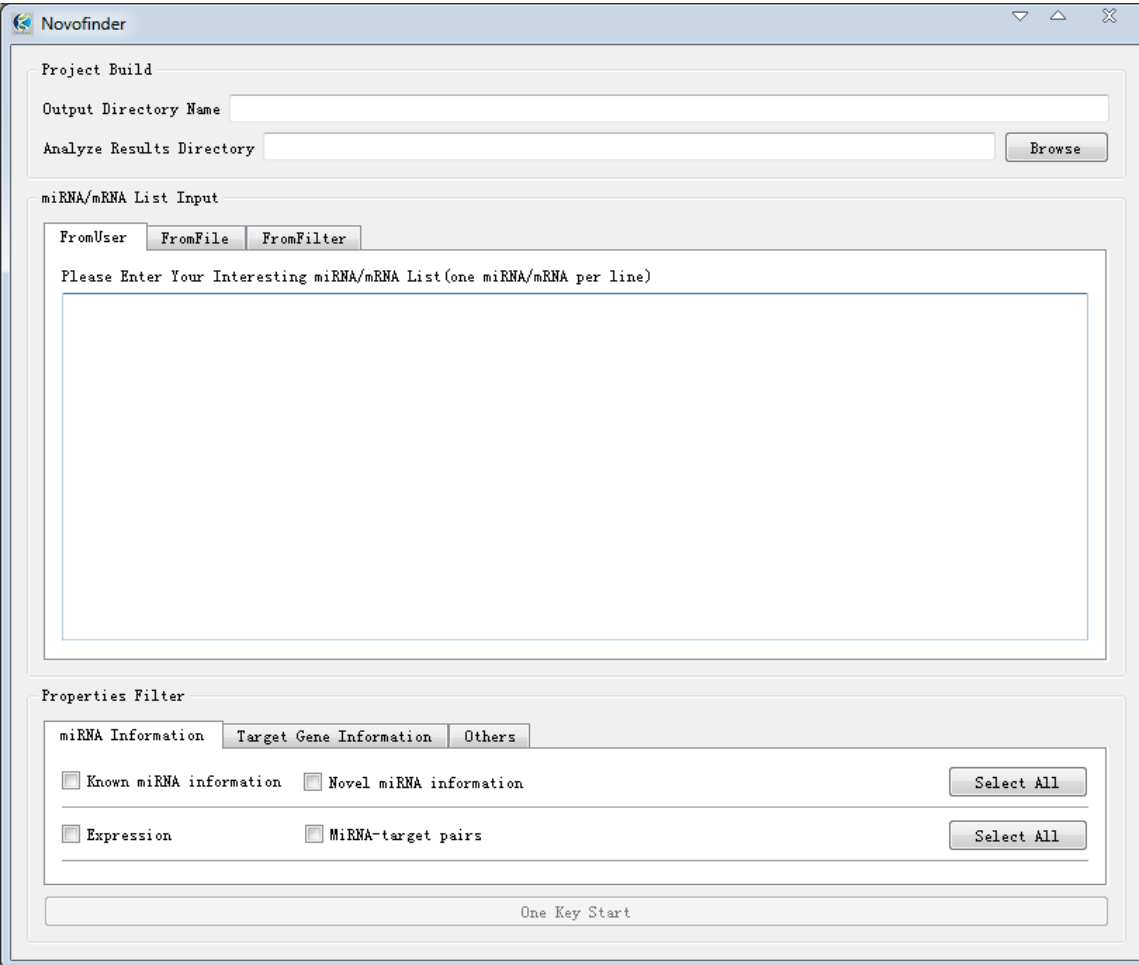


Novofinder for sRNA 软件操作说明



The image shows the Novofinder software interface, which is a Windows-style application window. The title bar reads "Novofinder". The interface is divided into several sections:

- Project Build**: Contains two text input fields. The first is labeled "Output Directory Name" and the second is labeled "Analyze Results Directory". To the right of the second field is a "Browse" button.
- miRNA/mRNA List Input**: Contains three tabs: "FromUser" (selected), "FromFile", and "FromFilter". Below the tabs is a text area with the instruction "Please Enter Your Interesting miRNA/mRNA List (one miRNA/mRNA per line)".
- Properties Filter**: Contains three tabs: "miRNA Information" (selected), "Target Gene Information", and "Others". Below the tabs are four checkboxes: "Known miRNA information", "Novel miRNA information", "Expression", and "MiRNA-target pairs". To the right of these checkboxes are two "Select All" buttons.
- One Key Start**: A button located at the bottom center of the window.

