Improvement of the Bos taurus Genome Assembly using New Sequencing Technologies

Camille Eché, Carole Iampietro, Clement Birbes, Andreea Dreau, Claire Kuchly, Arnaud Di Franco, Christophe C. Klopp, Thomas Faraut, Sarah Djebali, Adrien Castinel, et al.

SeqOccIn

INRAE
la science pour la vie, l'humain, la terre

Improvement of the *Bos taurus* Genome Assembly using New Sequencing Technologies

Camille Eche, Carole Iampietro, Clement Birbes, Andreea Dreau, Claire Kuchly, Arnaud Di Franco, Christophe Klopp, Thomas Faraut, Sarah Djebali, Adrien Castinel, Matthias Zytnicki, Erwan Denis, Mekki Boussaha, Cecile Grohs, Didier Boichard, Christine Gaspin, Denis Milan, and Cecile Donnadieu

Genotoul GeT

GenPhySE
Génétique, Physiologie et Systèmes d'Elevage

http://get.genotoul.fr
@Get_Genotoul

http://bioinfo.genotoul.fr
@BioinfoGenotoul

GABI

Genotoul Bioinfo

SeqOccIn

Acquire advanced expertise on the new high throughput sequencing technologies available

- Comparative potentials of technologies
- Identification of combinations of technologies to be implemented according to the objectives

… in four axes:

The Genome. Genome assembly and variant detection

The Epigenome. Studies of epigenetic marks that regulate gene expression

The Metagenomes. In-depth knowledge of communities

Data Management. High molecular weight DNA extraction and evolution of the IT infrastructure

Bos taurus
- 2.7 Gb genome size
- 30 Chromosomes
- 40 % Repeats

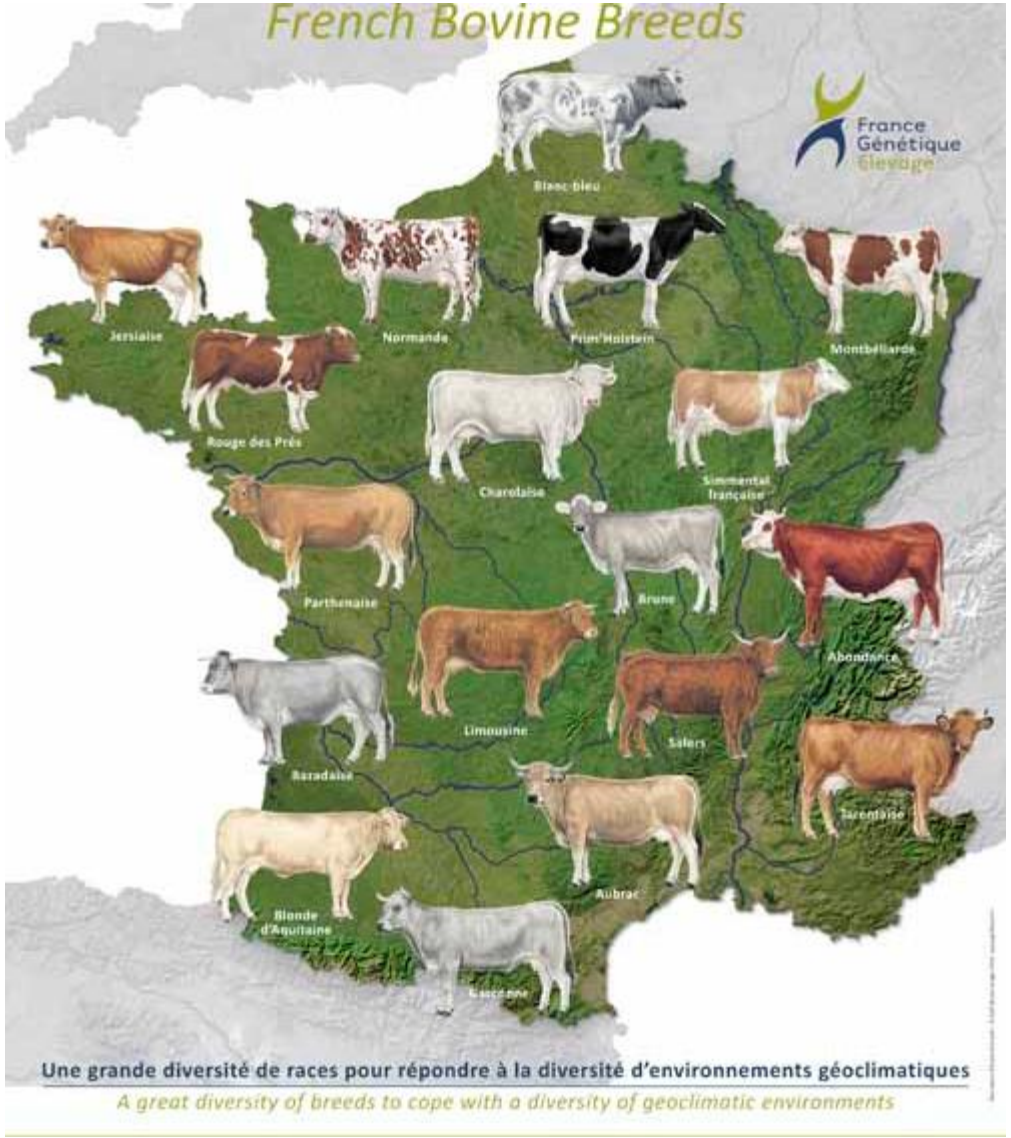
Zea mays
- 2.4 Gb genome size
- 10 Chromosomes
- **quasi homozygous**
- **85 % Repeats**

