HaplotypeCaller GVCF Workflow

‘Best Practices’

Dr. Matthieu J. Miossec (@RealMattJM)

Bioinformatics analyst @ Wellcome Centre for human genetics

UNIVERSITY OF OXFORD

wellcome centre human genetics

Programa Unidad 9

- 17 de mayo (lunes) – Introducción a la genómica en la nube
- 19 de mayo (miércoles) – Introducción a la plataforma Terra
- **24 de mayo (lunes) – Otras herramientas en Terra (GATK mejores practicas)**

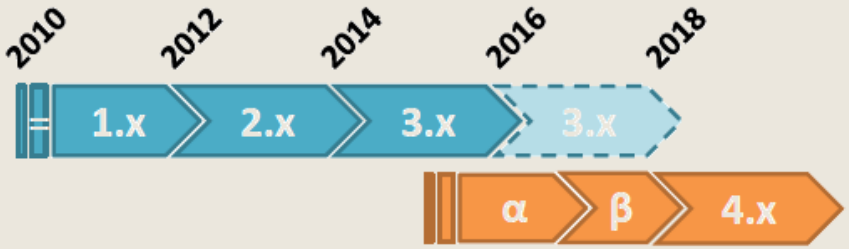
¡Felicitaciones!

- El miércoles, en un par de horas, logramos:
  - subir archivos BAM/BAI.
  - organizar nuestros datos de alineamiento y de referencia.
  - Parametrizar y ejecutar HaplotypeCaller, extrayendo variantes.
- Ya podríamos descargar el resultado de este trabajo (.VCF) y seguir trabajando localmente.
  - Pero no vamos a hacer eso, vamos a seguir trabajando en Terra usando el **Jupyter Notebook**.

Descubrimiento de variantes

- GATK ➔ **G**enome **A**nalysis **T**ool**K**it (https://gatk.broadinstitute.org/)
  - Suele se usa el término para hablar estrictamente del llamador de variante ➔ **HaplotypeCaller**
  - Pero en realidad GATK corresponde a mucho más, especialmente en su ultima versión GATK 4…

GATK 4

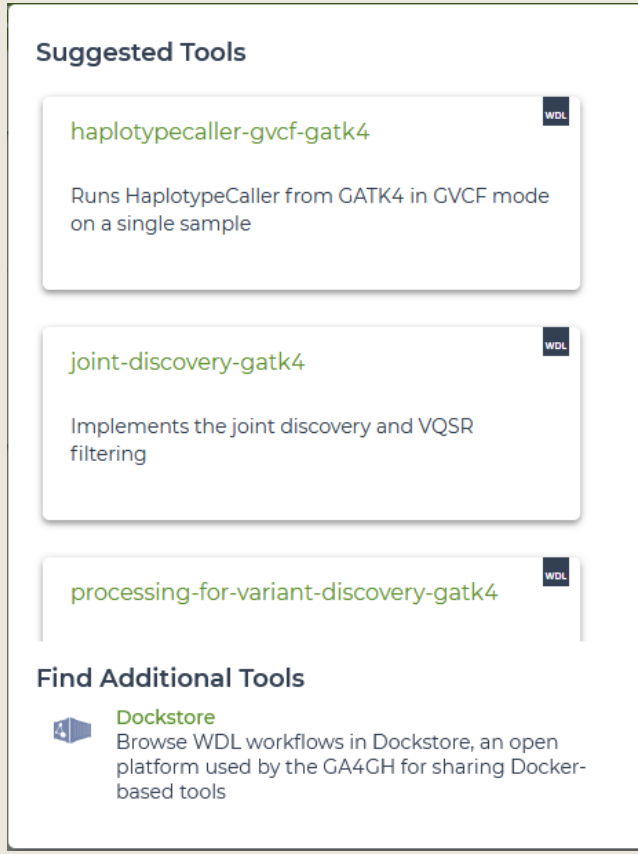


- Disponible desde 2018.
  - Ultima versión: 4.2.0.0
  - Open source: https://github.com/broadinstitute/gatk/
- Rediseñado para mejor **velocidad**, **escabilidad** y **versatilidad.**
- Incorpora herramientas para llamar varios tipos de variantes:
  - En varios estados de finalización

