

miRNA 差异分析结果：

=====文件=====

|-- DEG_anno.stat.xls 差异 miRNA 注释数据库统计结果

|-- DEG.stat.xls 差异 miRNA 数目(up/down)统计结果

=====文件夹 1 =====

|-- BMK_1_All_DEG 所有差异表达 miRNA 表达量和聚类分析的统计结果

|-- All.DEG_final_anno.xls 所有差异 miRNA 表达量+差异信息+靶基因各个数据库注释结果

(整合文件，信息全面，比较重要)

|-- #Gene：差异 miRNA 靶向 gene ID；
|-- ID：差异 miRNA ID；
|-- S*：样品表达量；
|-- *_vs_*.Pvalue/FDR：差异 Pvalue/FDR 值，所有组合都有列出，若无，则用"--"代替；
|-- *_vs_*.log2FC：差异 log2FC 值，所有组合都有列出，若无，则用"--"代替；
|-- *_vs_*.regulated：差异上下调(up/down)，若无，则用"--"代替；
|-- 靶基因在 COG/KOG/GO/KEGG/NR/eggNOG/Swissport 各个数据库注释结果。

|-- All.DEG_final.pdf 所有差异 miRNA 表达量聚类热图（PDF 格式）

|-- All.DEG_final.png 所有差异 miRNA 表达量聚类热图（PNG 格式）

|-- All.DEG_final_target.xls 所有差异 miRNA 表达信息+差异信息+靶基因整合

|-- Gene：差异 miRNA 来源基因 ID
|-- ID：差异 miRNA id
|-- *_vs_*.TPM：差异 miRNA 表达量值，所有组合都有列出；若无，则用"--"代替；
|-- *_vs_*.PValue：差异 miRNA Pvalue，所有组合都有列出；若无，则用"--"代替；
|-- *_vs_*.log2FC：差异 miRNA log2FC，所有组合都有列出；若无，则用"--"代替；
|-- *_vs*.regulated：差异 miRNA 上下调，所有组合都有列出；若无，则用"--"代替；

|-- All.DEG_final.xls 所有差异 miRNA 表达量+差异信息（重要文件）

|-- #ID 差异 miRNA ID
|-- S*：样品表达量
|-- *_vs_*.Pvalue/FDR：差异 Pvalue/FDR 值,所有组合都有列出,若无,则用"--"代替
|-- *_vs_*.log2FC：差异 log2FC 值,所有组合都有列出,若无,则用"--"代替
|-- *_vs_*.regulated：差异上下调(up/down),若无,则用"--"代替

|-- Veen.pdf 不同组合差异 miRNA 数目 Venn 图 ($2 \leq$ 差异组合数目 < 9), PDF 格式

|-- Veen.png 不同组合差异 miRNA 数目 Venn 图 ($2 \leq$ 差异组合数目 < 9), PNG 格式

===== 文件夹 2 =====

|-- BMK_*_*_vs_* 表示条件 1 样品和条件 2 样品的差异表达分析结果目录

*表示差异分组的样本编号, 如 BMK_2_S01_S02_vs_S03_S04 表示 S01, S02 与 S03, S04 做差异比较。

在注释统计表中不存在的内容表示没有对该数据库做注释, 不存在的文件夹表示没有对该项内容做分析。

文件夹 2 下的内容包括**差异分析的相关图表文件夹**以及**注释和富集结果文件夹**

图表文件 BMK_1_Statistics_Visualization 内容如下:

|-- *_vs_*.all.xls 所有差异分组中 miRNA 表达量信息+Pvalue/FDR+log2FC+regulated 信息

|-- *_vs_*.DEG_final.Target.xls 所有差异分组中 miRNA 的表达量信息
+Pvalue/FDR+log2FC+regulated+靶基因信息 (**重要文件**)

|-- *_vs_*.DEG_final.xls 差异基因信息 (经过 FC/FDR or Pvalue 筛选后的结果) (**重要文件**)

|-- *_vs_*.heatmap.pdf 差异表达 miRNA 聚类热图 (PDF 格式)

|-- *_vs_*.heatmap.png 差异表达 miRNA 聚类热图 (PNG 格式)

横坐标代表样品名称及样品的聚类结果, 纵坐标代表的差异 miRNA 及 miRNA 的聚类结果。图中不同的列代表不同的样品, 不同的行代表不同的基因。颜色代表了基因在样品中的表达量水平 $\log_{10}(\text{miRNA} + 0.000001)$ 。

|-- *_vs_*_MA.pdf 差异表达 MA 图 (PDF 格式)

|-- *_vs_*_MA.png 差异表达 MA 图 (PNG 格式)

差异表达基因 MA 图中每一个点代表一个 miRNA。横坐标为 A 值: $\log_2(\text{TPM})$, 即两样品中表达量均值的对数值; 纵坐标为 M 值: $\log_2(\text{FC})$, 即两样品间 lncRNA 表达量差异倍数的对数值, 用于衡量表达量差异的大小。图中绿色的点代表显著下调的 lncRNA, 红色的点代表显著上调的 miRNA, 黑色的点代表表达差异不显著的 miRNA。

|-- *_vs_*_Volcano.pdf 差异表达火山图（PDF 格式）

|-- *_vs_*_Volcano.png 差异表达火山图（PNG 格式）

差异表达火山图中的每一个点表示一个 miRNA,横坐标表示某一个基因在两样品中表达量差异倍数的对数值;纵坐标表示 pvalue 的负对数值。横坐标绝对值越大，说明表达量在两样品间的表达量倍数差异越大;纵坐标值越大，表明差异表达越显著，筛选得到的差异表达基因越可靠。图中绿色的点代表下调差异表达 miRNA,红色的点代表上调差异表达 miRNA，黑色代表非差异表达 miRNA。