Genotoul GeT Genotoul Bioinfo

INRAE la science pour la vie, l'humain, la terre
Liberté • Égalité • Fraternité République Française
L'Europe s'engage L'Occitanie agit
Projet cofinancé par le Fonds Européen de Développement Régional

Why assemble a Charolais breed Bos taurus Genome?

- Leading suckling cattle breed in Europe (25% of the total cows)
- Internationnal extension
- Developped on grazing and extensive production systems
- Excellent maternal qualities with high growth protentiel and an excellent beef
- The specificities of its genome are poorly known



Genotoul GeT
Genotoul Bioinfo
INRAE la science pour la vie, l'humain, la terre
L'EUROPE S'ENGAGE L'OCCITANIE AGIT
Projet cofinancé par le Fonds Européen de Développement Régional

The reference genome ARS-UCD1.2

- Submitted by USDA Ars on April 2018
- Line-bred Hereford cow who was selected for her high level of inbreeding.

		ARS-UCD1.2
Assemblage	Data type	CLR
	Quantity	80X
	Number of contigs	3 077
	Total size	2 700 000 000
	N50 contigs length	12 000 000
Scaffolding	Data type	Hi-C / Optical + Recombination map
	Quantity	84X Hi-C
	Number of scaffolds	2 211
	Total size	2 715 853 794
	N50 scaffolds length	103 308 737
	BUSCO	C:95.8%

Genotoul GeT Genotoul Bioinfo
INRAE la science pour la vie, l'humain, la terre
Liberté • Égalité • Fraternité République Française
L'Europe s'engage l'Occitanie agit
Projet cofinancé par le Fonds Européen de Développement Régional

SeqOccIn

Technologies used for the study

1 Sample	2 Sequencing technology	3 Library type
Father	Oxford Nanopore Illumina	Ligation sequencing gDNA 10X Genomics Chromium Hi-C
Mother	Oxford Nanopore Illumina PacBio	Ligation sequencing gDNA 10X Genomics Chromium Hi-C Circular Long Read
Heifer	Oxford Nanopore Illumina PacBio	Ligation sequencing gDNA 10X Genomics Chromium PCR Free 2x250pb Hi-C Circular Long Read Consensus Long Read

