

Gestion informatique des données de séquençage

William Amory
M1 BI-IPFB Université de Paris

sous la responsabilité de Frédérick Gavory



Gestion informatique des données de séquençage

- 1 CEA - Genoscope
- 2 Contexte
- 3 Objectifs
- 4 Perspective



Section 1

CEA - Genoscope



CEA - Genoscope

CEA (Commissariat à l'énergie atomique et aux énergies)

- créé le 18 octobre 1945 par Charles de Gaulle
- 20 000 Salariés
- 4 directions opérationnelles et 9 directions fonctionnelles

Genoscope (Centre National de Séquençage)

- Créé en 1996 - 250 salariés
 - Participation **projet Génome humain** (Séquençage du chromosome 14 humain)
 - Développer programmes de génomiques en France
 - Plus grand centre de séquençage français
 - **France génomique**
 - **Projet Tara Océans** - étude des écosystèmes marins planctoniques



Organigramme CEA - Genoscope - LBGB

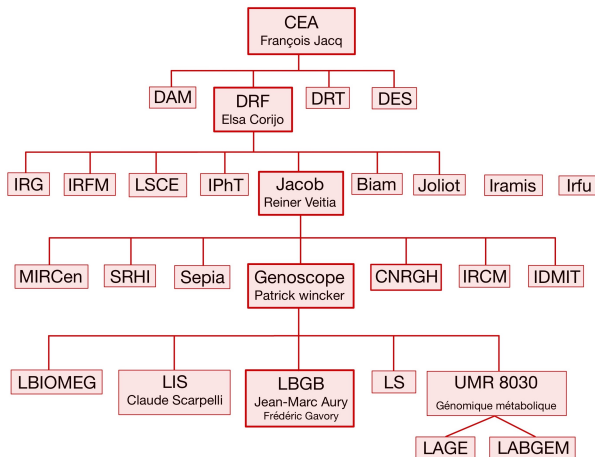


FIGURE 1 – Organigramme situant l'équipe du *Laboratoire de Bioinformatique pour la Génomique et la Biodiversité (LBGB)* au sein du genoscope et du CEA



Section 2

Contexte



LBGB (Laboratoire de Bioinformatique pour la Génomique et la Biodiversité)

missions

- Veille technologique
- Contrôle qualité des fichiers de séquences
- Assemblage des séquences et des génomes
- Annotation des séquences et des génomes
- Visualisation

Plusieurs groupes de travail

- **Production**
- Annotation
- Assemblage
- Evaluation des technologies de séquençage



LBGB (Production)

Missions

- Veille technologique
- Evaluation de nouveaux outils
- développer, tester et maintenir les codes
- Répondre aux besoins des équipes de recherches et de productions
- Mise en place de pipelines automatisés
 - génération des fichiers de séquences
 - Contrôle qualité des fichiers de séquences
 - Analyses biologiques



LBGB - Workflow NGS

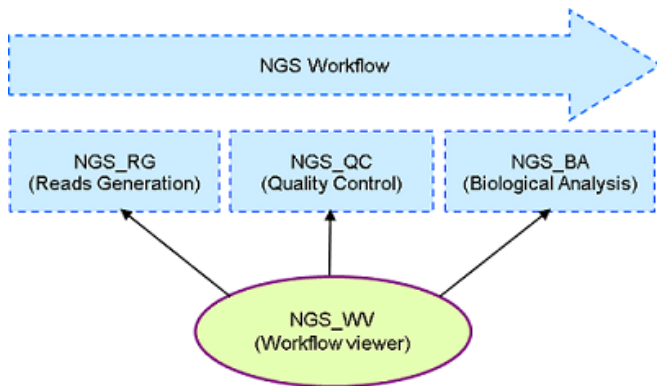


FIGURE 2 – Workflow de génération, de contrôle qualité et d'analyse biologique des FASTQ