目 录

1 Novofinder 功能说明.....	3
2 Novofinder 使用说明.....	3
2.1 开始.....	3
2.2 输入 miRNA/mRNA 列表	4
2.2.1 手动粘贴输入感兴趣的 miRNA/mRNA 列表	4
2.2.2 导入已有的 miRNA/mRNA 列表文件	5
2.2.3 客户设定相应条件筛选得到 miRNA/mRNA 列表.....	6
2.2.3.1 根据每个样品的表达量筛选 miRNA.....	7
2.2.3.2 根据 log2Fold_change 和 Corrected Pvalue 筛选 miRNA.....	8
2.2.3.3 根据靶基因功能筛选 mRNA 列表.....	9
2.3 输出筛选结果.....	10
2.3.1 提取 miRNA 信息结果	11
2.3.2 提取靶基因相关结果	12
2.3.3 提取 Venn 列表.....	13

1 Novofinder 功能说明

Novofinder 是一款由诺禾致源 RNA 团队为 RNA-seq 产品量身打造的用来进行结果查询和筛选的软件。本文档介绍专为 small RNA 产品结果配套开发的 Novofinder 软件。其功能分为 miRNA 和 mRNA 两个方面：一是根据用户输入的 miRNA 列表或 miRNA 筛选条件，提取出 miRNA 表达量、序列、前体、前体结构、维恩分析及其靶基因的注释、富集情况等结果；二是根据用户输入的 mRNA 列表或 mRNA 筛选条件，提取出 mRNA 的基因注释、富集情况、被靶向 miRNA 列表以及对应的被靶的 miRNA 的一系列信息。

2 Novofinder 使用说明

2.1 开始

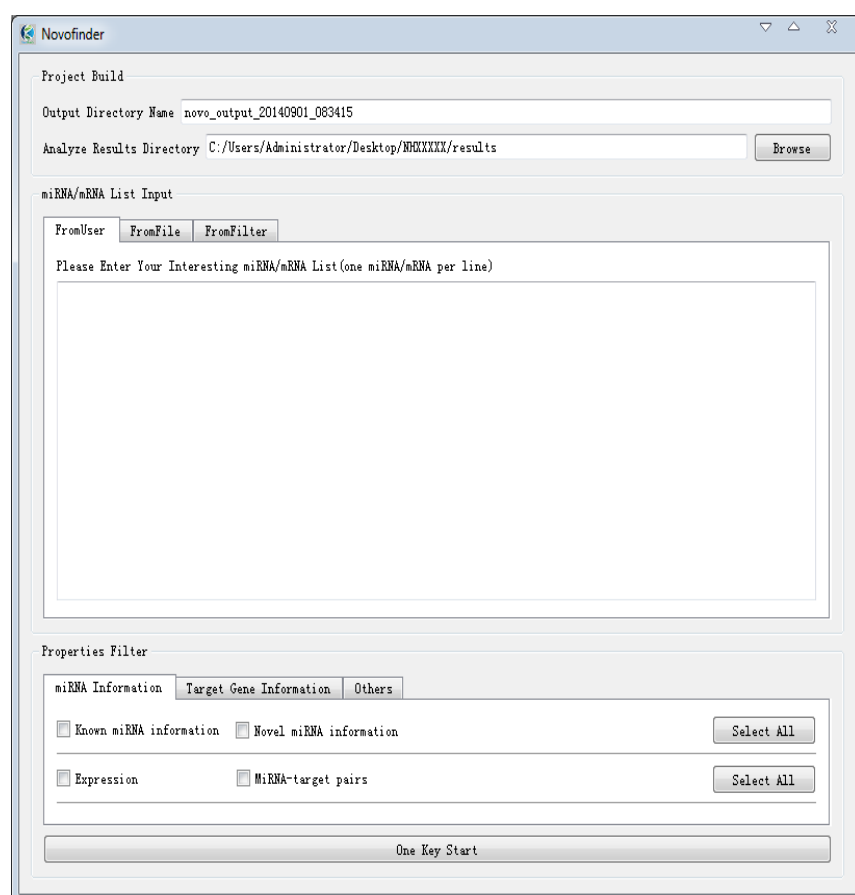


图 2.1

其中，Output Directory Name 文件夹将建立在项目结果目录下，故本次查询的结果将保存在项目结果目录的 C:/Users/Administrator/Desktop/NHXXXXXX/results/result_output 目录下。

打开 Novofinder → 填写 Output Directory Name（筛选结果存放的文件夹名）→ 通过“Browse”按钮加载分析结果数据。

（1）打开 Novofinder 后，如图 2.1。

（2）在 Output Directory Name 选项框中输入此次查询结果存放的文件夹名称，如 result_output；

（3）在 Analysis Results Directory 选项框中通过“Browse”按钮导入项目结果目录，如 C:/Users/Administrator/Desktop/NHXXXXXX/results。

注：Output Directory Name 也可不用提前手动输入，导入下方的 Analysis Results Directory 后可自动生成以“novo_output_当前时间”为名的结果文件夹；Analysis Results Directory 请选择释放数据的 results 文件夹，不要选择下级的子目录。