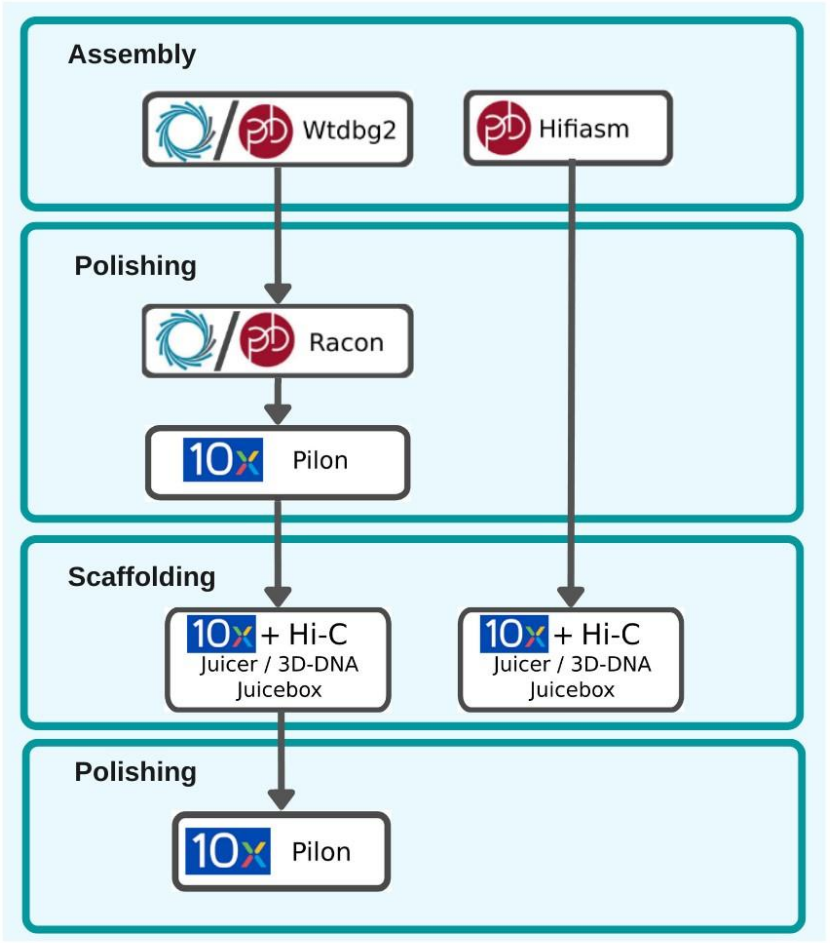
Create reference datasets for

- Genome assembly
- Haplotyping
- Variability discovery

Genotoul GeT Genotoul Bioinfo
INRAE la science pour la vie, l'humain, la terre
Liberté • Égalité • Fraternité République Française
L'Europe s'engage L'Occitanie agit
Projet cofinancé par le Fonds Européen de Développement Régional