	GERMLINE	SOMATIC
SNPs & INDELs	**HaplotypeCaller GVCF**	**MuTect2**
Copy Number	**gCNV** (beta)	**CNV (ModelSegments)** (beta)
Structure Variation	**SVDiscovery** (beta)	(planned)

GATK 4 en la nube con Terra

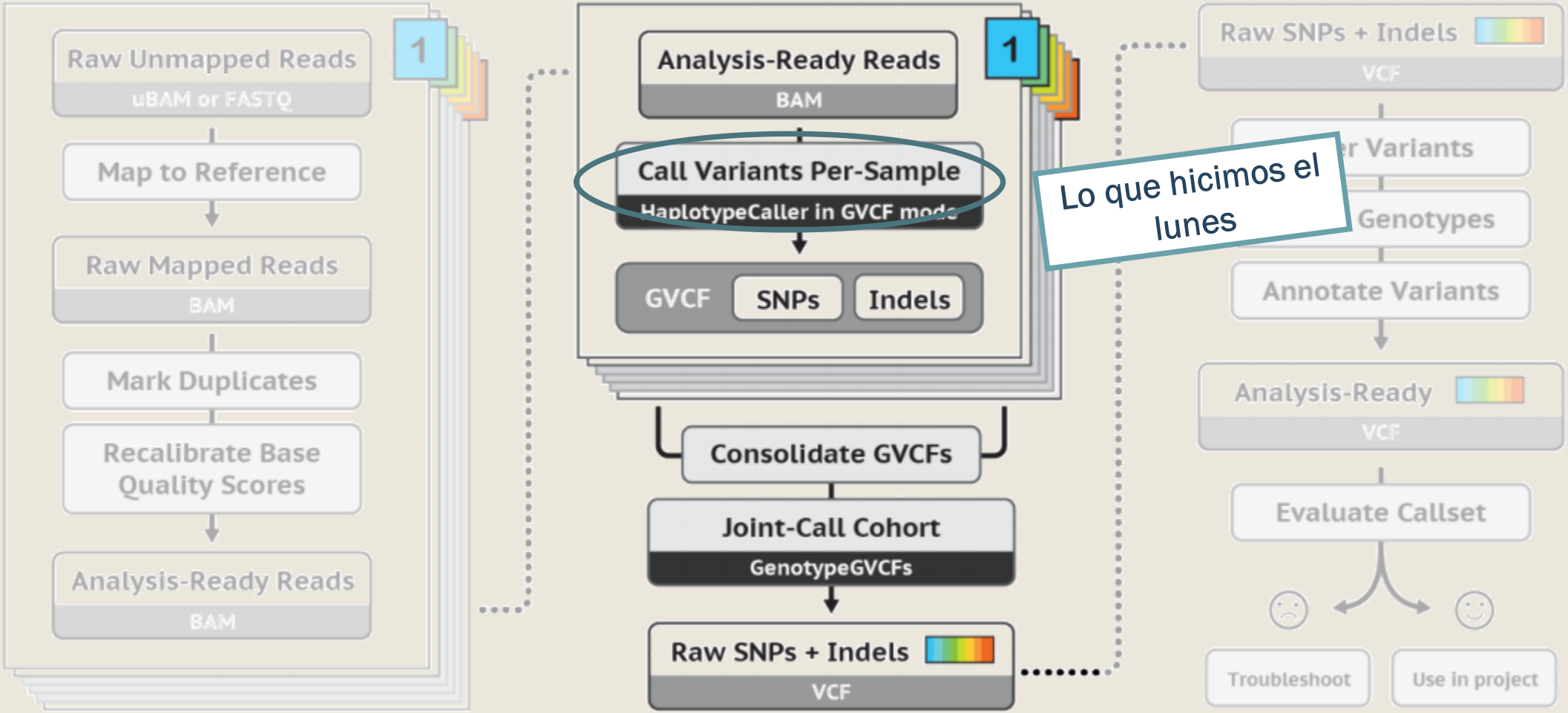
- GATK 4 también fue especialmente rediseñado para funcionar en la nube.
  - GATK 4 interface directamente con el API de Google
    ➔ Puede leer y acceder a partes de un archivo directamente del espacio en que esta almacenado sin copiarlo entero.
  - Todos los ‘workflows’ de GATK, siguiendo los ‘Best Practices’ están disponible en forma ejecutable en **Terra.**



¿Por qué GATK HaplotypeCaller GVCF?

