LDBlocksShow

中英文使用手册

a fast and effective tool for Show Region Linkage disequilibrium heatmap Figure analysis based on variant call format files

一种基于 vcf 格式文件快速计算某一区间的连锁程度热度图的工具

Version 1.04

2020-03-19

hewm2008@gmail.com / hewm2008@qq.com

Contents

注： 倒三角 就是该区域的两两 SNP 的 LDHeatMap

背景介绍

群体全基因组关联分析 GWAS 中，常关联到一些点，要看看这些点带动周边其它点连锁程度，一般须要计算这一区间里面的 SNP 两两之间的关联系数(r^2)和 LD blocks 等。现存在两个比较常用的软件 Haploview4.2.jar 和 R 包 Ldheatmap，但这两个软件都存在很多不够之处。如区域较大，里面的 SNP 多的话，则这两个软件的用到的计算资源极大。 还有格式转化等不方便。
现以 1000 个位点 1000 个样品来评价。

1 Haploview 要用到的内存是 95G，其中计算时间长达 36 小时。
2 Ldheatmap 虽然内存只用到 1G, 但计算时长也达 48 小时并且没有 LD Blocks 的输出信息
3 两个软件的结果和 GWAS 的图要整合在一起时，须要手动 AI 操作浪费人力时间。
4 输出的图须要小修时，须又要重新计算，浪费时间。

基于上面等原因，特此开发本软件，在同等 1k 位点和 1k 的样品中，只须用到 1G 内存同时只须要 1 小时的计算时间就可以出结果同时可以存出中间重要文件，软件还同时提供 用户自己作图修改的程序，可以传递参数控制最终图的效果。即主要达到如下几个效果

1 计算资源少，内存和时间 综合起来都比原来的好
2 计算后自动画图之后，还要支持自己画图，即可以通过参数来控制最终图
3 通用易用，可以直接读 vcf 格式，同时画图可以支持别的软件的 blocks 格式
4 更多功能，如将 GWAS 结果图示，即显示该区域的一些其它统计量等特征

即有 LDBlocksShow 相对其它两个软件在结果是一致的前提下，用到的计算资源更少，更容易使用。

Software	Mem (G)	Cpu Time (h)	Result
Haploview4.2.jar	95	36	heatMap+Block
R: Ldheatmap 0.99	1	48	heatMap
LDBlocksShow 1.02	1	1	heatMap+Block+(GAWS)

下载安装

下载:

后期将会在 github 网址部署，可以 git clone 等下载
https://github.com/BGI-shenzhen/LDBlockShow/

安装:

方法 1 linux/Unix 和 macOS 下的

```
git clone https://github.com/BGI-shenzhen/LDBlockShow.git
chmod 755 configure; ./configure;
make;
mv LDBlockShow bin/;      #       [rm *.o]
```

Note: 最后 link 失败的话,可以试重装安装 zlib 库(https://zlib.net/)

方法 2 linux/Unix 和 macOS 下的

```
tar -zxvf LDBlockShowXXX.tar.gz
cd LDBlockShowXXX;
cd src;
make ; make clean                          # or [sh make.sh]
../bin/LDBlockShow
```

Note: 最后 link 失败的话,可以试重装安装 zlib 库(https://zlib.net/)

方法 3
我们可以提供了 linux/Unix 下 64 位的静态编译， 可以解压直接运行，若如果存在安装麻烦的话，可以直接联系我~

参数说明

除了主程序 LDBlockShow 之外，我同时也提供多了一个 ShowLDSVG 程序，用户若对 LDBlockShow 输出的结果做一些细节调整，或者添加 GWAS 等其它信息，可以再运行 ShowLDSVG 美化结果，丰富图片结果

LDBlockShow:

简要参数

程序 LDBlockShow，其中程序只须要一个输入文件 In.vcf 和指定区域就可以计算并画出对应的 LDheatMap 图，很中画图的参数除了默认之外，还会根据文件的 SNP 数据自动优化。如下是程序 LDBlockShow 的简要参数，

```
[heweiming@cngb-ologin-25 bin]$ ./LDBlockShow

    Usage: LDBlockShow   -InVCF   <in.vcf.gz> -OutPut <outPrefix>   -Region   chr1:10000:20000

        -InVCF          <str>       Input SNP VCF Format
        -OutPut         <str>       OutPut File of LD Blocks

        -Region         <str>       In One Region to show LD info svg Figture

        -BlockType      <int>       Method to detect Block [beta]
                                     1: Gabriel Method 2 Solid Spine of LD [1]
                                     3: Block by Created plink

        -help                       Show more Parameters and help [hewm2008 v1.06
```

