

- Входные данные: bam-файл IonXpress_012_R_2013_03_23_04_40_32_user_SN2-16-AmpliSeq_318_Auto_user_SN2-16-AmpliSeq_318_51.bam
 - с картированными чтениями (отсортированный и есть индекс bai)
 - Откроем IGV, выбираем организм (Genome/Load genome from server, hg19)
 - Переходим в какой-нибудь ген: просто печатаем название в поиске
 - Делаем zoom in в экзон, смотрим, что все нормально.
-
- Скачиваем референс (например, <http://hgdownload.cse.ucsc.edu/goldenpath/hg19/chromosomes/chr9.fa.gz>)
 - Распаковываем: `gunzip chr9.fa.gz`
 - Делаем индекс для референса: `samtools faidx chr9.fa`
 - Делаем pile up: `samtools mpileup -uf chr9.fa IonXpress_012_R_2013_03_23_04_40_32_user_SN2-16-AmpliSeq_318_Auto_user_SN2-16-AmpliSeq_318_51.bam > chr9.bcf`
 - Как вариант, можно запустить `mpileup` только на гене TSC1, указав опцию `-r`: `samtools mpileup -uf chr9.fa -r chr9:135,764,735-135,822,020 IonXpress_012_R_2013_03_23_04_40_32_user_SN2-16-AmpliSeq_318_Auto_user_SN2-16-AmpliSeq_318_51.bam > chr9.x.bcf`
 - Сконвертируем результат в vcf: `bcftools view -cvg chr9.x.bcf > chr9.x.vcf`
 - Для всей хромосомы: `bcftools view -cvg chr9.bcf > chr9.vcf`
 - Выбираем только строчки с chr9: `grep chr9 chr9.vcf > chr9.gr.vcf`
 - Смотрим на vcf файл, копируем координаты в IGV.
 - Конвертируем варианты в формат анновара: `./annovar/convert2annovar.pl -format vcf4 chr9.gr.vcf > chr9.annovar`
 - Скачиваем базу hg19 для анновара: `./annovar/annotate_variation.pl -buildver hg19 -downdb refGene humandb/`
 - Запускаем анновар: `./annovar/annotate_variation.pl -build hg19 ./chr9.annovar humandb`
 - Отфильтровать вариации
 - Смотрим на файл с аннотированными вариациями: `less -S chr9.annovar.variant_function`