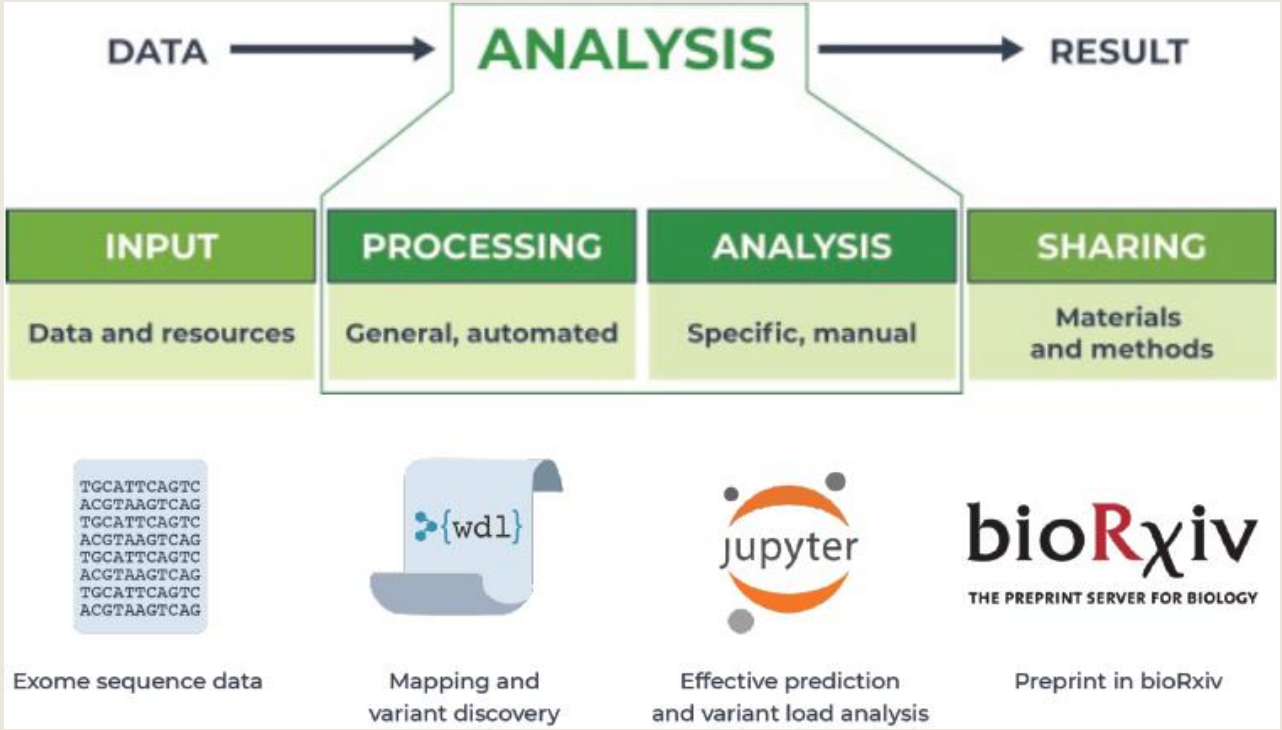
- GATK HaplotypeCaller
  - Considerado el **criterio de excelencia** en termino de llamado de variantes.
  - Respaldado por un **gran equipo de soporte**.
  - **Documentación** muy detallada.
  - **Reproducible** gracias a los ‘Best Practices’.
    - Especialmente reproducibles si están ejecutado en Terra!
  - Diseñado para ser muy escalable ➔ va a permitir llamar variantes en cohortes enormes (ej. +800 pacientes [exomas] con enfermedad congénita cardiaca)

GATK HaplotypeCaller GVCF ‘Best Practices’



Análisis en Tiempo Real

- En cada análisis llega un momento cuando el investigador quiere consultar los datos generados, aplicar filtros, reorganizar con tests estadísticos....