-InVCF　　输入群体 VCF 格式，即入文件
-Region　　输入一个指定的区间，即显示该区间的 LDHeatMap 图，
　　格式为 【chr:start:end】　中间用冒号隔开 ：
-OutPut　　输出文件路径

-BlockType　　检测 LD blcocsk 的方法，初步有三个选项，　第三种是调动外部 plinks 软件

-help　　查看更多的参数说明，如过滤 SNP 的，如画图的

详细参数

```
./LDBlockShow -h

        More Help document please see the Manual.pdf file
        Para [-i] is show for [-InVCF], Para [-o] is show for [-OutPut], Para [-r] is show for [-RegionOne],

            -SubPop         <str>       SubGroup Sample File List[ALLsample]
            -MAF            <float>     Min minor allele frequency filter [0.05]
            -Het            <float>     Max ratio of het allele filter [0.88]
            -Miss           <float>     Max ratio of miss allele filter [0.25]

            -BlockCutRR     <float>     'Strong LD' high confidence interval RR cutoff for Block[0.90]
            -TagSNPCutRR    <float>     'Strong LD' high confidence interval RR cutoff for TagSNP[0.98]
            -RatioRR        <float>      Ration of Gabriel Blocks for 'Strong LD' pairwise SNP [0.85]
```

-SubPop　　如果只用到一些样品(子群)来算，则样品放在一文件，以此参数传递
-MAF　　过滤位点，把低频的位点过滤掉，默认是 0.05
-Het　　过滤位点，把高杂合的位点过滤掉，默认是 0.88
-Miss　　过滤位点，把碱基缺失多的位点过滤掉，默认是 0.25

-BlockCutRR　定义超连锁,强关联的两个 SNP 的 R^2，默认是 0.90
-TagSNPCutRR 定义 Blocks 里面 **TagSNP** 的选择条件，两个超强关联 SNP，只取一个
-RatioRR　　检测 blocks 的一个标准，当这个 blocks 里面的有 ratio 的比例是强关联

ShowLDSVG:

简要参数

ShowLDSVG　主要对程序自动出来的图如果不满意，可以手动传递参数以美化结果。如下是期简要的参数

```
./ShowLDSVG

        Options

          -InPreFix     <s> :   InPut Region LD Result Frefix
          -OutPut       <s> :   OutPut svg file result

          -help                 : Show more help with more parameter
```

-InPreFix　　输入文件，即就是 LDBlockShow 的输出文件

-OutPut　　输出文件，SVG 结果，同时也提供 png 格式文件

-help　　查看更多参数

详细参数

```
./ShowLDSVG    -h

        -InGWAS      <s>    : InPut GWAS Pvalue File(chr site Pvalue)
        -NoLogP             : Do not get the log Pvalue
        -Cutline     <s>    : show the cut off line of Pvlaue

        -InGFF       <s>    : InPut GFF3 file to show Gene CDS and name

        -crBegin     <s>    : In Start Color RGB [255,255,255]
        -crEnd       <s>    : In End Color RGB [255,0,0]
        -NumGradien  <s>    :In Number of gradien of color
        -crTagSNP    <s>    : Color for TagSNP [31,120,180]

        -CrGrid      <s>    : the color of grid stroke [white]
        -WidthGrid   <s>    : the stroke-width of gird [1]
```

GWAS:

--InGWAS　　输入文件，即要结果 gwas 的文件，联合上下作图 ，
格式为三列文件（hr site Pvalue）

--NoLogP　　对 Pvalue 值不进行 取-log() 进行转换

--Cutline　　gwas 中的 cut off 线

--InGFF　　输入 GFF 文件，即可以标出基因的结构和名字
（blue 为 CDS; Orange 为 intron　yellow 为 UTR,上面有基因名）

Cor:

-crBegin　　开始颜色,对应弱关联(R^2=0),默认为 白色

-crEnd　　终止颜色,对应弱关联的(R^2=1),默认为 红色

-NumGradien　开始颜色到终止颜色的渐变份数

Grid:

-CrGrid　　网格边缘的颜色 ，默认为 白色

-WidthGrid　　网格边缘线条的宽度，默认为 1

-NoGrid　　不显示网格边缘信息

输出文件

，输入文件为群体的 VCF 变异文件，自然不须要介绍，对输出文件，程序为了让用户自己可以根据需求调整作图，美化图片，连同中间输出结果都输出来，如有如下几个文件。

输出文件	说明和格式
out.site.gz	为过滤后参与计算的 SNP 位点，格式为两列，【chr Site】
out.blocks.gz	为程序判断得到的 Blocks 结果文件，主要前面三列【Chr Start End】
out.TriangleRR.gz	为两两之间的连锁程序 R^2 ,为矩阵的一半，倒三角
out.svg	为最终要看的图片，svg 为矢量图
out.png	为最终要看的图片，png 为位点图,以防 svg 过大打不开
输入文件	说明和格式
In.vcf	VCF 格式，群体检测变异的结果文件
gwas.pvlue	GWAS 的结果，格式主要有三列【chr Site Pvlue】，可选项，非必须

经典实例

实例 1：倒三角+默认 LD Blocks

程序考虑为了大家易用方便使用，仅输入群体 VCF 格式和指定区域即可。
具体可以进入程序的 LDBlocksShow/example/Example1 里面查看，如下是代码

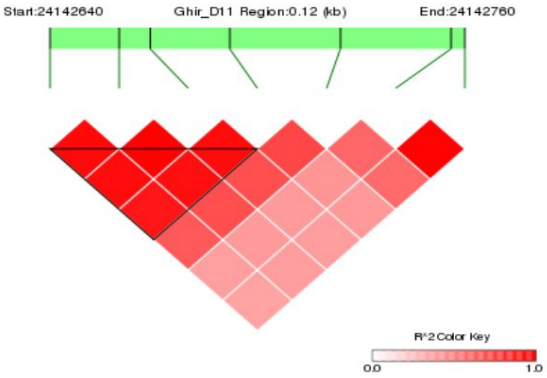
```
../../bin/LDBlockShow  -InVCF Test.vcf.gz  -OutPut out -Region Ghir_D11:24100000:24200000
```

如下截图：

```
[heweiming@cngb-ologin-25 Example1]$ ll
total 384K
-rwxr-xr-x 1 heweiming bc_pap  206 Feb  7 16:58 run.sh
-rw-r--r-- 1 heweiming bc_pap 377K Jan 20 16:02 Test.vcf.gz
[heweiming@cngb-ologin-25 Example1]$ cat  run.sh
#!/bin/sh
#$ -S /bin/sh
#Version1.0     hewm@genomics.cn        2020-01-10
echo Start Time :
date
../../bin/LDBlockShow   -InVCF Test.vcf.gz   -OutPut  out   -Region  Ghir_D11:24100000:24200000
echo End Time :
date
[heweiming@cngb-ologin-25 Example1]$ sh run.sh
Start Time :
Tue Feb 18 13:40:21 CST 2020
#Detected VCF File is phased file with '|', Read VCF in Phase mode
##Start Region Cal...    :Ghir_D11 24100000 24200000; In This Region TotalSNP Number is 7
find blocks...
Start draw... SVG info: SNPNumber :7 , SVG (width,height) = (402.5,297.5)
convert   SVG ---> PNG ...
End Time :
Tue Feb 18 13:40:22 CST 2020
[heweiming@cngb-ologin-25 Example1]$ ls
out.blocks.gz  out.png  out.site.gz  out.svg  out.TriangleRR.gz  run.sh  Test.vcf.gz
```

