Theory: SAM/BAM files

deNBI Course March 2019

(lectured by Martina Fröhlich, slides based on lecture by Barbara Hutter)

Alignment Output Format

- Storing alignments of fragments (reads) against reference sequences
- Current standard: **SAM** (Sequence Alignment/Map) format
 - tab-delimited text format
 - information about:
 - order and lengths of the reference sequences
 - the alignment of each read (fragment):
 - Start position
 - Orientation
 - Alignment quality
- quality scores preserved
- for paired end reads, information on the mate included
 - location
 - insert size or "observed template length"
 - Length of the genomic segment covered by the complete fragment
 - Number of bases from the leftmost mapped base to the rightmost mapped base
- **BAM** = binary version of SAM

Header of a SAM file

```
@HD VN:1.0 GO:none SO:coordinate
@SQ
     SN:chr1 LN:249250621
@SQ SN:chr10
                LN:135534747
@SQ SN:chr11
                LN:135006516
@SQ
     SN:chr12
                LN:133851895
@SQ SN:chr13
                LN:115169878
@SQ SN:chr14
                LN:107349540
@SQ SN:chr15
                LN:102531392
@SQ SN:chr16
                LN:90354753
@SQ SN:chr17
                LN:81195210
@SQ SN:chr18
                LN:78077248
@SQ SN:chr19
                LN:59128983
@SQ SN:chr2 LN:243199373
@SQ SN:chr20
                LN:63025520
@SQ SN:chr21
                LN:48129895
@SQ SN:chr22
                LN:51304566
@SQ SN:chr3 LN:198022430
@SQ SN:chr4 LN:191154276
@SQ SN:chr5 LN:180915260
@SQ SN:chr6 LN:171115067
@SQ SN:chr7 LN:159138663
@SQ SN:chr8 LN:146364022
@SQ SN:chr9 LN:141213431
@SQ SN:chrM LN:16571
@SQ SN:chrX LN:155270560
@SQ SN:chrY LN:59373566
     ID:111116_SN952_0061_AD0C8YACXX_L007 PL:ILLUMINA LB:MB51 MBBL51
@RG
SM:sample MB51 MBBL51
@RG ID:111125 SN841 0105 BD0FVHACXX L005 PL:ILLUMINA LB:MB51 MBBL51
SM:sample MB51 MBBL51
@RG ID:111125 SN841 0105 BD0FVHACXX L006 PL:ILLUMINA
                                                       LB:MB51 MBBL51
SM:sample MB51 MBBL51
@RG ID:120111 SN509 0136 AD0C9JACXX L005 PL:ILLUMINA LB:MB51 MBBL51
SM:sample MB51 MBBL51
@PG ID:bwa PN:bwa VN:0.5.9-r16
```

@HD: general information
SO = sort order
@SQ: reference genome information
chromosomes, their length
@RG: read group information
@PG: program used for alignment
(and further processing)

Example for a BWA mapped read

```
HWI-ST841:105:D0FVHACXX:6:1102:19098:45810 153 chr1 9996 37 6M1I94M = 9996 0

TCCGATCTACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCTAACCCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCCTAACCTAACCCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCT
```

coordinates of "spot": identifier:lane:tile:x:y

Example for a BWA mapped read

```
HWI-ST841:105:D0FVHACXX:6:1102:19098:45810 153 chr1 9996 37 6M1I94M = 9996 0
TCCGATCTACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCTA
```

alignment coordinates (here: chr1, start at pos. 9996)

Example for a BWA mapped read

```
HWI-ST841:105:D0FVHACXX:6:1102:19098:45810 153 chr1 9996 37 6M1I94M = 9996 0
TCCGATCTACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCTAACCCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCTAA
```

SAM format flag field

Bit in HexCode	Description	numeric
0x0001	paired in sequencing	1
0x0002	mapped in a proper pair (normally Inferred	
	during alignment form the insert size distribution	n) 2
0x0004	read (query sequence) itself is unmapped	4
0x0008	mate is unmapped	8
0x0010	strand of the query (1 for reverse)	16
0x0020	strand of the mate (1 for reverse)	32
0x0040	read is the first read in a pair	64
0x0080	read is the second read in a pair	128
0x0100	alignment is not primary	256
0x0200	QC failure	512
0x0400	optical or PCR duplicate	1024

- A flag is set if the respective property applies
- The values are combined (i.e. numbers added up) for the FLAG field

Example for a BWA mapped read

```
HWI-ST841:105:D0FVHACXX:6:1102:19098:45810 153 chr1 9996 37 6M1I94M = 9996 0
```

TCCGATCTACCCTAACCTAACCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCTAACCCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCCTAACCTAACCCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCCTAACCTAACCCTAACCTAACCCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCCTAACCTAACCCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCCTAACCTAACCCTAACCTAACCCTAAC

flag (here 153 = 128 + 16 + 8 + 1 = second read of pair, maps to reverse strand, mate unmapped => BWA assigns unmapped reads the mate's Coordinates), paired in sequencing

http://picard.sourceforge.net/explain-flags.html

Example for a BWA mapped read

```
HWI-ST841:105:D0FVHACXX:6:1102:19098:45810 153 chr1 9996 37 6M1I94M = 9996 0
TCCGATCTACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCTAACCCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCTAA
```

mapping quality

Example for a BWA mapped read

```
HWI-ST841:105:D0FVHACXX:6:1102:19098:45810 153 chr1 9996 37 6M1I94M = 9996 0
TCCGATCTACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCCTAACCTAACCCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCTAAC
```

Extended CIGAR String

- M: alignment match (can be a sequence mismatch! Mismatches see NM tag)
- I: insertion with respect to reference
- D: deletion with respect to reference

Example: 6M1I94M

- N: spliced alignment representing intronic sequences, "reference skip" instead of deletions (RNA-Seq)
- Clipped alignment
 - S softclipped
 subsequences at ends that are not aligned
 - bases with low quality
 - part of the read maps somewhere else (but location of its mate indicates that it should map nearby)
 - H hardclipped
 - originally multi-part (chimeric) alignment
 - Shortening the read in order to map part of it if full read does not map
 - Hardclipped bases are not present in the alignment record any more
 - Supplementary alignment

Example for a BWA mapped read

```
HWI-ST841:105:D0FVHACXX:6:1102:19098:45810 153 chr1 9996 37 6M1I94M = 9996 0
TCCGATCTACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCCTAACCTAACCTAACCCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCTAAC
```

CIGAR string (here: 6 matches, 1 insertion, 94 matches)

Example for a BWA mapped read

```
HWI-ST841:105:D0FVHACXX:6:1102:19098:45810 153 chr1 9996 37 6M1I94M = 9996 0
```

TCCGATCTACCCTAACCTAACCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCTAACCCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCCTAACCTAACCCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCCTAACCTAACCCTAACCTAACCCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCCTAACCTAACCCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCCTAACCTAACCCTAACCTAACCCTAAC

insert size (here: 0 because mate unmapped)

Example for a BWA mapped read

```
9996 0
TCCGATCTACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCTAACCCTAACCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCTAACCCTAACCTAACCTAACC
```

6M1194M =

HWI-ST841:105:D0FVHACXX:**6**:1102:19098:45810 153 chr1 9996 37

111125_SN841_0105_BD0FVHACXX_L006 XT:A:U NM:i:3 XN:i:5 SM:i:37 AM:i:0 X0:i:1 X1:i:0 XM:i:2 XO:i:1 XG:i:1 MD:Z:6A72A20

sequence (here: original has been reverse complemented)

