~ NEXTFLOW ~

Initiation Genologin

Devoir de l'étudiant : Gatépé Cédoine KODJOVI

I - Connection à Genologin

A travers nos nom de fleurs : dans mon cas « **arome** » : avec la commande : « **ssh -XY arome@genologin.toulouse.inrae.fr** » mot de passe : « ***** » , et on se retrouve dans la base du compte associé à notre nom de fleur.

II - Création de dossier et de l'environnement de travail

- Création en 1^{er} d'un dossier **TP_Nextflow** : dans lequel j'ai recrée un nouveau dossier **data_TP** qui va contenir mes fichiers d'entrée (inputs).

- Création d'un script de lancement : « job_tp.sh »

```
WSATCH --CLME=1-0
#SBATCH -J GategeKODJOVI
#SBATCH -D VOTKQ
#SBATCH -e errorjob.out
#SBATCH --mem=6G
#SBATCH --mem=6G
#SBATCH --mail-type=BEGIN_END_FATL
module purge
module load bioinfo/nfcore-Nextflow-v21.04.1
nextflow run nf-core/rnaseq -r 3.4 -profile genotoul
--input ./data_TP/samplesheet.csv
--fasta ./data_TP/ITAG2.3_genomic_Ch6.fasta
--gtf ./data_TP/ITAG2.3_genomic_Ch6.gtf |
```

suivi de son lancement avec la commande : « sbatch job_tp.sh»

III – Réponses aux questions

1) Explication de la sortie « seff » et Intérêt du « resume »:

- seff :

la fonction seff permets d'avoir : une sortie résumé de l'état d'un job qu'on a envoyé sur un serveur ou cluster de calcul, dans mon cas sur **Genotoul**.

Pour avoir l'information d'un job on fait « seff id_du_job », si on ne dispose pas l'id du job on a un fichier slurm qui est crée au lancement de chaque job qui contient les information sur le

déroulement du job . Le nom du slurm est : **slurm-id_du_job.out** , en copiant et collant l'id devant seff on peut avoir les informations.

Dans mon cas j'ai : « seff 37379873 » :



- Job ID: 37379873	# l'identifiant du job
- Cluster: genobull	# le cluster sur lequel le calcul est lancé
- User/Group: arome/formation	# l'utilisateur et le groupe auquel il appartient le propriétaire du job
	dans mon cas user = arome et group = formation
- State: COMPLETED (exit code 0)	# l'état du job : en cours ou en fin
- Nodes: 1	# le nœud sur lequel on est connecté pour se connecter au cluster
- Cores per node: 4	# le nombre de cœurs par nœud
- CPU Utilized: 00:02:52	# le temps d'utilisation du CPU
- CPU Efficiency: 9.56% of 00:30:00 core-walltim	# temps d'occupation du CPU et son efficacité
- Job Wall-clock time: 00:07:30	# la durée total du job sur le cluster
- Memory Utilized: 1.83 GB	# la mémoire utilisé par le job
- Memory Efficiency: 30.50% of 6.00 GB	# taux d'occupation de la mémoire allouée

- resume

la fonction ou le paramètre « resume » qu'on rajoute à la commande « sbatch nom-fichier.sh » permet de ne plus relancer le job depuis le début et de recréer tous les dossiers ou fichiers intermédiaires.

Le job prends moi de temps et on évite de créer des duplications de fichiers et/ou qui pourraient générés des conflits et donc arrêt du processus/job.

Dans mon cas j'ai lancé sans le resume, j'aurai pu le faire mais vu qu'au début j'avais des erreurs dans mes fichiers initiaux d'entrée j'ai préféré à chaque fois supprimé les sorties crées systématiquement pour chacune des tentatives inachevées.

PS: Récupération des fichiers généré sur son ordinateur en local :

le téléchargement des fichiers results ou n'importe lequel est possible grâce à la commande scp qui permet de copier depuis le serveur vers la machine local :

« scp serveur+identifiant_de_connexion_ : chemin_vers_le_fichier chemin_vers_ledossier_qui_va_receptionner »

Dans mon cas j'ai la commande

«scp

arome@genologin.toulouse.inrae.fr:~/work/arome/TP_nextflow/results/multiqc/star_salmon/ multiqc_data/* /home/guest/Bureau/multiqc/ » .

