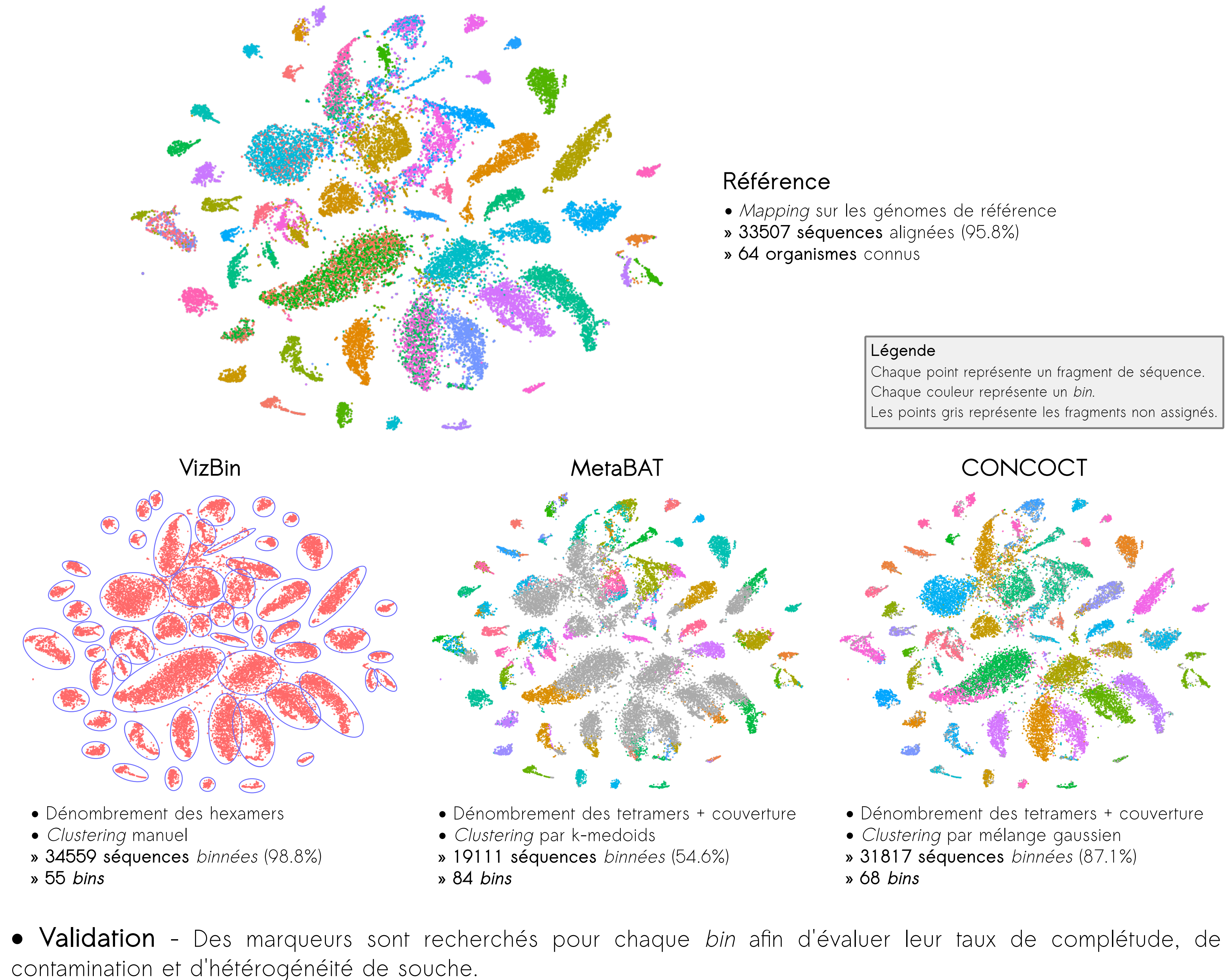
Références

- [1] Sangwan *et al.*, Microbiome, 2016, DOI: 10.1186/s40168-016-0154-5
- [2] Laczny *et al.*, Microbiome, 2015, DOI: 10.1186/s40168-014-0066-1
- [3] Kang *et al.*, PeerJ, 2015, DOI: 10.7717/peerj.1165
- [4] Alneberg *et al.*, Nature Methods, 2014, DOI: 10.1038/nmeth.3103
- [5] Parks *et al.*, Genome Research, 2014, DOI: 10.1101/gr.186072.114