Example for a BWA mapped read

```
HWI-ST841:105:D0FVHACXX:6:1102:19098:45810 153 chr1 9996 37 6M1I94M = 9996 0
TCCGATCTACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCTA
```

base qualities (here: reversed)

Example for a BWA mapped read

```
HWI-ST841:105:D0FVHACXX:6:1102:19098:45810 153 chr1 9996 37 6M1I94M = 9996 0
TCCGATCTACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCTAA
```

read group (here: run_lane)

Example for a BWA mapped read

```
HWI-ST841:105:D0FVHACXX:6:1102:19098:45810 153 chr1 9996 37 6M1I94M = 9996 0
TCCGATCTACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCTAACCTA
```

MD tag (here: bases at position 7 and 73 are A in the reference genome, but different in the read)

IGV

deNBI Course March 2019







Downloads



→ Hosted Genomes

→ FAQ

⊞IGV User Guide

File Formats

→ Credits

@ Contact

Search website

search

© 2013-2018 Broad Institute, and the Regents of the University of California

Home



Overview



The Integrative Genomics Viewer (IGV) is a high-performance visualization tool for interactive exploration of large, integrated genomic datasets. It supports a wide variety of data types, including array-based and next-generation sequence data, and genomic annotations.

Funding

Development of IGV has been supported by funding from the National Cancer Institute (NCI) of the National Institutes of Health, the Informatics Technology for Cancer Reserarch (ITCR) of the NCI, and the Starr Cancer Consortium.

IGV participates in the GenomeSpace initiative, which is funded by the National Human Genome Research Institute.

Downloads



Download the IGV desktop application and igvtools.

Citing IGV

To cite your use of IGV in your publication:

James T. Robinson, Helga Thorvaldsdóttir, Wendy Winckler, Mitchell Guttman, Eric S. Lander, Gad Getz, Jill P. Mesirov. Integrative Genomics Viewer. Nature Biotechnology 29, 24-26 (2011)

Helga Thorvaldsdóttir, James T. Robinson, Jill P. Mesirov. Integrative Genomics Viewer (IGV): high-performance genomics data visualization and exploration. Briefings in Bioinformatics 14, 178-192 (2013).

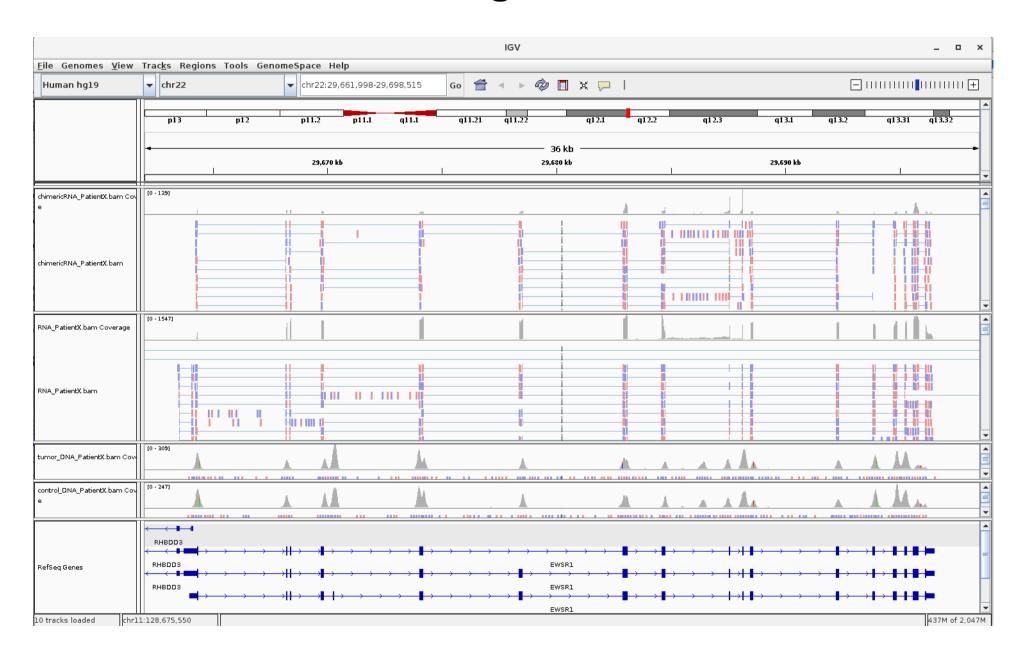
Example dataset

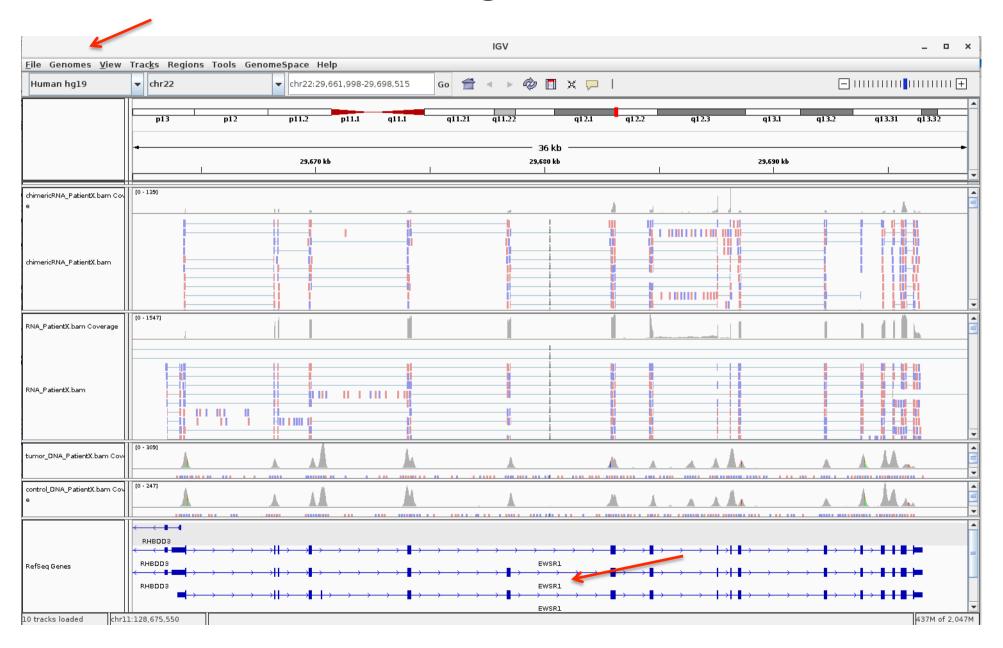
Chimeric RNA RNA Tumor DNA Control DNA (matching control)

Used for aligning the reads:

DNA: BWA align or BWA mem

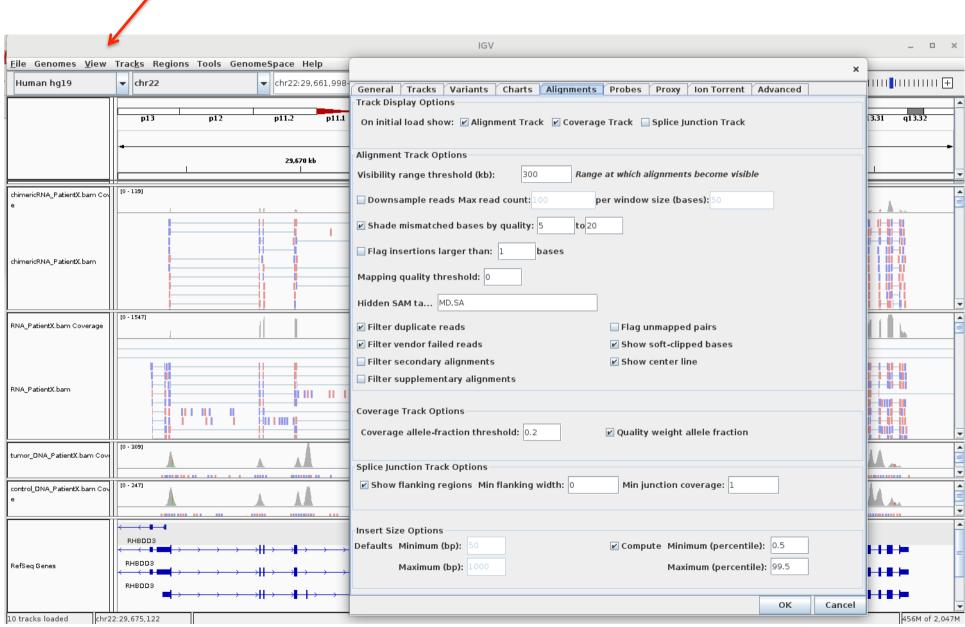
RNA: STAR (https://github.com/alexdobin/STAR)