SeqOccIn

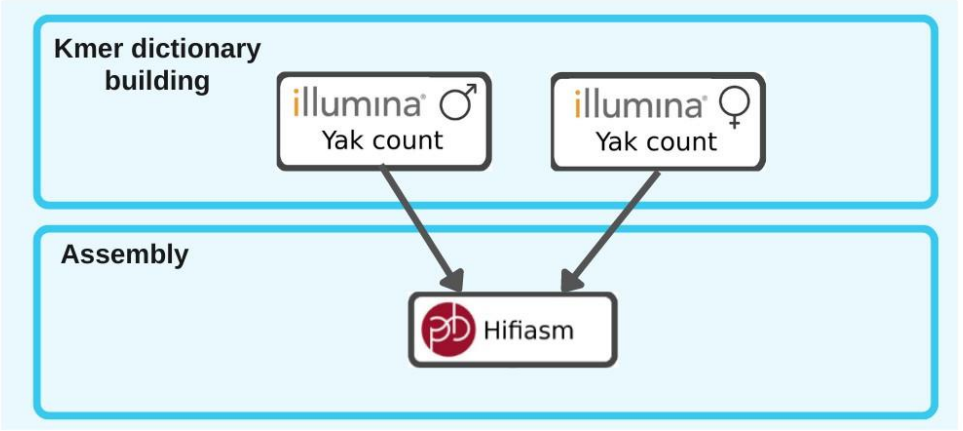
Methods and pipelines used



Long reads assemblies from ONT and CLR PacBio data

10X Chromium assembly

Phased assembly with HiFi and parental illumina reads



Phased assembly with HiFi and Hi-C data

nextflow

https://forgemia.inra.fr/seqoccin/

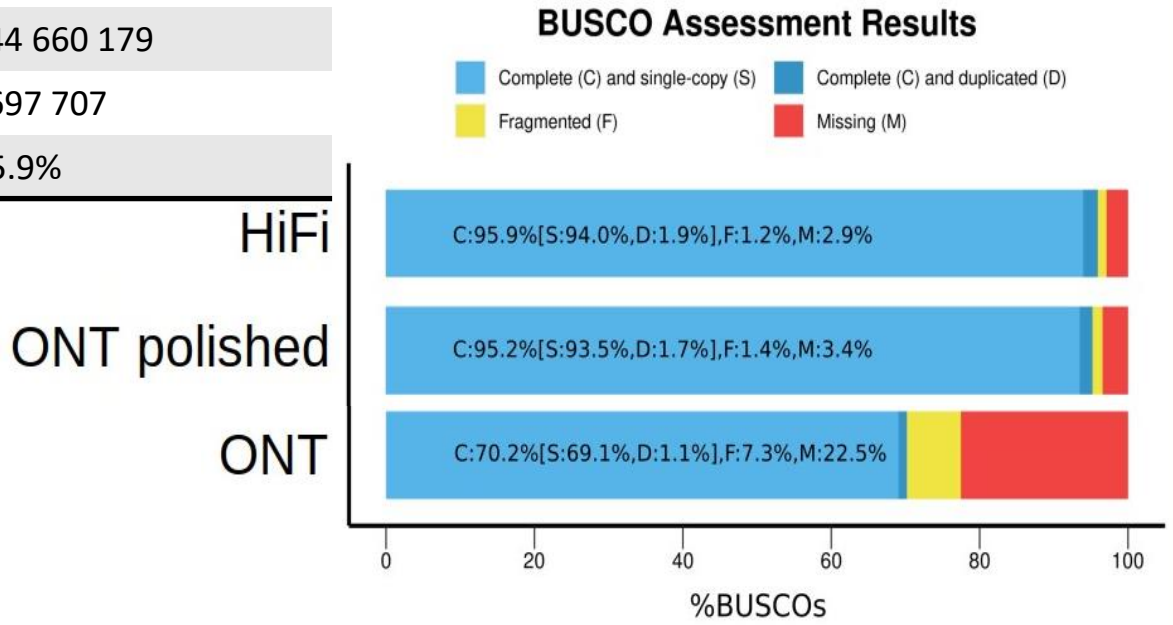
Genotoul GeT Genotoul Bioinfo

INRAE la science pour la vie, l'humain, la terre
Liberté • Égalité • Fraternité République Française
L'Europe s'engage L'Occitanie agit
Projet cofinancé par le Fonds Européen de Développement Régional