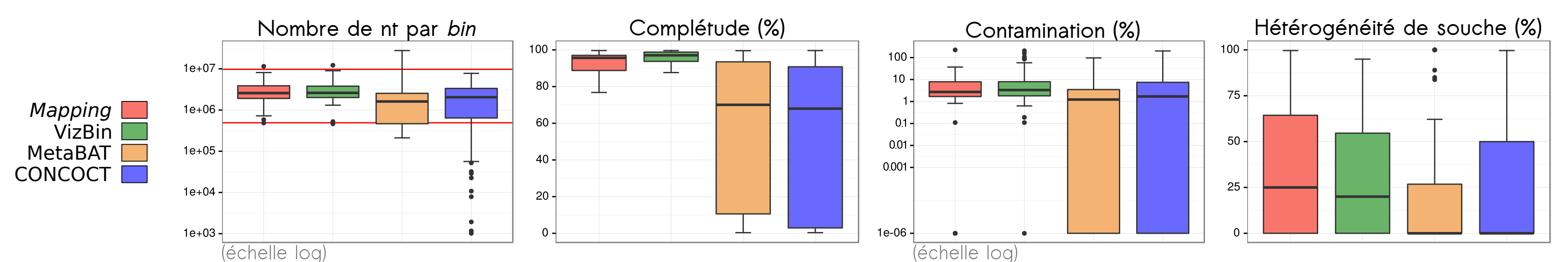


Etude comparative des outils de binning

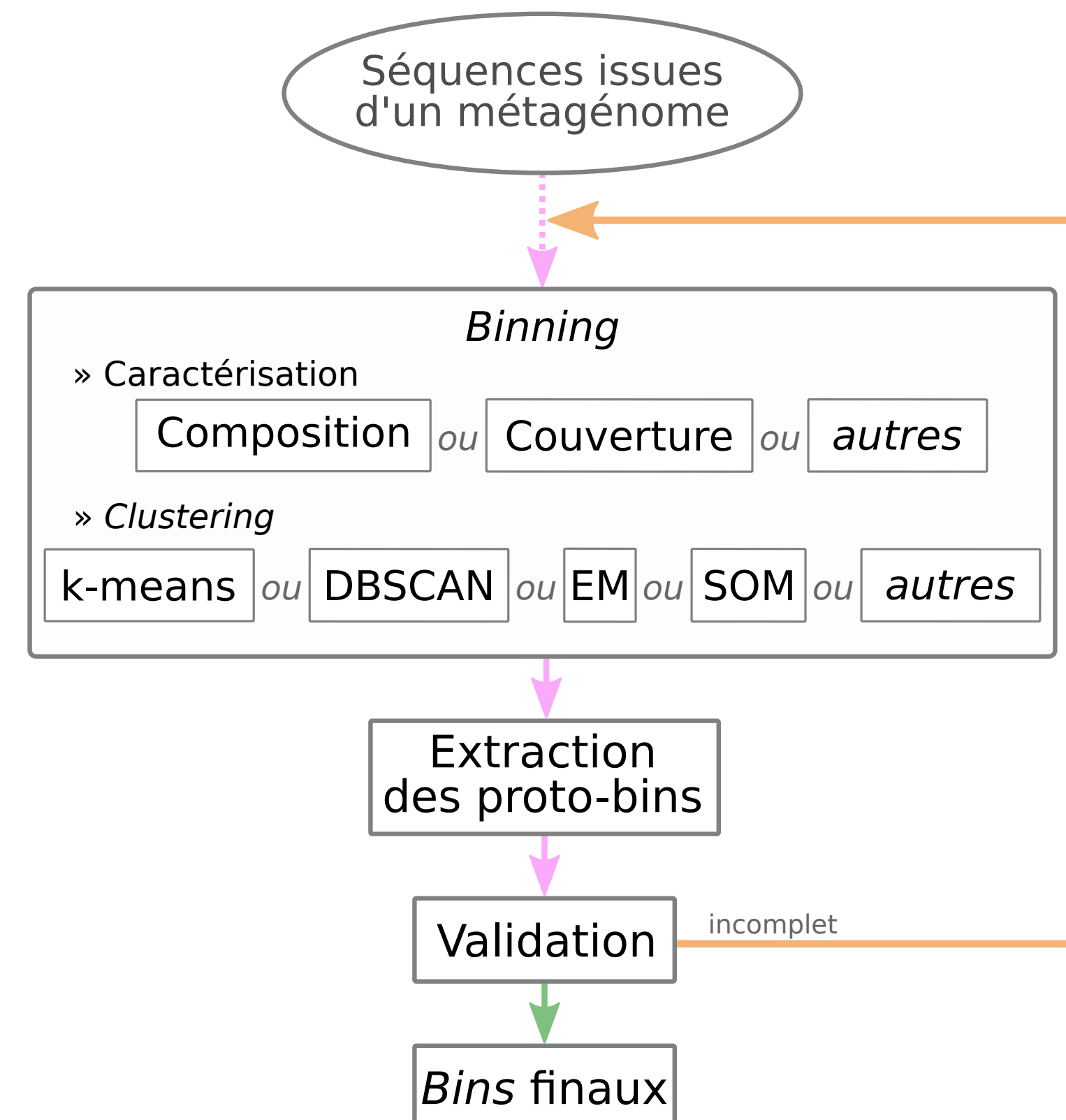
- **Binning** - Les 34974 fragments de séquences (de 1 à 10kb) issus de l'assemblage *de novo* des 54 M de lectures ont été alignés aux génomes de référence ou regroupés par **binning**.