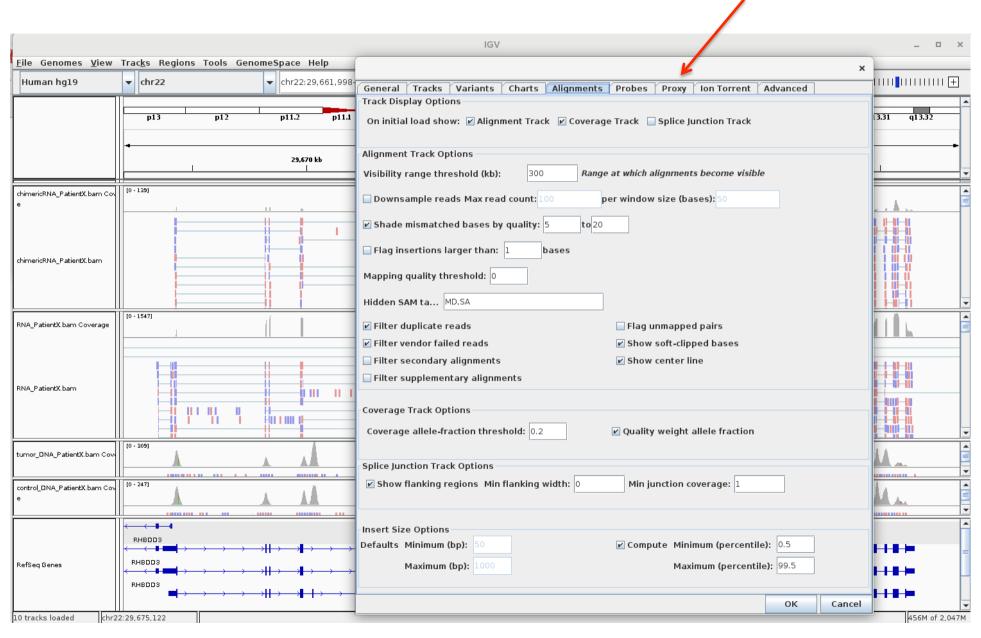


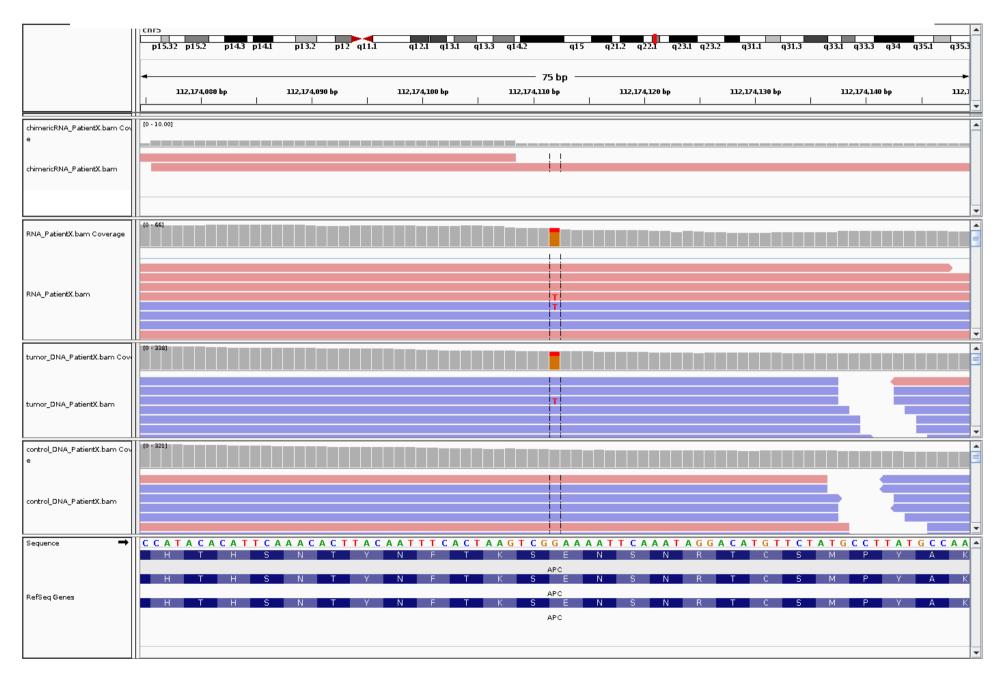


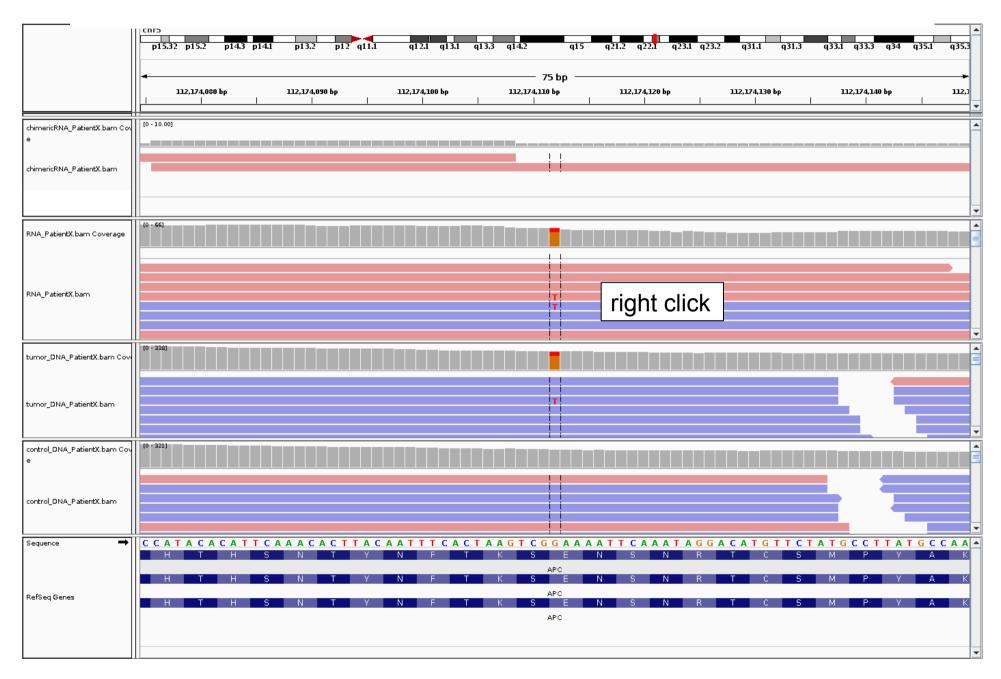


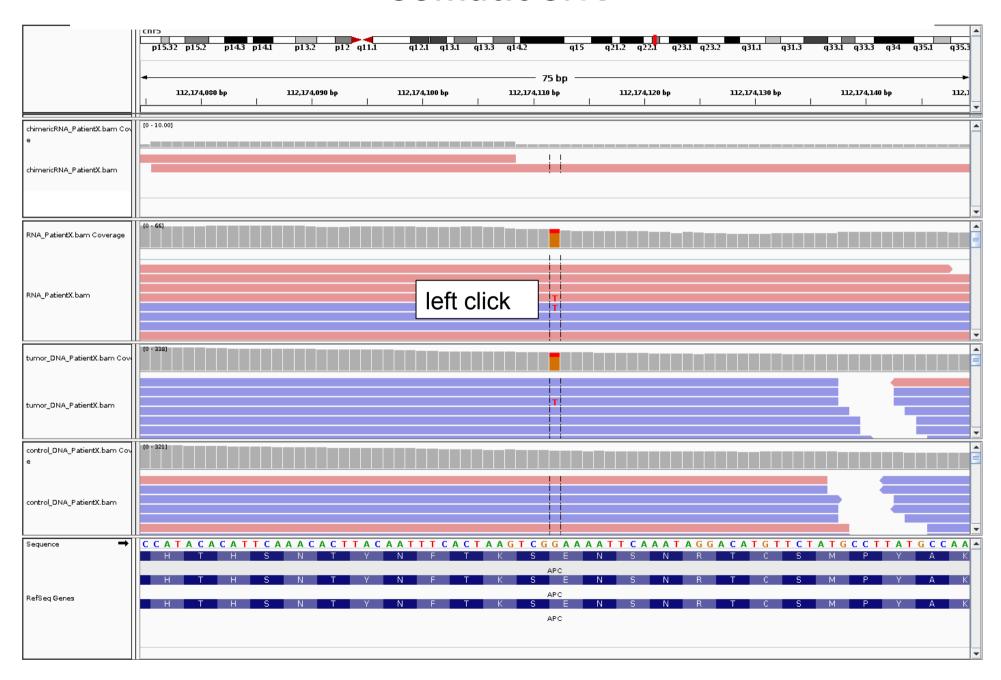


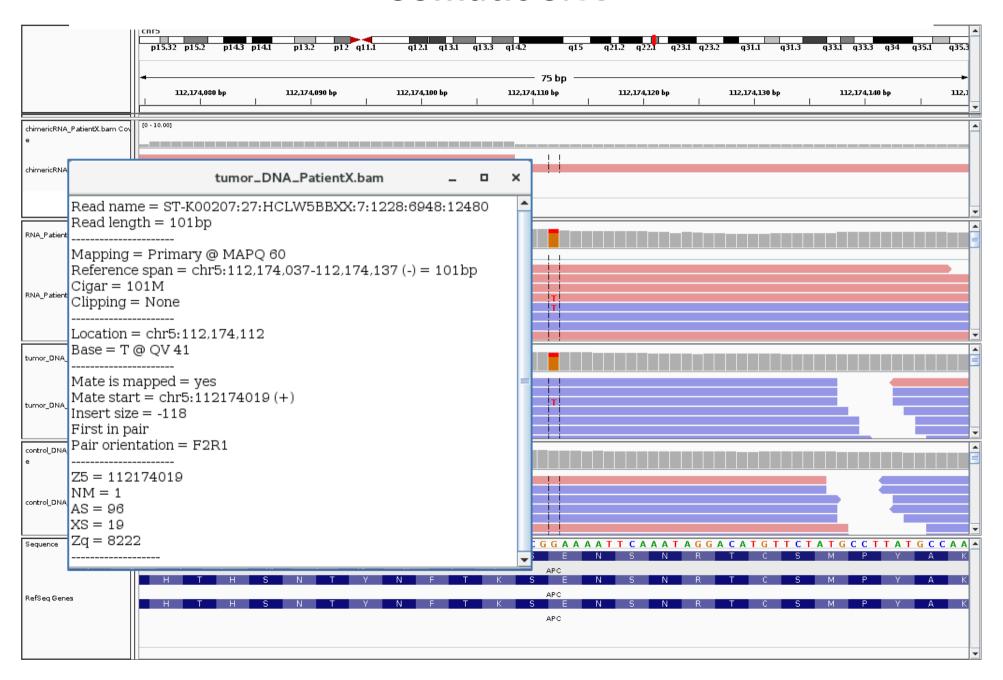




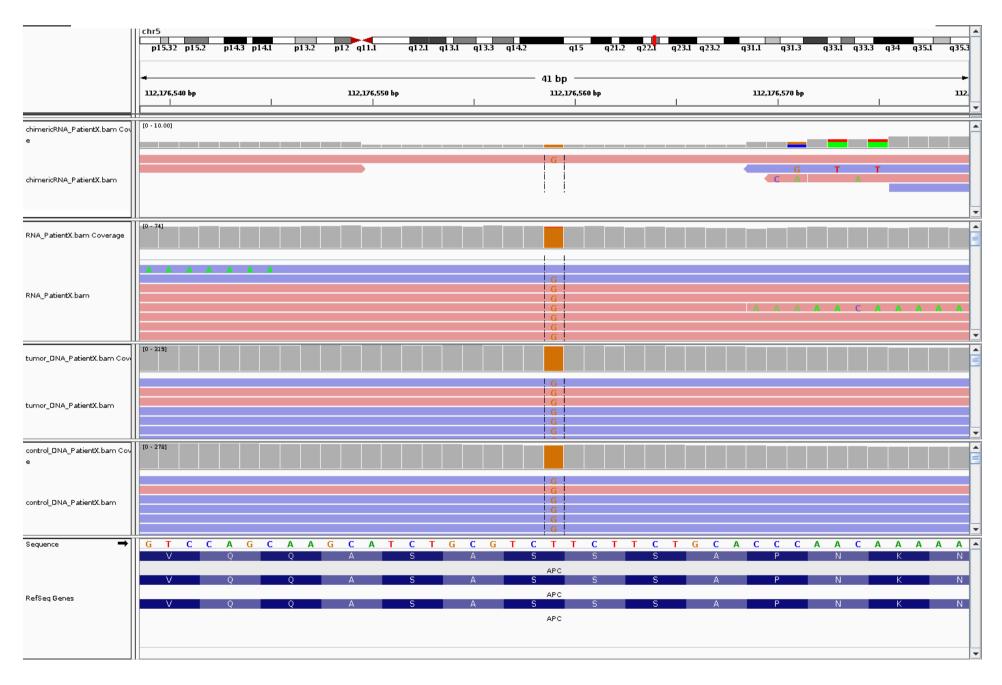