SeqOccIn

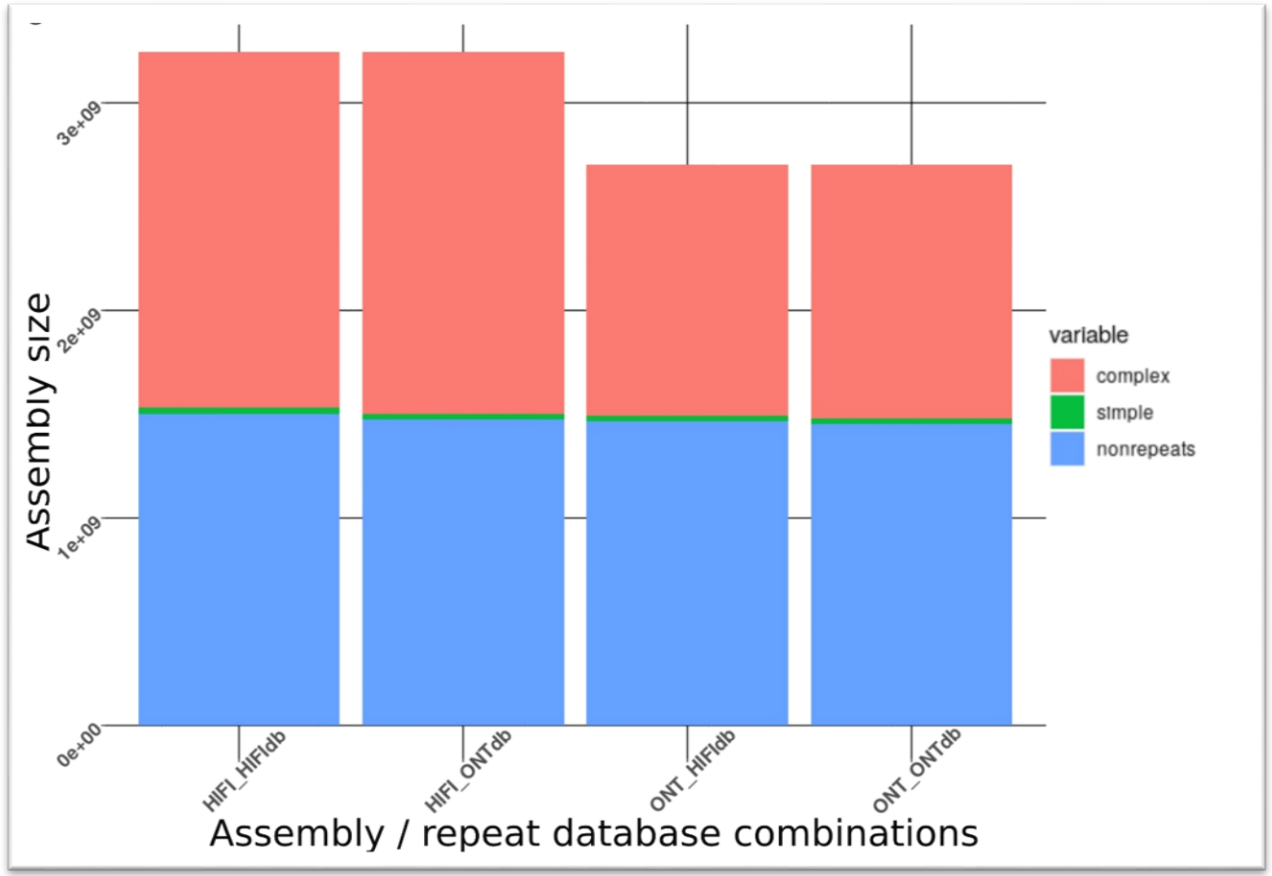
Assembly metrics

		ARS-UCD1.2	ONT	HiFi
Assemblage	Data type	CLR	ONT	HiFi CCS
	Quantity	80X	58X	40X
	Number of contigs	3 077	7 226	1 444
	Total size	2 700 000 000	2 701 288 401	3 244 632 679
	N50 contigs length	12 000 000	23 641 545	84 059 894
Scaffolding (after polishing)	Data type	Hi-C / Optical + Recombination map	Hi-C / 10X	Hi-C / 10X
	Quantity	84X Hi-C	28X / 95X	28X / 95X
	Number of scaffolds	2 211	4 600	1 391
	Total size	2 715 853 794	2 705 347 253	3 244 660 179
	N50 scaffolds length	103 308 737	100 959 810	87 697 707
	BUSCO	C:95.8%	C:95.2%	C:95.9%

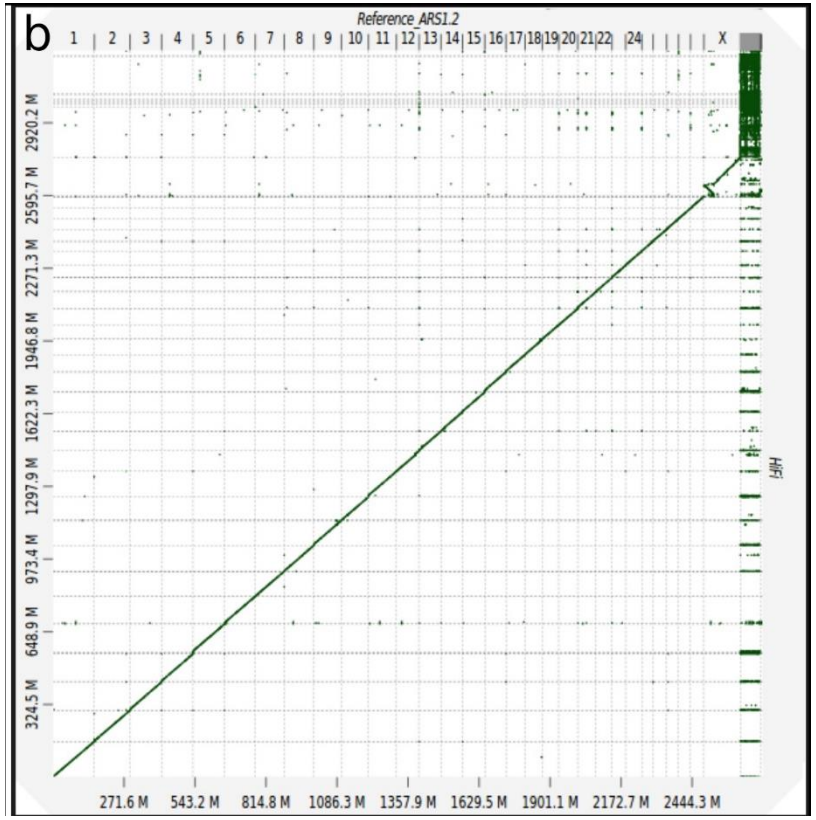


Genotoul GeT Genotoul Bioinfo

Charolais reference vs ARS reference



RepeatMasker / RepeatModeler representation of HiFi assembly and ONT assembly.