<https://www.genoscope.cns.fr/rdbioseq/>

LBGB - MGI

Arrivée des séquenceurs MGI

- 2 DNBSEQ-G400
- 1 DNBSEQ-T7



<https://en.mgi-tech.com/products/>

La technologie MGI

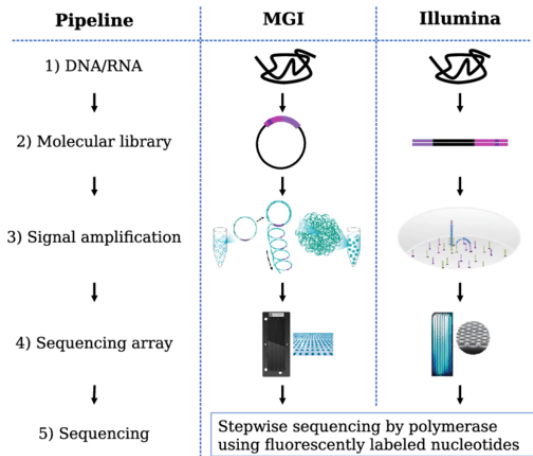


FIGURE 3 — Différences entre Illumina et MGI de technologie NGL

J. Patterson & all. (2019). Impact of sequencing depth and technology on de novo RNA-Seq assembly. BMC Genomics. 20. 10.1186/s12864-019-5965-x.

Section 3

Objectifs



Développement d'un pipeline automatique pour MGI

Objectifs du pipeline

- développement NGS-RG et NGS-QC pour MGI
- Distribution des FASTQ par projets
- Trie des FASTQ par échantillons, technologies et runs
- Mise à jour de la base de données de références (NGL)
 - création des entrées runs et readset
 - stockage des métriques et analyses correspondantes
- Nettoyage des FASTQ générés
- Analyses des FASTQ générés



Développement d'un pipeline automatique pour MGI

Comment ?

- Déterminer les outils et méthodes nécessaires
 - utilisation d'outils et méthodes existants pour Illumina ?
 - utilisation de nouveaux outils et méthodes ?
- Ecriture du pipeline
 - déterminer l'ordre d'utilisation des outils et méthodes



Autres objectifs de la missions

Evaluation d'outils

- pour les pipelines :
 - Illumina
 - MGI
 - Oxford Nanopore
- Mise en place des outils pertinents
- Remplacement ou arrêt des outils non pertinents

codage d'outils

- Maintenir les pipelines
- Distributions des résultats d'analyses par projet, échantillon/run
- Mettre à jour la base de données (NGL)



Apprentissage du Perl

Pourquoi ?

- Raison historique du laboratoire
- Toutes les librairies et modules utilisés sont en Perl
- Workflow d'Illumina écrit en Perl

Réalisation

- Programme effectuant des analyses statistiques élémentaires
 - taux de GC
 - moyenne de la qualité de chaque read
 - ect ...
- Utilisation des modules utilisés dans le workflow d'Illumina



Test de 2 software de génération de FASTQ (bcl2fastq et bcl-convert)

permettent la génération des FASTQ et de réaliser le démultiplexage

Comparaison des performances

- Recherche des meilleurs paramètres pour bcl2fastq
 - Nombre de threads lecture/décompression *Bases Calls* (**r**)
 - Nombre de threads Conversion *Bases Calls* en FASTQ (**p**)
 - Nombre de threads écriture/compression FASTQ (**w**)
- Comparaison des performances entre les 2 soft
- Choix de changement de soft



bcl2fastq vs bcl-convert (Temps total)

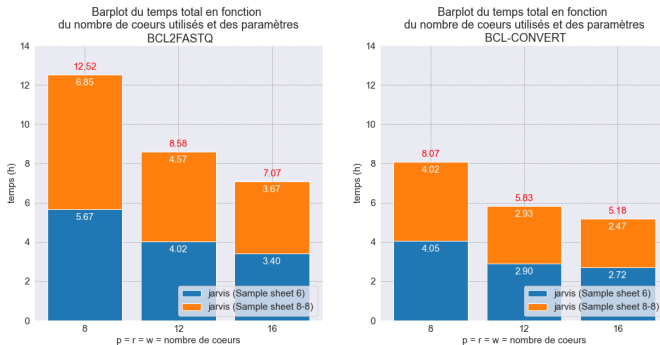


FIGURE 4 – Temps total de génération des FASTQ pour bcl2fastq et bcl-convert

bcl2fastq vs bcl-convert (Temps cpu)

