```
┌─────────────────────┐     ┌─────────────────────┐     ┌─────────────────────┐     ┌─────────────────────┐
│ Sequencing quality  │ ──▶ │ Adapter and quality │ ──▶ │ Alignment to the    │ ──▶ │ Duplicate read      │
│ check               │     │ trimming            │     │ genome              │     │ marking             │
│ FASTQC              │     │ TrimGalore!         │     │ BWA                 │     │ Picard              │
└─────────────────────┘     └─────────────────────┘     └─────────────────────┘     │ MarkDuplicates      │
                                                                                     └─────────────────────┘
                                                                                              │
                                                                                              ▼
                                                                                     ┌─────────────────────┐
                                                                                     │ Merge filtered      │
                                                                                     │ alignments across   │
                                                                                     │ replicates          │
                                                                                     │ Picard              │
                                                                                     └─────────────────────┘
                                                                                              │
                                                                                              ▼
                                                                                     ┌─────────────────────┐
                                                                                     │ Remark duplicates   │
                                                                                     │ Picard              │
                                                                                     │ MarkDuplicates      │
                                                                                     └─────────────────────┘
                                                                                              │
                                                                                              ▼
                                                                                     ┌─────────────────────┐
                                                                                     │ Remove duplicate    │
                                                                                     │ reads               │
                                                                                     │ SAMTools            │
                                                                                     └─────────────────────┘
                                                                                              │
┌─────────────────────┐     ┌─────────────────────┐                                          ▼
│ Create consensus    │ ◀── │ Peak Calling        │ ◀──────────────────────────────┌─────────────────────┐
│ peakset across all  │     │ MACS2               │                                │ Create normalised   │
│ samples             │     └─────────────────────┘                                │ bigWig files scaled │
│ BEDTools            │              │                                             │ to 1 million mapped │
└─────────────────────┘              ▼                                             │ reads               │
         │                  ┌─────────────────────┐                                │ BEDTools,           │
         ▼                  │ Peak Annotation     │                                │ bedGraphToBigWig    │
┌─────────────────────┐     │ HOMER               │                                └─────────────────────┘
│ Count reads in      │     └─────────────────────┘
│ consensus peaks     │
│ relative to merged  │
│ library-level       │
│ alignments          │
│ featureCounts       │
└─────────────────────┘
```

ENCODE ATACseq Data Standards and Processing Pipeline: https://www.encodeproject.org/atac-seq/#standards

**Center for Computational Biology and Bioinformatics (CCBB) 2024**

⋈ **Scripps Research**