说明：

只要运行就可以得到上面列的 5 个文件，其中 out.svg/out.png 为最终要的图

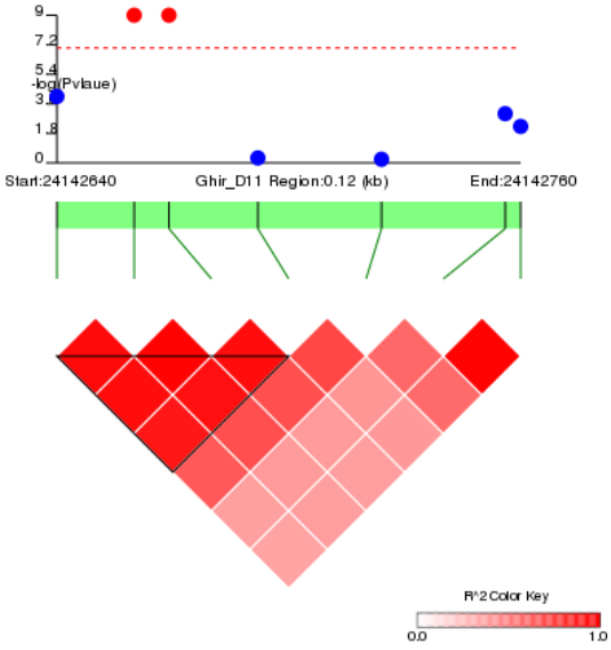


实例 2：**倒三角+默认 LD Blocks + GWAS**

如上面实例 1 虽然得到倒三解图和 LD blocks 的结果，但常还要加上一些 GWAS 的信息上去，那么只要把 gwas 格式整理成三列【chr site Pvlue】，即可以用-InGWAS 参数传。具体可以进入程序的 LDBlocksShow/example/Example2 里面查看，如下是代码

```
#../../bin/ShowLDSVG      -InPreFix      ../Example1/out    -OutPut    out.svg   -InGWAS     gwas.pvlue
../../bin/ShowLDSVG       -InPreFix      ../Example1/out    -OutPut    out.svg   -InGWAS     gwas.pvlue    -Cutline    7
```

如上只用到 ShowLDSVG 重新画图即可，得到的最图同共是是 out.svg 和 out.png



实例 3：倒三角+plinks LD Blocks

本程序找 LD block ,相对 Haploview 和 plinks 在大的 blocks 差别很大，但碎的 LD blocks 均存在一点差别，目前本程序检测 LD blocks 的算法和细节取取后期调整改进，期望达到 plinks 的结果一模一样的结果，此外由于 plinks 在计算 LD blocks 十分快，本程序已经兼容其 LD blocks 的结果，只须须要把结果替换进去，同时重新画画一下图。具体可以进入程序的 LDBlocksShow/example/Example3 里面查看。
在 1.06 之后 可以直接添加 -BlockType 3 即可以直接调用 plinks 1.9 生成 block 信息。

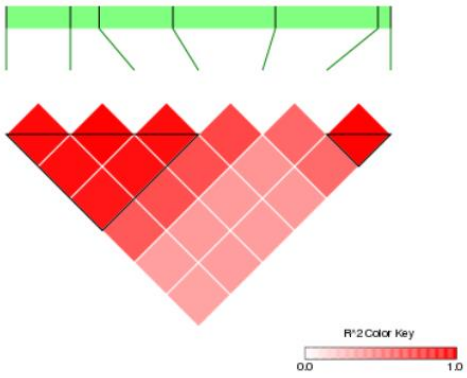
具体可以进入程序的 LDBlocksShow/example/Example1 里面查看，如下是代码

```
../../bin/LDBlockShow -InVCF Test.vcf.gz -OutPut out -Region Ghir_D11:24100000:24200000 -BlockType 3
```

```
## 这是以前建议的做法，
#./plink-1.9/plink --vcf ../Example1/Test.vcf.gz --geno 0.1 -maf
          0.01      --blocks  no-pheno-req    --out    plink  --allow-extra-chr
#cp  ../Example1/out.* ./;
#rm  out.blocks.gz  ; mv    plink.blocks.det   out.blocks ; gzip  out.blocks ; rm  plink.*
#../../bin/ShowLDSVG  -InPreFix   ./out   -OutPut out.svg
```

如上将 block 结果文件件替换换一下，然后后 ShowLDSVG 重新画图得到的最图

同共是 out.svg 和 out.png。 仅 blocks 有不一致而已。



实例 4：倒三角+plinks LD Blocks + GWAS

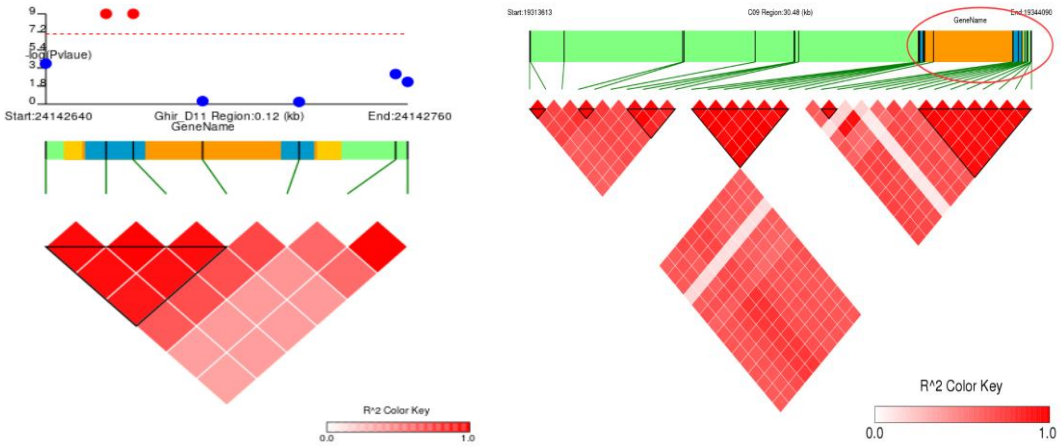
把实例 2 的输入文件（即实例 1 的)切换为（即实例 3 的)的输入文件即可，输出的结果结果和实例 2 类同，在这不过过多显示，具体进入 LDBlocksShow/example/Example4 查看