2.2 输入 miRNA/mRNA 列表

为便于客户的多样性选择和操作，Novofinder 设置了三种 miRNA/mRNA 列表输入方式。且 miRNA 和 mRNA 可同时选择输入。

2.2.1 手动粘贴输入感兴趣的 miRNA/mRNA 列表

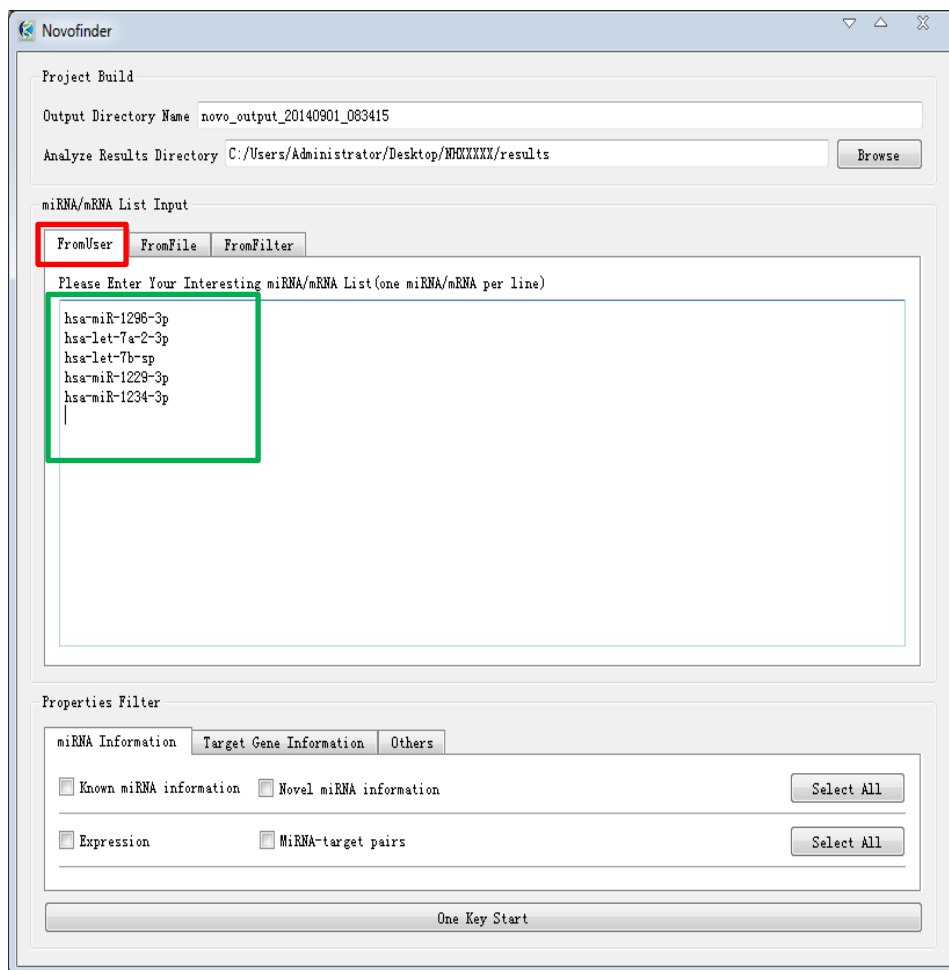


图 2.2.1

(1) 在 miRNA/mRNA List Input 选项框下选择 FromUser 选项，如图 2.2.1 红框；

(2) 在图 2.2.1 绿框区域粘贴或者手动填写客户感兴趣的 miRNA/mRNA 名字列表，每个 id 一行。

注：miRNA/mRNA 名字列表必须与项目结果文件中 miRNA/mRNA 名字一致，不支持模糊匹配。

2.2.2 导入已有的 miRNA/mRNA 列表文件

若客户已有感兴趣 miRNA/mRNA 的名字列表文件，可直接导入该文件。

- (1) 在 miRNA/mRNA List Input 选项框下选择 FromFile 选项，如图 2.2.2 红框；
- (2) 在图 2.2.2 绿框区域通过“Browse”按钮导入 id 列表文件。