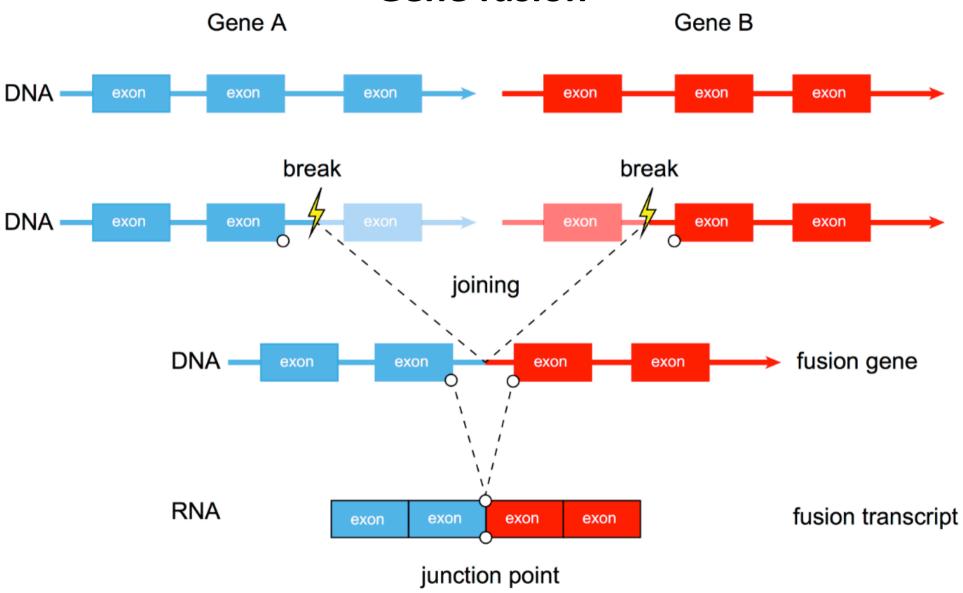




Germline SNV

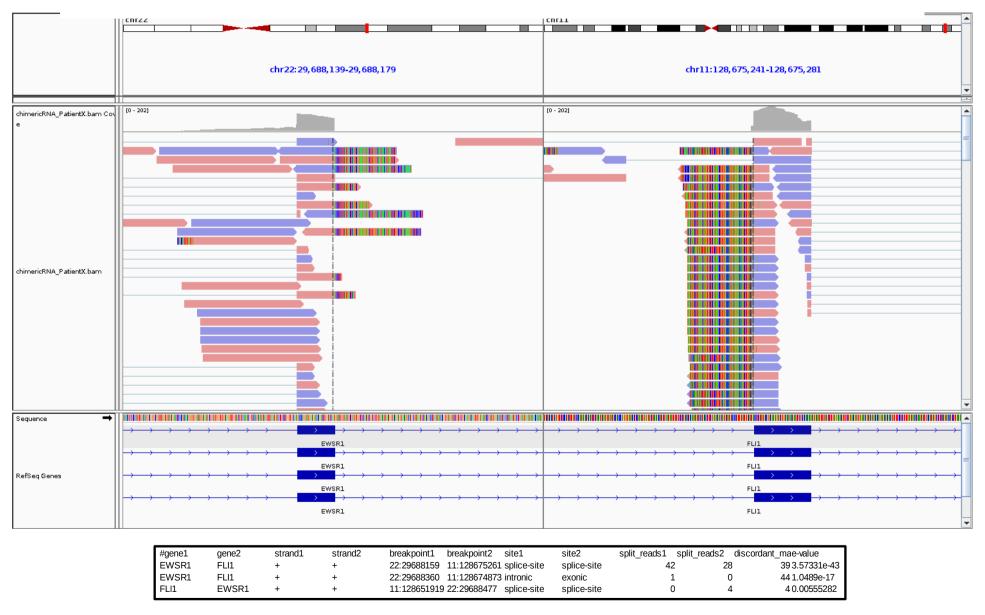


Gene fusion



TCGA Fusion Gene Data Portal

Gene fusion

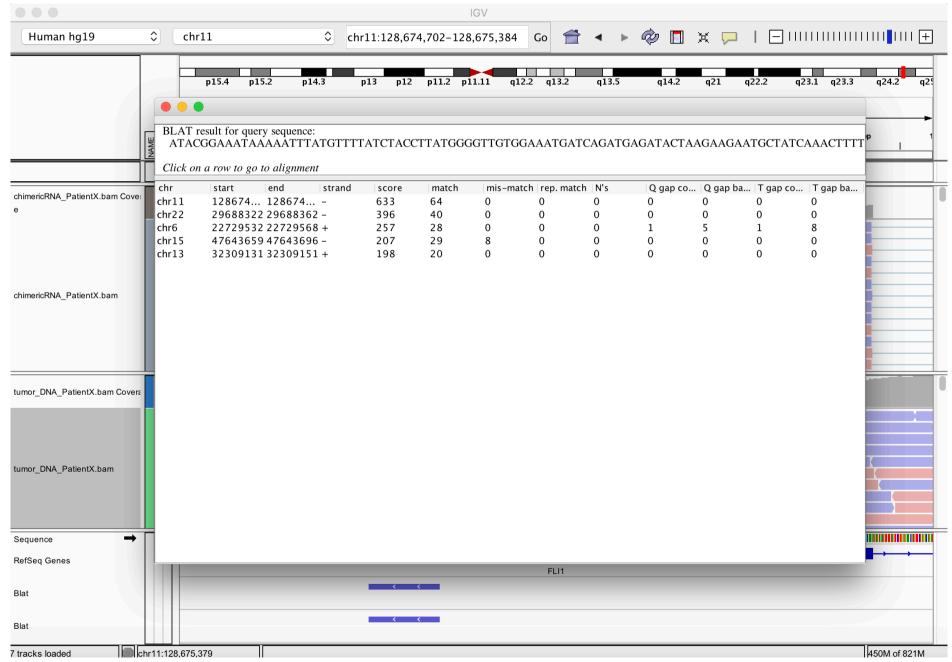


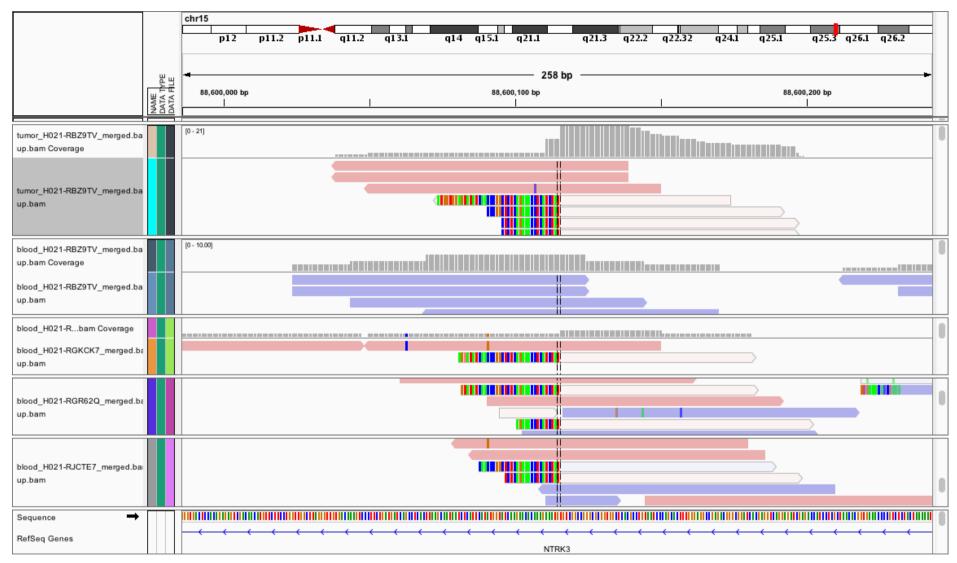
Fusion detection: https://github.com/suhrig/arriba