- **Validation** - Des marqueurs sont recherchés pour chaque **bin** afin d'évaluer leur taux de complétude, de contamination et d'hétérogénéité de souche.



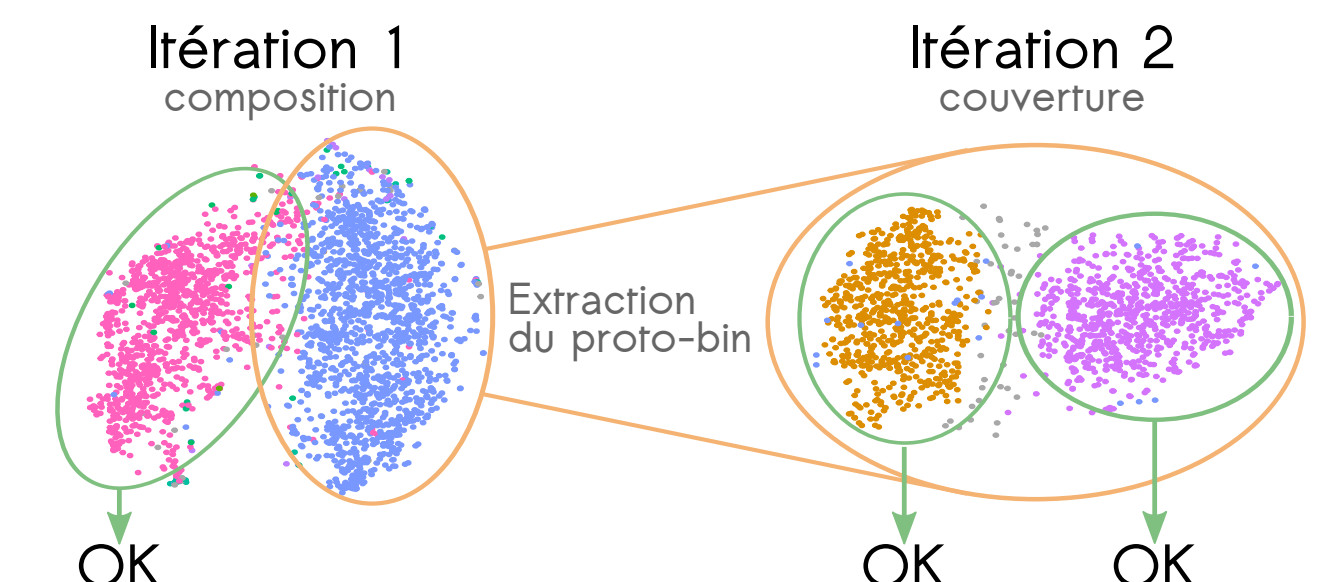
Stratégie alternative



Les méthodes de **binning** testées ne permettent pas toujours de dissocier correctement deux génomes d'espèces phylogénétiquement proches.

Pour pallier ce problème, il est possible de réaliser une **approche itérative**. Un premier **binning** permet d'extraire des **prototypes de bins** (ou « proto-bins »), et de les **valider individuellement**. Lorsque les critères de validation d'un proto-bin ne sont pas remplis (fig. 4, symbolisé par la flèche jaune), une autre méthode de binning est appliquée sur ce proto-bin.

- **Exemple** - Deux bins confondus deviennent distinguables.



Conclusion et perspectives

- » Pas de consensus en matière de reconstruction de génomes à partir de métagénomomes
- » Succession de **plusieurs méthodes** pour de meilleurs résultats
- » Utilisation de **données de référence** pour la validation (si l'environnement étudié le permet)
- » **Caractérisations alternatives** des séquences (par exemple, avec les *spaced-seed*)
- » Utilisation de différentes méthodes de **clustering**
- » **Ré-analyse** des données existantes (e.g : microbiote humain)
- » Utilisation de méthodes issues du Big Data