实例 5：**倒三角+默认 LD Blocks (+ GWAS)+GeneStuct**

如上面实例 1 虽然得到倒三解图和 LD blocks 的结果，但常还要加上一些基因的名字和结构上去，即可以用-InGFF 参数传 gff 格式文件。具体可以进入程序的 LDBlocksShow/example/Example5 里面查看，如下是代码

```
../../bin/ShowLDSVG -InPreFix ../Example1/out -OutPut out.svg -InGWAS gwas.pvlue -Cutline 7 -InGFF In.gff
#../../bin/ShowLDSVG -InPreFix ../Example1/out - OutPut out.svg -InGFF In.gff
```

如上只用到 ShowLDSVG 重新画图即可，得到的最图同共是是 out.svg 和 out.png



如上 blue 为 CDS; Orange 为 intron， yellow 为 UTR,上面有基因名 GeneName.

常见问题

本软件使用起来十分方便，对输入文件没有过多，只须要提供一个群体的 SNP 文件（VCF 格式）和指定区域的就行， 总体来说使用十分方便，占用计算资源也十分少。

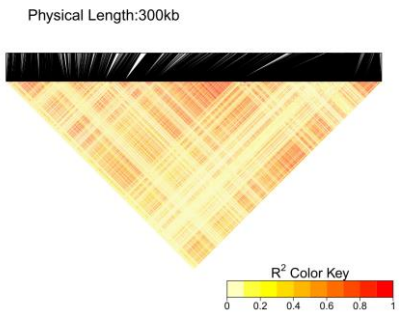
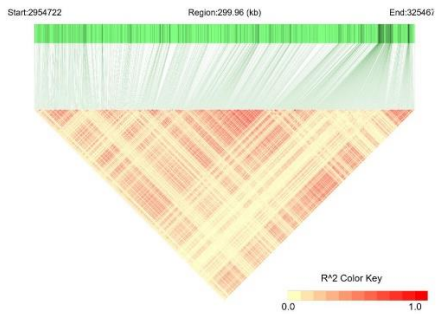
问题 1 结果准确性

程序计算如此快，是否结果有问题，是否倒三角和 LDheatMap 的是一致的。

答 ：逻辑存在问题，并不是计算越久就越好，plink 算 LD blocks 时速度相当快，结果也和 Haploview 一致。

1 本程序经过和 Haploview 和 R:LDheatmap 比较，其倒三角的数据均是一致的，即结果完全无误，如下是用户用了 LDheatMap 的图，和本程序画的倒

三图比较，均无两异，如下所示

R:LDheatmap	LDBlockShow
	

2 至于 LD block ，目前软件找到的 ld blocks 均相对 plink 和 Haploview 在默认下 大致是一致的，特别是大的 block 是对的，可能是碎的 blocks 存在小差别

问题 2 显示 region 的其它 Pi 可以否?

这一个可以 -InGwas 的第三列 Pvalue 值用为你自己的数据即可，加上-NoLogP 即可，对不对这一值进行-log 置换，和实例 2 运行即可。

若还要同时显示更多其它特性的话，可能要对代码进行小修改，在这若有更多需求的话，后面可以考虑添加这一功能
步骤中，主要的功能就是画图，根据各种组合各种需求各种情景画的

Reference[1,2]

1. Zhang, C. *et al.* PopLDdecay: a fast and effective tool for linkage disequilibrium decay analysis based on variant call format files. *Bioinformatics* (2018).
2. Evans, L.M. *et al.* Population genomics of Populus trichocarpa identifies signatures of selection and adaptive trait associations. *Nat Genet* **46**, 1089-96 (2014).