circRNA 差异分析结果:

- |-- DEG\_anno.stat.xls 差异基因的注释信息统计结果
- |-- DEG.stat.xls 不同差异分组中差异 circRNA 数目(up/down)的统计结果

- |-- BMK\_1\_All\_DEG 所有差异表达 circRNA 表达量和聚类分析的统计结果
  - |-- All.DEG\_final\_anno.xls 所有差异 circRNA 表达量+差异信息+Host 基因各个数据库注释

# 结果(所有差异 circRNA 整合文件,信息较全面,方便查看,比较重要)

- |-- #Gene: 差异 circRNA Host gene ID;
- |-- ID:差异 circRNA ID;
- |-- L\*: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;
- |-- Host 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 circRNA 表达量聚类热图 ( PDF 格式 )
- |-- All.DEG\_final.png 所有差异 circRNA 表达量聚类热图 (PNG 格式 )
- |-- All.DEG\_final\_target.xls 所有差异 circRNA 表达信息+差异信息+Host 基因信息整合
  - |-- Gene:差异 circRNA 来源基因 ID
  - |-- ID:差异 circRNA id
  - |-- L\*:差异 circRNA 表达量值,所有组合都有列出;若无,则用"--"代替;
  - |-- \* vs \*.PValue:差异 circRNA Pvalue,所有组合都有列出;若无,则用"--"代替;
  - |-- \*\_vs\_\*.log2FC:差异 circRNA log2FC, 所有组合都有列出;若无,则用"--"代替;
  - |-- \*\_vs\*.regulated:差异 circRNA 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 circRNA 表达量+差异信息(重要文件)
  - |-- ID: 差异 circRNAID;
  - |-- L\*: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\_\*.regulated:差异上下调(up/down),若无,则用"--"代替。

- |-- Veen.pdf 不同组合差异 circRNA 数目 Venn 图 (2≤差异组合数目 <9), PDF 格式
- |-- Veen.png 不同组合差异 circRNA 数目 Venn 图 (2≤差异组合数目 <9), PNG 格式

|-- 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\_L01\_L02\_vs\_L03\_L04 表示 L01, L02 与 L03, L04 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

# 图表文件夹 BMK\_1\_Statistics\_Visualization 内容如下:

- |-- \*\_vs\_\*.all.xls 该组合中所有 circRNA 的表达量/log2FC/Pvalue/FDR
- |-- \*\_vs\_\*.DEG\_final.Target.xls 差异 circRNA 文件增加 Host 基因 ID (重要文件)
- |-- \*\_vs\_\*.DEG\_final.xls 差异 circRNA 信息 (重要文件)
- |-- \*\_vs\_\*.heatmap.pdf 差异表达 circRNA 聚类热图 ( PDF 格式 )
- |-- \*\_vs\_\*.heatmap.png 差异表达 circRNA 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 circRNA 及 circRNA 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 (circRNA+0.000001)。

差异表达基因 MA 图中每一个点代表一个 IncRNA。横坐标为 A 值:log2(FPKM),即两样品中表达量均值的对数值;纵坐标为 M 值:log2(FC),即两样品间 circRNA 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 circRNA,红色的点代表显著上调的 circRNA, 黑色的点代表表达差异不显著的 circRNA。

|-- \*\_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 circRNA,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 circRNA,红色的点代表上调差异表达 circRNA,黑色代表非差异表达 circRNA。

# 注释文件夹 BMK\_2\_Anno\_enrichment 如下:

BMK\_2\_Anno\_enrichment 差异 circRNA 的 Host 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 Host 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:

|-- \*\_vs\_\*.annotation.xls 差异 circRNA Host 基因 Count+表达量+Pvalue/FDR+log2FC+regulated+各个数据

#### 库注释结果(重要文件)

- - |-- #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 circRNA Host 基因的数目。
- |-- \*\_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 circRNA Host 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 circRNA Host 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。

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 和 Molecular\_Function 的简写。

|-- \*\_vs\_\*\_(BP/CC/MF)\_enrich\_barplot.pdf 差异 circRNA Host 基因 GO 富集条形图(PDF 格式)

|-- \*\_vs\_\*\_(BP/CC/MF)\_enrich\_barplot.png 差异 circRNA Host 基因 GO 富集条形图(PNG 格式)

|-- \*\_vs\_\*\_(BP/CC/MF)\_enrich\_dotplot.pdf 差异 circRNA Host 基因 GO 富集气泡图(PDF 格式)

|-- \*\_vs\_\*\_(BP/CC/MF)\_enrich\_dotplot.png 差异 circRNA Host 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所有差异 circRNA Host 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 circRNA Host 基因数,点的 颜色代表超几何检验的校正后的 p 值。

#### 

|--ID GO 节点;

|--Description GO 节点名称;

|--GeneRatio | 富集到此节点上的差异 circRNA Host 基因的数目/所有差异 circRNA Host 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 circRNA Host 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 KEGG 通路。

- |-- \*\_vs\_\*\_KEGG\_pathway\_enrich\_barplot.pdf
- |-- \*\_vs\_\*\_KEGG\_pathway\_enrich\_barplot.png 差异表达 circRNA Host 基因 KEGG 富集条形图

横坐标代表差异表达 circRNA Host 基因注释在通路中的基因数 ,纵坐标代表通路 ,柱的颜色代表校正后的 p 值。

- |-- \*\_vs\_\*\_KEGG\_pathway\_enrich\_dotplot.pdf
- |-- \*\_vs\_\*\_KEGG\_pathway\_enrich\_dotplot.png 差异表达 circRNA Host 基因 KEGG 富集点图
- - |--ID ko id;
  - |--Description ko 名称;
  - |--GeneRatio | 富集到此通路上的差异 circRNA Host 基因数目/所有差异 circRNA Host 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 circRNA Host 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。