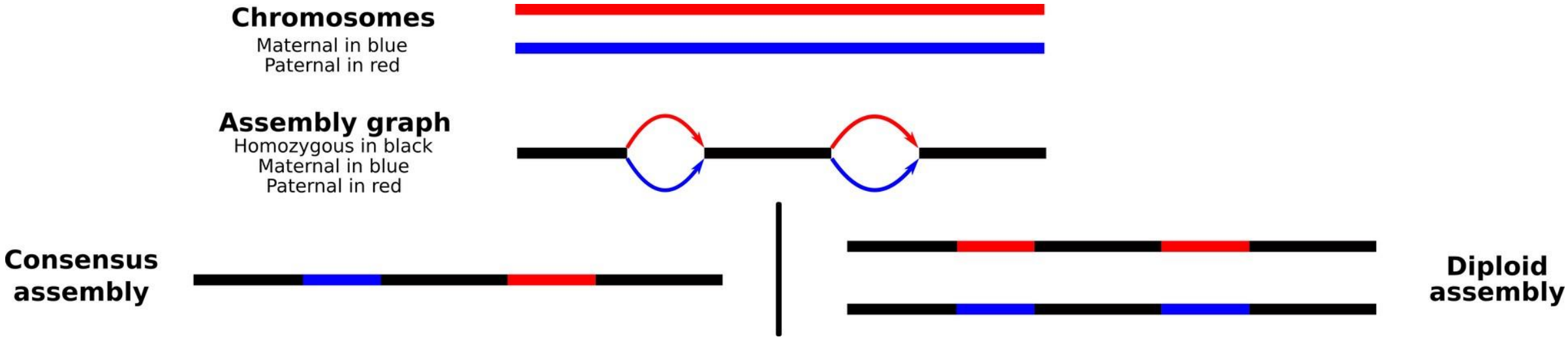


Dgenies Dot-Plot of HiFi Final assembly against Bos taurus reference ARS-UCD1.2

The additionnal information in the HiFi assembly is mainly complex duplications.

Phased assembly

A diploid assembly is an assembly in which the maternal and paternal haplotypes are separated to create 2 sets of chromosomes.



Different methods exist to create a diploid assembly:

- 1 Method using distant connection to separate haplotypes: Hi-C
- 1 Method resolving haplotype based on parental K-mers: Yak

SeqOccIn

Phased assembly

	ARS-UCD1.2	HiFi hifiasm parent hap1	HiFi hifiasm parent hap2	HiFi hifiasm Hi-C hap1	HiFi hifiasm Hi-C hap2
Data type	CLR	CCS + Trio	CCS + Trio	CCS + Hi-C	CCS + Hi-C
Quantity	80X	40X	40X	40X + 28X	40X + 28X
Number of contigs	3 077	2 871	2 300	2 685	2 136
Total size	2 700 000 000	3 156 028 877	3 113 483 345	3 0177 978 241	3 184 033 110
N50 contigs length	12 000 000	71 619 842	69 165 538	80 106 842	71 644 334
BUSCO	C:95.8%	C:95.8%	C:95.3%	C:95.8%	C:95.7%
Phasing ratio	*	97.3%	96.7%	62.6%	60.5%
Contigs phasing ratio	*	97.5%	96.9%	84.6%	85.6%

Hi-C separation is less efficient than parental separation but works fine on a contig level.

Genotoul GeT Genotoul Bioinfo
INRAE la science pour la vie, l'humain, la terre
Liberté • Égalité • Fraternité République Française
L'Europe s'engage L'Occitanie agit
Projet cofinancé par le Fonds Européen de Développement Régional

SeqOccIn

Assembly production

229 High quality assemblies generated

- Sus scrofa :

- 5 CLR assemblies
- 4 HiFi assemblies

- Bos Taurus :

- 6 ONT assemblies
- 9 CLR assemblies
- 154 CLR assemblies for variant
- 5 HiFi phased assemblies

- Capra Hircus :

- 7 CLR assemblies
- 1 HiFi phased assembly

- Ovis aries :