2) MultiQC

Dans le dossier Nextflow créer dans mon cas je l'ai appelé TP_Nextflow, au sein de ce dossier la fin du job a généré 2 dossiers : **results** et **work**; 2 fichiers: **slurm-37379873.out** et **errorjob.out**. Au sein du dossier results nous avons : **fastqc**, **genome**, **multiqc**, **pipeline_info**, **star_salmon**, **trimgalore**.

A cette étape nous parlerons de Multiqc.

Dans le répertoire multiqc j'ai un autre répertoire star_salmon dans lequel se trouve un autre répertoire **multiqc_data** et un fichier **multiqc_report.html** qui ouvert nous envois direct sur une page web sur le quel on retrouve toutes les sorties des sous parties et logiciels qui ont été lancé quand on a mis en marche notre Nextflow.

Remarque : Multiqc est un outil de création de rapports qui analyse les statistiques récapitulatives des résultats et des fichiers journaux générés par d'autres outils bio-informatiques. Multiqc n'exécute pas d'autres outils, il est conçu pour être placé à la fin des pipelines d'analyse ou pour être exécuté manuellement lorsque vous avez terminé d'exécuter vos outils.

Lorsque nous avons lancé notre job rnaseq, il a eu lancement programmé de multiqe qui est ira récupérer de manière récursive dans tous les chemins de fichiers qui lui ont été fournis et trouvera les fichiers qu'il reconnaît. Il analysera les informations pertinentes à partir de celles-ci et générera un seul fichier de rapport HTML autonome c'est le : **multiqe_report.html**.

La page se présente comme suit.



Multiqc enregistre également un répertoire de fichiers avec toutes les données analysées pour une utilisation ultérieure en aval : le répertoire **multiqc_data.**

Et dans ce répertoire nous avons des fichier .txt, .log, .json ci contre : au nombre de 16. les fichiers avec une extension .txt peuvent être convertie en .csv pour une visualisation en forme de table qui peut être plus facile à visualiser, comprendre et interpréter au besoin. Les fichiers .txt porte un nom qui peut renseigner sur le logiciel, l'outil et/ou le type de données, d'information qu'ils peuvent contenir.

rorgr 130a								
drwxr-xr-x	2	arome	formation	4096	5 30	e sept.	. 14:45	5 multiqc data
- rw-rr	1	arome	formation	1398510	5 30	sept.	. 14:45	5 multiqc_report.html
arome@genol	Log	ginl ~/	/work/arome	e/TP_nex	ctfl		sults/m	<pre>nultiqc/star_salmon \$</pre>
arome@geno]	Log	ginl ~/	/work/arome	e/TP_nex	ctfl			nultiqc/star_salmon/m
total 991								
- rw-rr	1	arome	formation	438	30	sept.	14:45	multiqc_cutadapt.txt
- rw-rr	1	arome	formation	974700	30	sept.	14:45	multiqc_data.json
- rw-rr	1	arome	formation	1240	30	sept.	14:45	<pre>multiqc_fastqc_1.txt</pre>
- rw-rr	1	arome	formation	1177	30	sept.	14:45	multiqc_fastqc.txt
- rw-rr	1	arome	formation	2670	30	sept.	14:45	multiqc_general_stat
- rw-rr	1	arome	formation	20658	30	sept.	14:45	multiqc.log
- rw-rr	1	arome	formation	417	30	sept.	14:45	multiqc_picard_dups.
- rw-rr	1	arome	formation	622	30	sept.	14:45	multiqc_rseqc_bam_st
- rw-rr	1	arome	formation	104	30	sept.	14:45	multiqc_rseqc_infer_
- rw-rr	1	arome	formation	732	30	sept.	14:45	multiqc_rseqc_juncti
- rw-rr	1	arome	formation	1736	30	sept.	14:45	multiqc_rseqc_read_d
- rw-rr	1	arome	formation	1088	30	sept.	14:45	multiqc_samtools_fla
- rw-rr	1	arome	formation	100	30	sept.	14:45	multiqc_samtools_idx
- rw-rr	1	arome	formation	1796	30	sept.	14:45	multigc samtools sta

3) Interprétation des principaux résultats :

Comme précédemment décris à la fin du job nous avons 2 dossiers crées : results et work ; il y a 2 fichiers qui sont aussi crées « slurm-37379873.out » et « errorjob.out » .