注释文件夹 BMK_2_Anno_enrichment 如下：

BMK_2_Anno_enrichment 差异 miRNA 靶基因注释和富集结果

注释文件夹下包括三个文件夹：

BMK_1_Annotation 靶基因注释和 GO 二级分类结果

BMK_2_GO_enrich GO 富集分析结果

BMK_3_KEGG_enrich KEGG 富集分析结果

详细内容如下：

=====BMK_1_Annotation=====

|-- *_vs_*.annotation.xls 差异 miRNA 靶基因 Count+表达量+Pvalue/FDR+log2FC+regulated+各个数据库注释结果（重要文件）

|-- *_vs_*.GO_enrichment.stat.xls 差异 miRNA 靶基因 GO 二级节点注释统计

|-- GO_classify1 GO 二级节点 ID;
|-- GO_classify2 GO 三级节点名称;
|-- All 注释到该节点的所有基因的数目;
|-- DE 注释到该节点的差异 miRNA 靶基因的数目。

|-- *_vs_*.GO.pdf GO 注释分类统计图（PDF 格式）

|-- *_vs_*.GO.png GO 注释分类统计图（PNG 格式）

横坐标为 GO 分类，纵坐标左边为基因数目所占百分比，右边为基因数目。此图展示的是在差异表达 miRNA 靶基因背景和全部基因背景下 GO 各二级功能的基因富集情况，体现两个背景下各二级功能的地位，具有明显比例差异的二级功能说明差异表达 miRNA 靶基因与全部基因的富集趋势不同，可以重点分析此功能是否与差异相关。

=====BMK_2_GO_enrich=====

采用 R 包 clusterProfiler 进行 GO 富集分析。

富集分析采用超几何检验方法来寻找与整个基因组背景相比显著富集的 GO 条目。

此目录下的 BP/CC/MF 分别是 Biological_Process , Cellular_Component , Molecular_Function 的简写。

|-- *_vs_*(BP/CC/MF)_enrich_barplot.pdf 差异 miRNA 靶基因 GO 富集条形图(PDF 格式)

|-- *_vs_*(BP/CC/MF)_enrich_barplot.png 差异 miRNA 靶基因 GO 富集条形图(PNG 格式)

|-- *_vs_*(BP/CC/MF)_enrich_dotplot.pdf 差异 miRNA 靶基因 GO 富集气泡图(PDF 格式)

|-- *_vs_*(BP/CC/MF)_enrich_dotplot.png 差异 miRNA 靶基因 GO 富集气泡图(PNG 格式)

横坐标为 GeneRatio 即注释在该条目中的感兴趣基因占有所有差异 miRNA 靶基因数的比例,纵坐标每一个 BP/CC/MF 条目。点的大小代表该条目中注释的差异表达 miRNA 靶基因数,点的颜色代表超几何检验的校正后的 p 值。

|-- *_vs_*(BP/CC/MF)_enrich.list.xls 富集结果文件

|--ID GO 节点

|--Description GO 节点名称

|--GeneRatio 富集到此节点上的差异 miRNA 靶基因的数目/所有差异 miRNA 靶基因的数目

|--BgRatio 富集到此节点上的所有基因的数目/所有基因的数目

|--enrich_factor 富集因子

|--pvalue Pvalue

|--qvalue Qvalue

|--geneID 富集到此条目上的差异 miRNA 靶基因的 ID

|--gene_symbol 对应的 Name

采用 R 包 clusterProfiler 进行 KEGG 富集分析。

富集分析采用超几何检验方法来寻找与整个基因组背景相比显著富集的 pathway 通路。

|-- *_vs_*_KEGG_pathway_enrich_barplot.pdf 差异 miRNA 靶基因 KEGG 富集条形图(PDF 格式)

|-- *_vs_*_KEGG_pathway_enrich_barplot.png 差异 miRNA 靶基因 KEGG 富集条形图(PNG 格式)

|-- *_vs_*_KEGG_pathway_enrich_dotplot.pdf 差异 miRNA 靶基因 KEGG 富集气泡图(PDF 格式)

|-- *_vs_*_KEGG_pathway_enrich_dotplot.png 差异 miRNA 靶基因 KEGG 富集气泡图(PNG 格式)

横坐标为 GeneRatio 即注释在该通路中的感兴趣基因占有所有差异 miRNA 靶基因数的比例,纵坐标每一个通路。点的大小代表该通路中注释的差异表达 miRNA 靶基因数,点的颜色代表超几何检验的校正后的 p 值。

|-- *_vs_*_KEGG_pathway_enrich.list.xls

```
|--ID    ko_id ;
|--Description    ko 名称 ;
|--GeneRatio    富集到此通路上的差异 miRNA 靶基因数目/所有差异 miRNA 靶基因数目 ;
|--BgRatio    富集到此通路上的所有基因的数目/所有基因的数目 ;
|--enrich_factor    富集因子 ;
|--pvalue    Pvalue ;
|--qvalue    Qvalue ;
|--geneID    富集到此通路上的差异 miRNA 靶基因的 ID ;
|--gene_symbol    对应的 Name。
```

|-- BMK_1_Keggmap KEGG 通路图

|-- ko*.html (html 格式)

|-- ko*.png KEGG 通路图

相对于对照组来说,红色框标记的酶与上调基因有关,绿色框标记的酶与下调基因有关。蓝色框标记的酶与上调和下调基因均有关,框内的数字代表酶的编号(EC number),而整个通路由多种酶催化的复杂生化反应构成,此通路图中与差异表达基因相关的酶均用不同的颜色标出,研究人员可以根据自己的研究对象间的差异,重点研究某些代谢通路相关基因的差异表达情况,通过通路解释表型差异的根源。