- 10 CLR assemblies
- 1 HiFi phased assembly

- Coturnix Japonica :

- 1 HiFi assembly
- 1 ONT assembly

- Zea_Mays :

- 25 HiFi assemblies

Genotoul GeT Genotoul Bioinfo
INRAE la science pour la vie, l'humain, la terre
Liberté • Égalité • Fraternité République Française
L'EUROPE S'ENGAGE L'OCCITANIE AGIT
Projet cofinancé par le Fonds Européen de Développement Régional

SeqOccIn

Conclusions and upcoming work

- ***Improvement of the Bos taurus genome***
  - ✓ One high quality consensus genome GCA_947034695.1 significantly larger than ARS-UCD1.2 -
  - ✓ Two haplotyped trio haplotyped trio high quality reference genome
  - ✓ Contribution to the bovine pangenome for the Charolais breed
- ***Production of whole genome LONG READ sequences for ~150 animals corresponding to several breeds***
  - ✓ Study **structural variations** at the whole genome level
  - ✓ Construction of several genome assemblies (corresponding to several breeds) ➔ **study the pangenome**
- ***Production of both long and short reads for several trios***
  - ✓ Construction of genome references using long read data
  - ✓ Construction of haplotype graphs using the trio-binning approach
    - ➔ Construct several breed specific haplotype graphs
    - ➔ **study the pangenome**

Breed	Number of animals
HOL	25
MON	25
NOR	25
BSW	5
SIM	5
ABO	10
TAR	5
VOS	4
BLA	10
CHA	10
LIM	10
AUB	10
FLA	3
PAR	3
Total	**150**

Trios	Breeds
Trio 1	**CHA**
Trio 2	**CHA**
Trio 3	HOL x NMD
Trio 4	YAK x MON
Trio 5	AUB
Trio 6	BAQ
Trio 7	**ABO**
Trio 8	**TAR**
Trio 9	**VOS**

Genotoul GeT Genotoul Bioinfo
INRAE la science pour la vie, l'humain, la terre
Liberté • Égalité • Fraternité République Française
L'EUROPE S'ENGAGE L'OCCITANIE AGIT
Projet cofinancé par le Fonds Européen de Développement Régional

SeqOccIn

Conclusion

nextflow

forgemia.inra.fr/seqoccin

SCIENTIFIC DATA

Data paper accepted

data.gouv.fr

https://entrepot.recherche.data.gouv.fr/dataverse/seqoccin

https://github.com/GeTPlaGe/SeqOccIn

ENA

https://www.ebi.ac.uk/ena/browser/view/PRJEB60075

Thanks !

Genotoul GeT Genotoul Bioinfo

INRAE la science pour la vie, l'humain, la terre

Liberté • Égalité • Fraternité RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

L'EUROPE S'ENGAGE L'OCCITANIE AGIT

UNION EUROPÉENNE

Région Occitanie

Projet cofinancé par le Fonds Européen de Développement Régional

Prject partners

SeqOccIn

Coordination

Cécile Donnadieu
Christine Gaspin
Carole Iampietro
Denis Milan

Axe1 Génomique

Clément Birbes
Arnaud Di-Franco
Andreea Dréau
Camille Eché
Thomas Faraut
Carole Iampietro
Christophe Klopp
Claire Kuchly
Camille Marcuzzo
Amandine Suin
Matthias Zytnicki

Axe2 Epigénétique

Remy Félix Serres
Paul Terzian
Celine Vandecasteele
Christophe Klopp

Axe3 Métagénomique

Adrien Castinel
Jean Mainguy
Olivier Bouchez
Géraldine Pascal
Claire Hoede

Axe 4 Transversal

Amandine Broha
Abdias-Archimede Towe-Patipe
Erwan Denis
Romain Therville
Didier Laborie
Céline Noirot
Gérald Salin
Marie-Stéphane Trotard

GenPhySE

Julie Demars
Cédric Cabau
Sylvie Combes
Patrice Dehais
Thomas Faraut
Katia Feve
Nathalie Iannucelli
Sophie Leroux
Géraldine Pascal
Frédérique Pitel

MIAT

Matthias Zytnicki

GABI

Didier Boichard
Mekki Boussaha
Sébastien Fritz
Cécile Grohs
Aurelien Capitan

Le Moulon

Alain Charcosset
Johann Joets
Delphine Madur
Stéphane Nicolas
Rémi Séraphin
Clémentine Vitte