- errorjob.out :

Ce fichier est censé contenir les éventuels erreurs au cas ou la tentative aurait échoué. J'ai pu remarquer qu'il fonctionne et recueille bien les erreurs lors des mes précédentes tentatives non abouties.

- slurm-37379873.out :

On peut retrouver dans ce fichier des informations concernant le job mais aussi les fichiers d'entrée et les paramètres qui accompagne le job , la version du NEXTFLOW utilisé , le temps que prendra le job ,la mémoire et le CPU qu'il pourrait occupé au max.

(i)	arc	ome@genologin1:~/wo
Fichier Édition Affichage Re	chercher Terminal Onglets Aide	
	arome@genologint:-/work/arome/TP_nextflow	
N E X T F L O W - vers Launching 'nf-core/rnase	ion 21.04.1 q` [festering_meitner] - revision: 964425e3fd	[3.4]
WARN: Found unexpected p *igenomesIgnore: true - Ignore this warning: p	arameters: arams.schema_ignore_params = "igenomesIgnore"	
NE-CO		
nf-core/rnaseq v3.4		
Core Nextflow options		
revision	: 3.4	
runNane	: festering meitner	
containerEngine	: singularity	
launchDir	: /work/arome/arome/TP nextflow	
workDir	: /work/arome/arome/TP nextflow/work	
projectDir	: /home/arome/.nextflow/assets/nf-core/rn	aseq
userName	: arone	
profile	: genotoul	
configFiles	: /home/arome/.nextflow/assets/nf-core/rn	aseq/nextflow.conf
Input/output options		
input	: ./data_TP/samplesheet.csv	
Reference genome options		

- Répertoire work :

Ce répertoire contient d'autres sous répertoires : dans mon cas plus de 70, exactement 73. On se rend très vite compte que ces mêmes répertoires comportent d'autres répertoire jusqu'à ce qu'on tombe sur des fichier.yml, .txt ou .zip .



- Répertoire results :

Contient les répertoires : fastqc, genome, multiqc, pipeline_info, star_salmon, trimgalore . Je ne parlerai plus de multiqc dans cette section.

• pipeline_info :

Nous avons là un dossier qui contient des informations dans les fichiers au format html : des informations plus détaillés sur chaque sous partie ou analyse, leur durée et leur occupation mémoire et CPU.

```
arome@genologin1 -/work/arome/TP_nextflow/results $ cd pipeline_info/
arome@genologin1 -/work/arome/TP_nextflow/results/pipeline_info $ ls -l
total 3745
-rw-r--r-- 1 arome formation 3225761 30 sept. 14:45 execution_report_2022-09-30_14-38-43.html
-rw-r--r-- 1 arome formation 275579 30 sept. 14:45 execution_timeline_2022-09-30_14-38-43.html
-rw-r--r-- 1 arome formation 14109 30 sept. 14:45 execution_trace_2022-09-30_14-38-43.html
-rw-r--r-- 1 arome formation 310057 30 sept. 14:45 pipeline_dag_2022-09-30_14-38-43.txt
-rw--r--- 1 arome formation 229 30 sept. 14:45 pipeline_dag_2022-09-30_14-38-43.svg
-rw-r--r-- 1 arome formation 229 30 sept. 14:39 samplesheet.valid.csv
-rw-r--r-- 1 arome formation 1521 30 sept. 14:44 software_versions.yml
arome@genologin1 -/work/arome/TP_nextflow/results/pipeline_info $ firefox execution_report_2022-09-30_14-38-43.html &
```