Actual break point in DNA



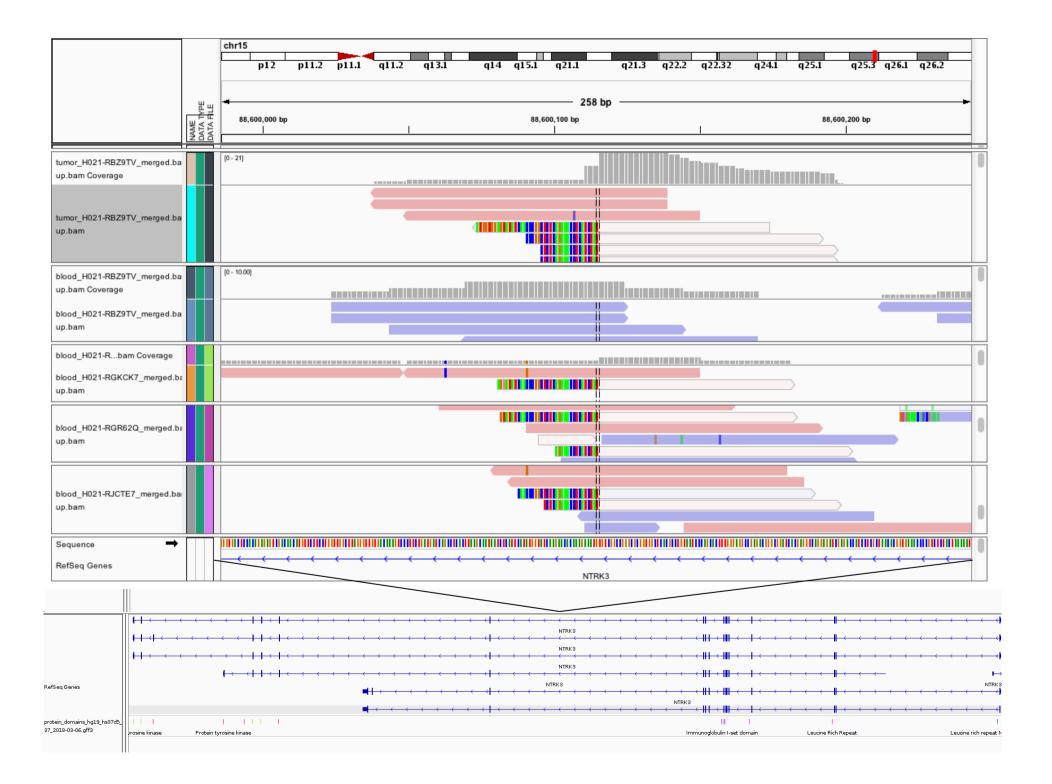
Use Blat



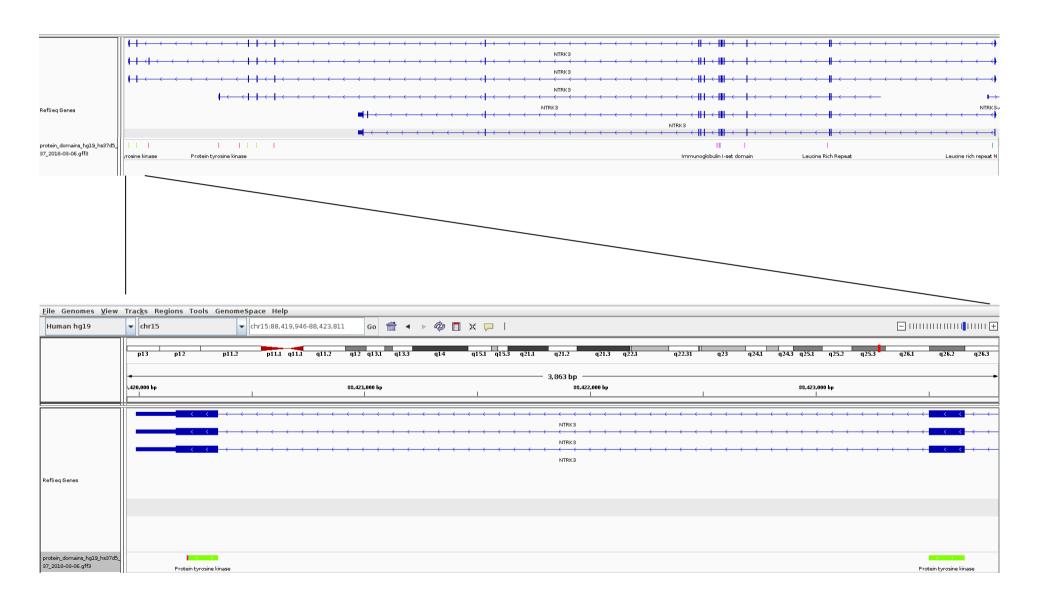


CREST: CTX: PLEKHA6 NTRK3

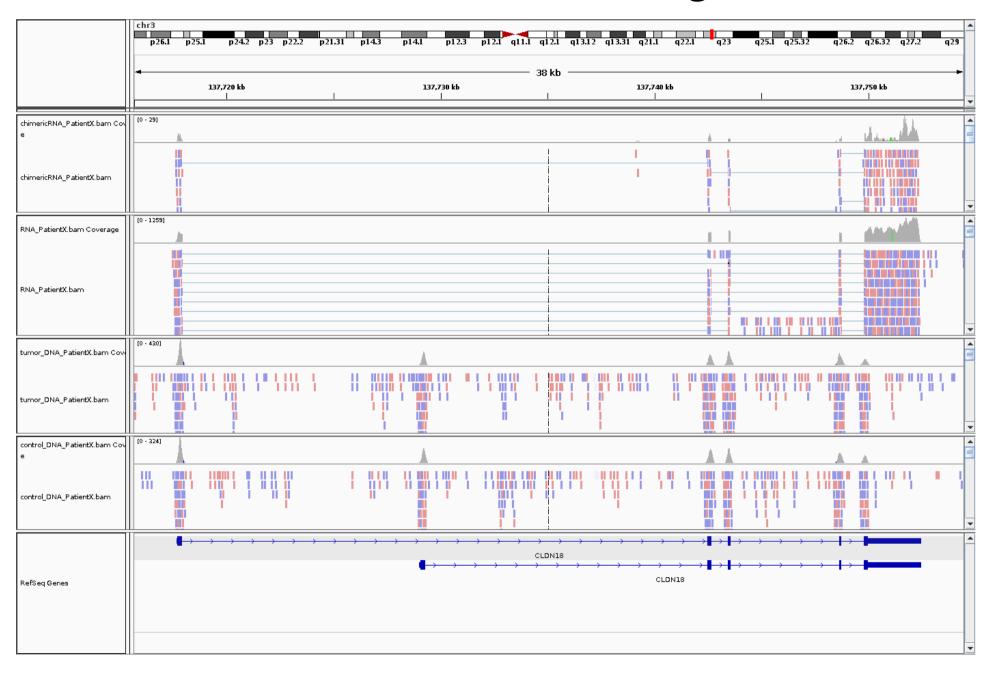
- Translocation/fusion would be highly clinically relevant
- Reads map also elsewhere in the genome
- Same breakpoint can be found in many randomly chosen samples (in tumor and/or blood)
- Even if true, kinase domain would be cut off