- Y así regresamos a trabajar con el **Jupyter notebook**!

Notebook

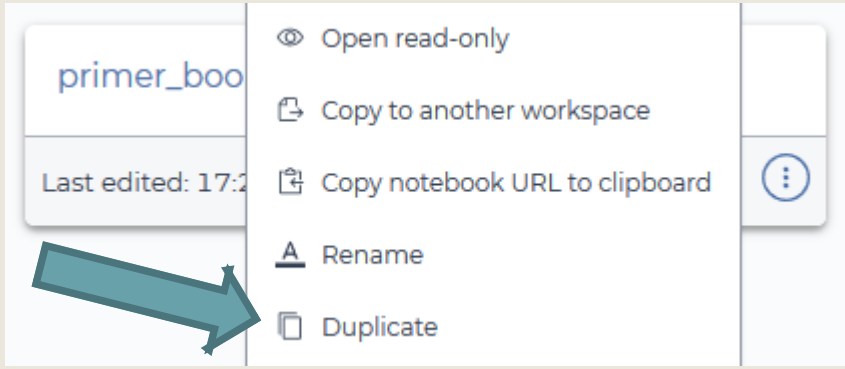
- El Jupyter notebook es un documento interactivo que puede contener y ejecutar líneas de código.
  - Originalmente pensado para tres lenguaje (**Ju**lia, **Pyt**hon y **R**), pero ahora cubre mucho más.
- En Terra, notebooks están disponible para Python 2, 3 y R.
  - Perfecto para descifrar y visualizar nuestros datos una vez la etapas de computo intensivo terminadas.

Configuración en Terra

- Para funcionar adentro de Terra, el notebook necesita un maquina virtual (abr. ing. VM).
  - Puede ser consultado sin VM, pero como documento fijo.
  - Cada vez que usamos el notebook configuramos una VM según nuestras necesidades computacionales.
    - Espacio disco
    - CPU
    - Memoria
  - Con cada ejecución tenemos una estimación del costo por hora.
    - Se apaga después de una media hora sin actividad pero mejor parrar la ejecución nosotros.

Cuidado: El notebook en un ‘workspace’ compartido

- Por razones de seguridad, la VM que uno genera para usar un notebook es solo accesible por la persona que lo genera, no puede ser compartida.
- **Consecuencia** = Si dos investigadores en un espacio de trabajo compartido están trabajando sobre el mismo notebook, uno puede borrar el trabajo del otro a través del autoguardado.
  - Por eso que existe la posibilidad de **duplicar notebook**!



Extra: Acceso al ‘Workspace’ en Jupyter notebook con *os.environ*.

- Para consultar los datos de nuestro espacio de trabajo más directamente necesitamos hacer establecer el siguiente.

Python

```
import os

BILLING_PROJECT_ID = os.environ['WORKSPACE_NAMESPACE']
WORKSPACE = os.environ['WORKSPACE_NAME']
bucket = os.environ['WORKSPACE_BUCKET']
```

R

```
project <- Sys.getenv('WORKSPACE_NAMESPACE')
workspace <- Sys.getenv('WORKSPACE_NAME')
bucket <- Sys.getenv('WORKSPACE_BUCKET')
```

Extra: Guardar datos del Jupyter notebook en el Bucket

- Durante la ejecución del notebook, podemos subir y guardar archivos usando las clases que existen en Python y R para estas operaciones, pero...
  - Al cerrar la VM, estos archivos dejan de existir!
- Para guardarlos en el cubo Google:

Python

```
#Copy the file data.txt in the notebook into the bucket
!gsutil cp ./data.txt $bucket

#Run list command to see if file is in the bucket
!gsutil ls $bucket
```

R

```
#Copy the file data.txt in the notebook into the bucket
system(paste0("gsutil cp ./data.txt ",bucket),intern=TRUE)

#Run list command to see if file is in the bucket
system(paste0("gsutil ls ",bucket),intern=TRUE)
```