• Genome :

on retrouve des informations concernant le genome lui même, tel que sa longueur, les exons trouvés et a quel endroit .

```
genologini
arome@genologin1 ~/work/arome/TP_nextflow/results/genome $ ls -l
total 2314
 rwxr-xr-x 3 arome formation4096 30 sept. 14:39 indexrw-r-r-r-1 arome formation320910 30 sept. 14:39 ITAG2.3_genomic_Ch6.bedrw-r-r-r-1 arome formation29 30 sept. 14:39 ITAG2.3_genomic_Ch6.fasta.fairw-r-r-r-1 arome formation20 30 sept. 14:39 ITAG2.3_genomic_Ch6.fasta.sizesrw-r-r-r-1 arome formation2034585 30 sept. 14:39 ITAG2.3_genomic_Ch6.genes.gtf
drwxr-xr-x 3 arome formation
drwxr-xr-x 2 arome formation
                                              4096 30 sept. 14:39 rse
arome@genologin1 ~/work/arome/TP_nextflow/results/genome $ cd index/
arome@genologin1 ~/work/arome/TP_nextflow/results/genome/index $ ls -l
total 1
drwxr-xr-x 2 arome formation 4096 30 sept. 14:39 star
arome@genologin1 ~/work/arome/TP_nextflow/results/genome/index $ cd star/
arome@genologin1 ~/work/arome/TP_nextflow/results/genome/index/star $ ls -l
total 513035
 rw-r--r-- 1 arome formation
                                                      9 30 sept. 14:39 chrLength.txt
                                                    20 30 sept. 14:39 chrNameLength.txt
11 30 sept. 14:39 chrName.txt
               1 arome formation
                1 arome formation
                1 arome formation
                                                     11 30 sept. 14:39 chrStart.txt
      r -- r -- -
                1 arome formation
                                               396006
                                                         30
                                                             sept. 14:39 exonGeTrInfo.tab
                                               174928 30 sept. 14:39 exonInfo.tab
53452 30 sept. 14:39 geneInfo.tab
      r--r--
                1 arome formation
                1 arome formation
                                                             sept. 14:39 geneInfo.tab
      r - - r - -
                1 arome formation
                                           48320606 30 sept. 14:39 Genome
                1 arome formation 627 30 sept. 14:39 genomeP
1 arome formation 377398217 30 sept. 14:39 SA
1 arome formation 97867203 30 sept. 14:39 SAindex
                                                             sept. 14:39 genomeParameters.txt
                1 arome formation
                                              278238 30 sept. 14:39 sjdbInfo.txt
                                               332597 30 sept. 14:39 sjdbList.fromGTF.out.tab
332535 30 sept. 14:39 sjdbList.fromGTF.out.tab
153751 30 sept. 14:39 transcriptInfo.tab
                1 arome formation
                1 arome formation
               1 arome formation
 rome@genologin1 ~/work/arome/TP_nextflow/results/genome/index/star $
```

• Trimgalore :

Contient les résultats de l'outil trimgalore : qui est une sorte d'enveloppe autour de Cutadapt et FastQC pour évaluer la qualité et effectuer le découpage de l'adaptateur sur les fichiers FastQ. On distingue des infos comme la séquence qui a été considéré comme adaptateur , le script de lancement, occurrence en pourcentage des bases précédant les adaptateurs retirés, etc.



• Star_salmon :

On retrouve les résultats de salmon dans le répertoire mais aussi d'autres répertoires contennat les résultats d'autre outils(packages essentiellement) : deseq2, rseqc, dupradar etc .