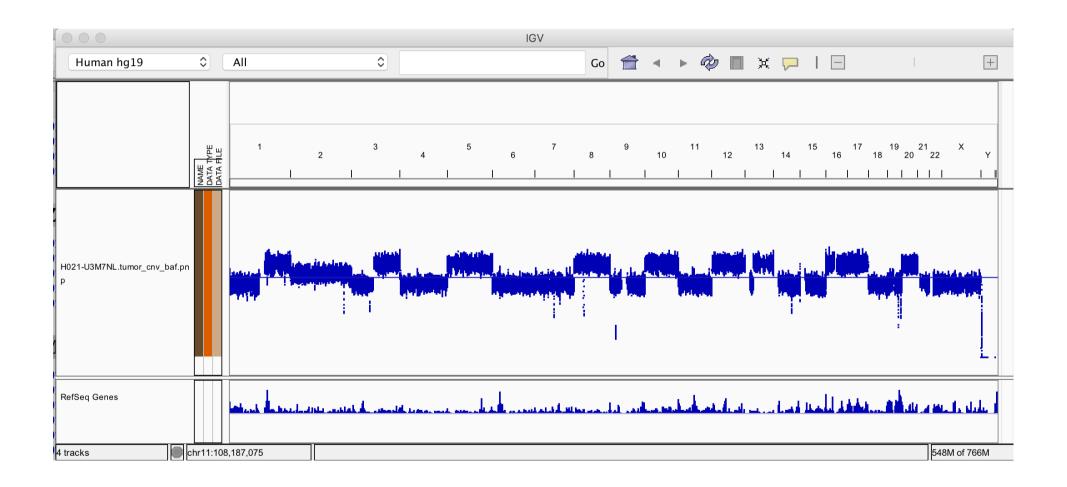
Protein domain track



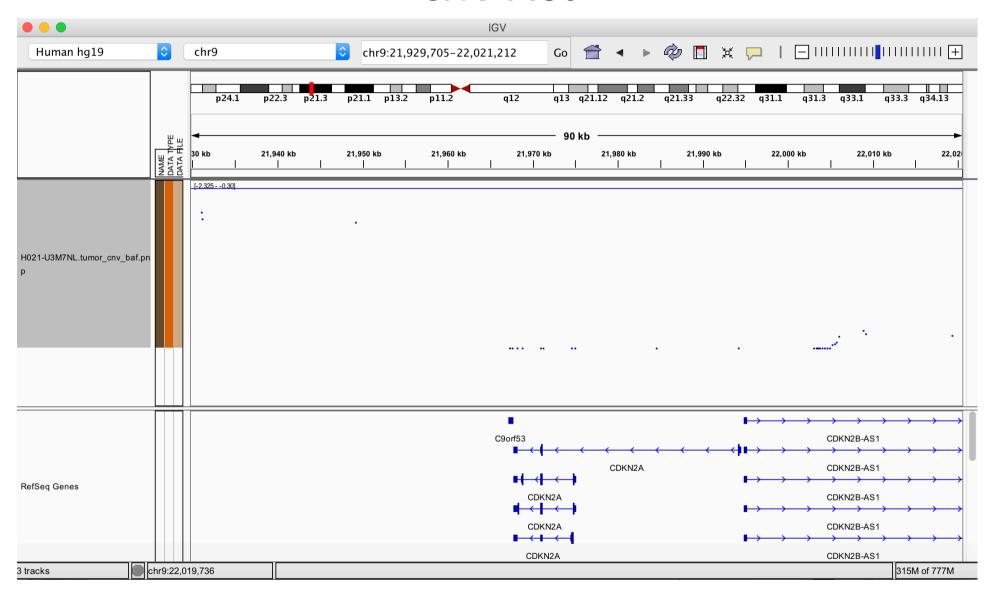
Differential exon coverage



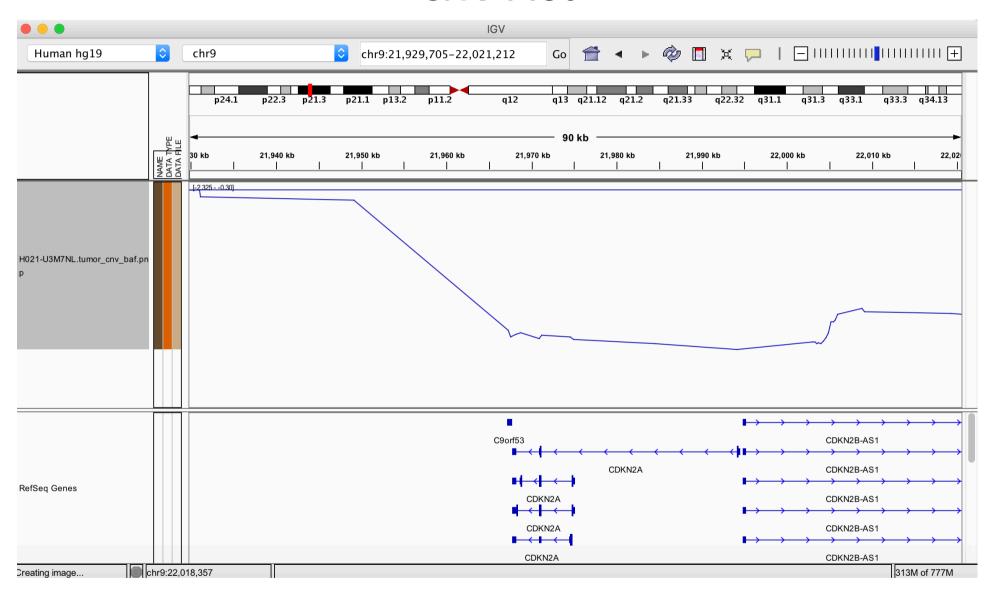
CNV Plot



CNV Plot



CNV Plot



?

Time for Questions

?