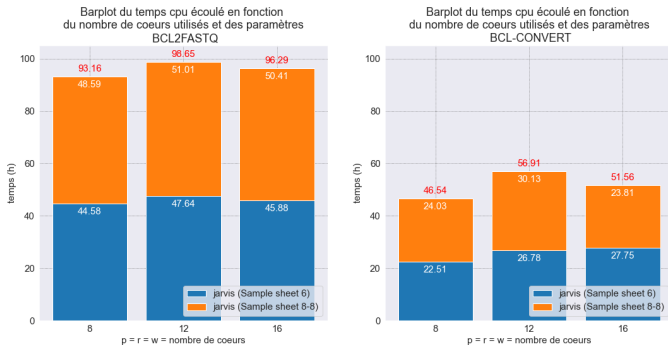


FIGURE 5 – Temps cpu de génération des FASTQ pour bcl2fastq et bcl-convert

bcl2fastq vs bcl-convert (Pourcentage d'utilisation cpu)

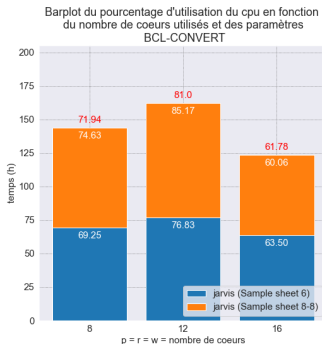
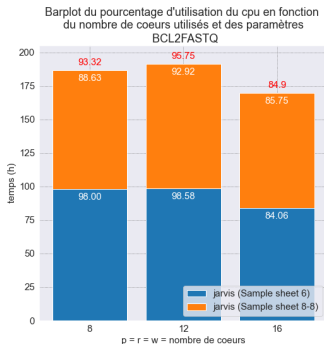


FIGURE 6 – Pourcentage d'ulisation cpu pour la génération des FASTQ pour bcl2fastq et bcl-convert

Section 4

Perspective



Perspective

Détermination de la migration de bcl2fastq vers bcl-convert

- Discussion avec les équipes **LIS** et **LS**
- Mise à jour du pipeline de génération des FASTQ
- Prise en charge des sorties de bcl-convert pour les autres pipelines

Workflow MGI

- Ecriture du pipeline MGI
- Mise en service du pipeline MGI
- Automatisation total du workflow



Perspective

Evaluation d'autres outils

- outils d'assignation taxonomique
- outils de *filtering*, *trimming*
- intégration d'outils des autres groupes de travaux dans les pipelines
 - outils de *mapping*, *assemblage*, *scaffold* ...



Bibliographie

- Impact of sequencing depth and technology on de novo RNA-Seq assembly, Patterson. 2022-01-23, BMC Genomics. 10.1186/s12864-019-5965-x
- bcl2fastq2 Conversion Software v2.20 Software Guide (15051736). 2019, Illumina, Inc.
- BCL Convert Software Guide v3.7.5 (1000000163594). 2021, Illumina, Inc.
- perl - The Perl 5 language interpreter - Perldoc Browser. 2022-01-23, <https://perldoc.perl.org/perl>
- The Comprehensive Perl Archive Network. 2022-01-23, www.cpan.org





Merci de votre attention



Données supplémentaires - La technologie MGI

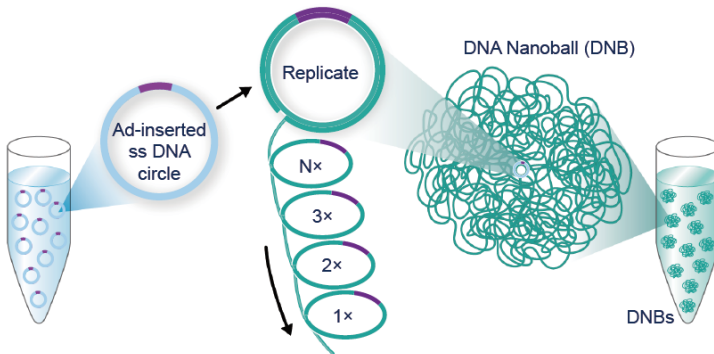


FIGURE 7 — Schéma de la technologie des *DNA nanoballs* de MGI

<https://en.mgi-tech.com/products/>