arome@genologin1:-/work/arome/TP_nextflow/results/star_salmon/deseq2_qc					
Fichier Édition Affichage Rechercher Terminal Onglets	Aide				
arome@nenologin1:-/work/arome/TP_nextflow/r	esults/star_salmon/deseq2_qc ×		× n 🔻		
arome@genologin1 ~/work/arome/TP_nextflow/result total 400111	s/star_salmon \$ ls -l				
drwxr-xr-x 2 arone formation 4096 30 sept.	14:44 bigwig				
drwxr-xr-x 5 arone formation 4096 30 sept.	14:42 CONTROL REP1				
rw-rr 1 arone formation 223154937 30 sept.	14:43 CONTROL REP1.markdup.sorted.ba	n			
-rw-rr 1 arone formation 93352 30 sept.	14:43 CONTROL REP1.markdup.sorted.ba	m.bai			
drwxr-xr-x 5 arome formation 4096 30 sept.	14:42 CONTROL REP2				
-rw-rr 1 arone formation 184699746 30 sept.	14:43 CONTROL_REP2.markdup.sorted.ba	n			
rw-rr 1 arone formation 82952 30 sept.	14:43 CONTROL_REP2.markdup.sorted.ba	m.bai			
drwxr-xr-x 3 arone formation 4096 30 sept.	14:43 deseq2 qc				
drwxr-xr-x 7 arone formation 4096 30 sept.	14:43 dupradar				
drwxr-xr-x 2 arome formation 4096 30 sept.	14:44 featurecounts				
drwxr-xr-x 2 arone formation 4096 30 sept.	14:42 log				
drwxr-xr-x 2 arone formation 4096 30 sept.	14:43 picard metrics				
drwxr-xr-x 3 arone formation 4096 30 sept.	14:43 preseq				
drwxr-xr-x 4 arone formation 4096 30 sept.	14:45 qualimap				
prwxr-xr-x 9 arone formation 4090 30 sept.	14:44 rseqc				
-rw-rr 1 arone formation 111950 30 sept.	14:43 salmon.merged.gene counts leng	th scaled.rds			
-rw-r i arone formation 182208 30 sept.	14:43 sation.merged.gene_counts_teng	In_scated.tsv			
The First arone formation 92289 30 sept.	14:43 sation.merged.gene_counts.rds	ad rdr			
run run larone formation 1119/1 30 sept.	14:43 Salmon merged gene counts scal	ed tou			
The rest of a rest of the section in the section of	14:43 saturon merged gene counts scat	eu. Lsv			
Discourse 1 arone formation 123020 30 sept.	14:43 sation merned gene ton tsu				
nurrent l arone formation 194277 30 sept.	14:43 salmon merged transcript count	e rde			
-rw-rr 1 arone formation 179066 30 sept.	14:43 salmon merned transcript count	s tev			
-rw-rr 1 arone formation 207717 30 sept.	14:43 salmon merged transcript tom.t	2V			
rw-rr 1 arone formation 160341 30 sept.	14:42 salmon tx2gene.tsv				
drwxr-xr-x 2 arone formation 4096 30 sept.	14:44 santools stats				
drwxr-xr-x 4 arone formation 4096 30 sept.	14:44 stringtie				
arone@genologin1 -/work/arone/TP nextflow/result	s/star salmon 5 cd deseg2 gc/				
arone@genologin1 -/work/arone/TP nextflow/result	s/star salmon/deseq2 gc \$ ls -l				
total 106					
-rw-rr 1 arone formation 89650 30 sept. 14:4	3 deseq2.dds.RData				
-rw-rr 1 arone formation 156 30 sept. 14:4	3 deseq2.pca.vals.txt				
rw-rr 1 arone formation 8657 30 sept. 14:4	3 deseq2.plots.pdf				
-rw-rr 1 arone formation 97 30 sept. 14:4	3 deseq2.sample.dists.txt				
-rw-rr 1 arome formation 1978 30 sept. 14:4	3 R sessionInfo.log				
drwxr-xr-x 2 arome formation 4096 30 sept. 14:4	3 size factors				
arome@genologin1 ~/work/arome/TP_nextflow/result	s/star_salmon/deseq2_qc \$ more desec	2.p			
deseq2.pca.vals.txt deseq2.plots.pdf					
aroneogenologin1 -/work/arone/TP_nextflow/result	s/star_salmon/deseq2_qc \$ more desec	2.pca.vals.txt			
"Sample" "PC1: 100% variance" "PC2: 0%	s variance"				
CONTROL REP1" -5.55912203831646 2.404196	033443100-14				
CONTROL REP2 5.55912203831646 1.433781	4/0900010-14				

• Fastqc :

Ce répertoire contient les résultats de fastqc qui est un outil de contrôle de qualité . La particularité de fastqc est qu'il peut repérer les problèmes qui proviennent soit du séquenceur, soit du matériel de départ de la bibliothèque.

Dans notre cas, j'ai 4 fichier « .html » et leur version « .zip » ; correspondant chacun à mes 4 reads de départ donc le dossier contient 8 fichiers au total. A l'ouverture des html on a des informations sur la séquence , la qulatité le long du genome