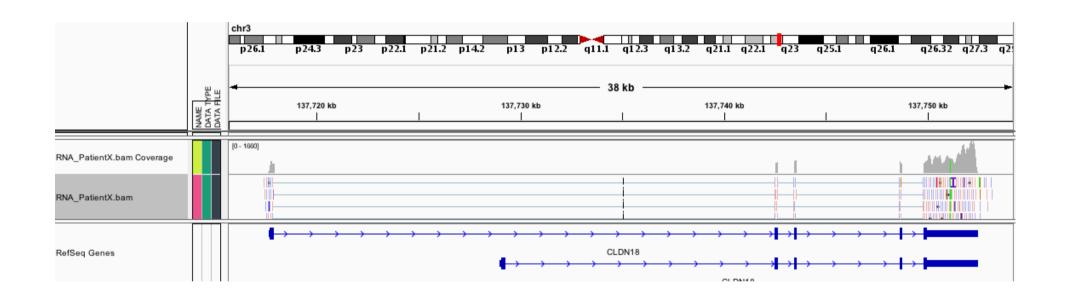
SAM format

Column Name Description

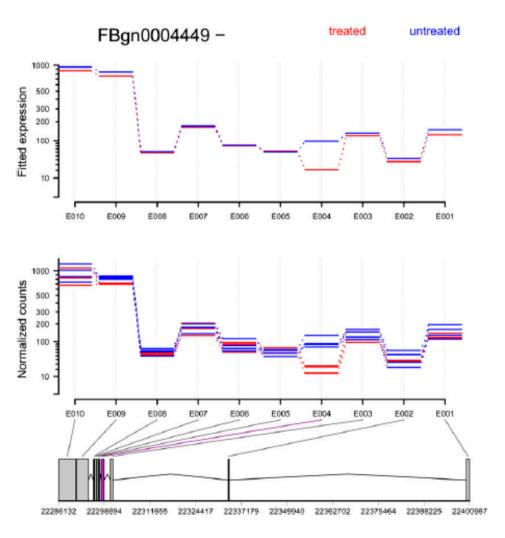
- 1 QNAME Query pair NAME if paired; or Query NAME if unpaired
- 2 FLAG Bitwise FLAG (=> see next slide)
- 3 RNAME Reference sequence NAME
- 4 POS 1-based leftmost POSition of the clipped sequence
- 5 MAPQ MAPping Quality (Phred-scaled probability of mismapping; 0 for multiple mapping possibilities)
- 6 CIGAR Extended CIGAR string
- 7 MRNM Mate Reference sequence NaMe; "=" if the same as RNAME (now RNEXT)
- 8 MPOS 1-based leftmost Mate POSition of the clipped sequence (now PNEXT)
- 9 ISIZE Inferred Insert SIZE (now TLEN: signed observed Template LENgth)
- 10 SEQ Query SEQuence (reverse complemented if read mapped to reverse strand!)
- 11 QUAL Query QUALity (inverted if read mapped to reverse strand!)

Additional tags, e.g. MD: string for mismatching position (=> SNP finding)

Differential exon coverage



Differential exon coverage with DEXSeq



Differential exon coverage

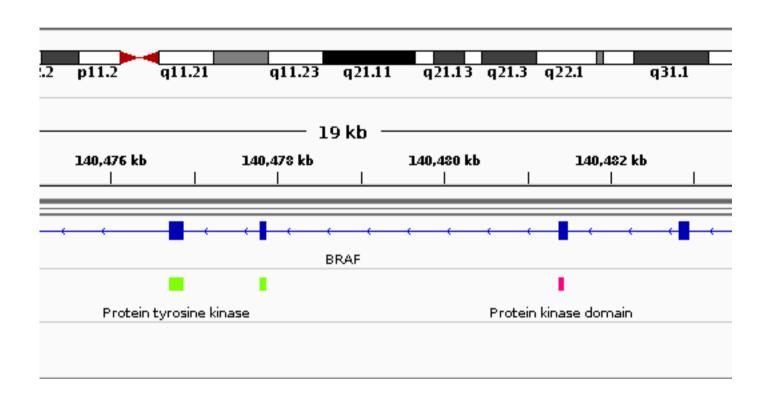
- Calculated using bedtools coverage
- Aditional scripts to get RPKM and TPM

#chro	m chromStart	chromEnd	name	exonNr	strand	length	reads	bases_	covered	length covera	ge	RPKM	TPM
3	137717657	137717930	CLDN18	1	+	273	1292	273	273	1.0000000	46.1348	8.6	
3	137729005	137729287	CLDN18	2	+	282	0	0	282	0.0000000	0.0000	0.0	
3	137742499	137742664	CLDN18	3	+	165	1209	165	165	1.0000000	71.4284	13.31	
3	137743448	137743566	CLDN18	4	+	118	1082	118	118	1.0000000	89.3869	16.66	
3	137748638	137748749	CLDN18	5	+	111	961	111	111	1.0000000	84.3974	15.73	
3	137749811	137752494	CLDN18	6	+	2683	18876	2683	2683	1.0000000	68.5832	12.78	

Protein domain track



Protein domain track



Getting started

[froehlim@tbi-worker: ~ > module avail

		/tbi/	cluster/13.1/x86_64/mod	ules-3.2.10/module_d	efs	
arriba/0.10	cmake/3.7.1	htslib/1.2.1	liblmdb/0.9.21	Platypus/0.8.1.1	rnaseqc/1.1.8	SOAPnuke/1.6.0
arriba/0.12	CNVnator/0.3.3	htslib/1.3.1	libmaus2/2.0.429	PRIAM/2015	root/5.99.06	SOPHIA/34.0
arriba/0.8	CPLEX/ce_12.7.0	htslib/1.3.2	llvm/3.8.1	pypy/4.0.1	root/6.12.04	STAR/2.5.2b
bamUtil/1.0.13	fastqc/0.10.1	htslib/1.4.1	MACS2/2.1.1	python/2.7.9	rstudio/0.99-720	STAR/2.5.3a
bcftools/1.4.1	fastqc/0.11.3	igv/2.3.60	manta/1.2.2	python/3.4.3	rstudio/0.99-902	strelka/2.8.4
bedtools/2.16.2	fastqc/0.11.5	igv/2.3.72	mixcr/2.1.5	python/3.5.2	rstudio/1.1.296	subread/1.5.1
bedtools/2.23.0	GATK/3.7.0	igv/2.3.81	mutect/1.1.4	QCTools/1.0	salmon/0.8.2	subread/1.5.3
bedtools/2.24.0	gcc/5.4.x	igv/2.3.85	ncbi-blast/2.2.24	qualimap/2.2.1	sambamba/0.4.6	SYMPHONY/5.6
bioawk/20110810	gcc/6.x	igv/2.3.97	ncbi-blast/2.7.1	R/2.15.0	sambamba/0.5.4	test/1.0
biobambam/0.0.148	giggle/0.6.3	java/1.7.0_55	NetMHCIIpan/3.1a	R/3.0.0	sambamba/0.5.9	test/2.0
biobambam/0.0.191	git/2.9.4	java/1.8.0_40	NetMHCpan/3.0a	R/3.1.2	sambamba/0.6.3	tigra/0.4.0
biobambam2/2.0.81	groovy/2.4.7	Je/1.0	perl/5.20.2	R/3.2.0	sambamba/0.6.5	tigra/0.4.2
blat/34	hdf5/1.8.18	Jemultiplexer/1.0.6	PHLAT/1.0	R/3.2.2	sambamba/0.6.6	udunits/2.2.25
boost/1.62.0	HIPO2_rna/v1	joinx/1.6.17	phylowgs/d5bdea1	R/3.3.0	samtools/0.1.17	VarDict/1.4.6
bowtie2/2.2.1	HIPO2_rna/v2	joinx/42a7caf	Platypus/0.7.4	R/3.3.1	samtools/0.1.19	vcftools/0.1.10
bwa/0.7.15	HIPO2_sv/v1	kallisto/0.43.0	Platypus/0.7.4_ucs2	R/3.4.0	samtools/1.2	vcftools/0.1.12b
canvas/1.32.0.918	Homer/4.8.3	kallisto/0.43.1	Platypus/0.7.9.2	R/3.4.2	samtools/1.3.1	WebLogo/2.8.2
cdhit/4.7	htslib/0.2.5	ldc/1.2.0	Platypus/0.7.9.2_ucs2	R/3.5.0	samtools/1.5	-
cellranger/2.0.2	htslib/1.2	liblmdb/0.9.18	Platypus/0.8.1	razers3/3.5.7	samtools/1.6	

anaconda3/5.1.0 cellranger/2.1.1 groovy/2.4.15 jdk/8u172 picard/1.61 python/3.6.0 trimmomatic/0.38 vcflib/b1e9b31

varscan/2.3.5

bedops/2.4.14 crest/0.0.1 jre/8u171 pindel/0.2.5b9 sophia/35 htslib/1.8 caveman/1.13.1 fit-sne/d589803 igv2/2.3.97 trimmomatic/0.30 varscan/2.3.8 pandoc/2.2.1 pypy/2.7-6.0.0

[froehlim@tbi-worker: ~ > module load igv/2.3.97

froehlim@tbi-worker: ~ > igv.sh