注：miRNA/mRNA 列表文件需为 txt 格式文本，且每个 id 一行。

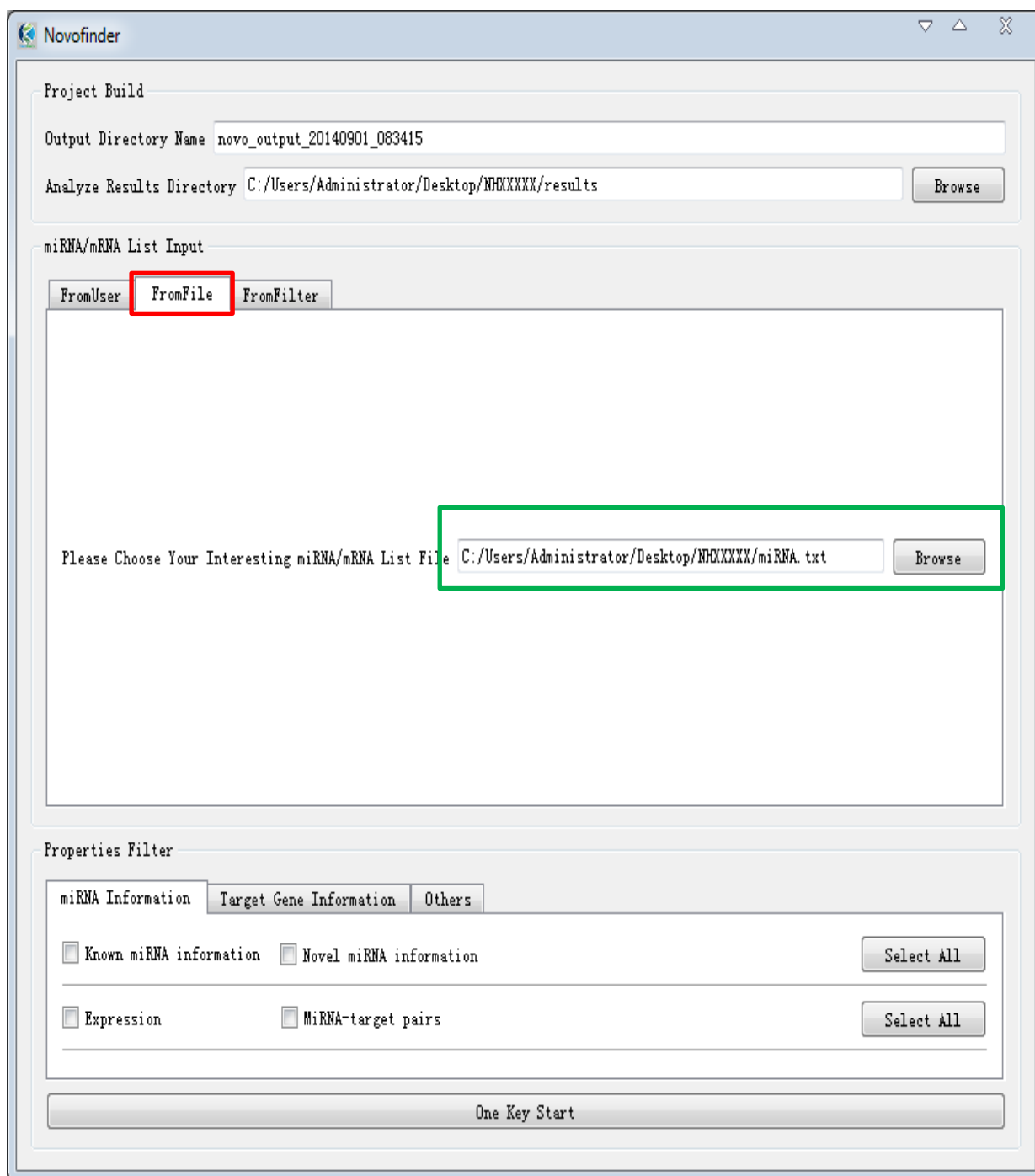


图 2.2.2

2.2.3 客户设定相应条件筛选得到 miRNA/mRNA 列表

客户也可以自己设定条件筛选得到满足条件的 miRNA/mRNA 列表文件。

(1) 在 miRNA/mRNA List Input 选项框下选择 FromFilter 选项；

(2) 根据样品表达量 TPM 或差异比较组合 log2Fold_change(仅在无重复比较组合中出现)、Corrected Pvalue 或靶基因功能设定筛选条件。其中 Sample 中筛选目标样本中 TPM 大于客户选择阈值的 miRNA；Compare Group 中筛选目标比较组合中矫正后的 pvalue (有重复为 padj, 无重复为 qvalue) 小于客户选择阈值的差异 miRNA, 以及|log2(fold change)|大于客户筛选阈值的差异 miRNA；Annotation 筛选有相应 GO 注释或者 GO/KEGG 富集结果的 mRNA。详细见下 2.2.3.1-2.2.3.3 说明。

(3) 点击“Filter”按钮，将在 Program Name 文件夹下产生相应筛选的 miRNA、mRNA 列表；

(4) 筛选完成后会弹出对话框，显示共筛选出多少 miRNA/mRNA 以及 miRNA/mRNA 列表的存放目录，如图 2.2.3。点击“Open the directory”打开筛选结果目录，点击“Close”关闭此对话框。

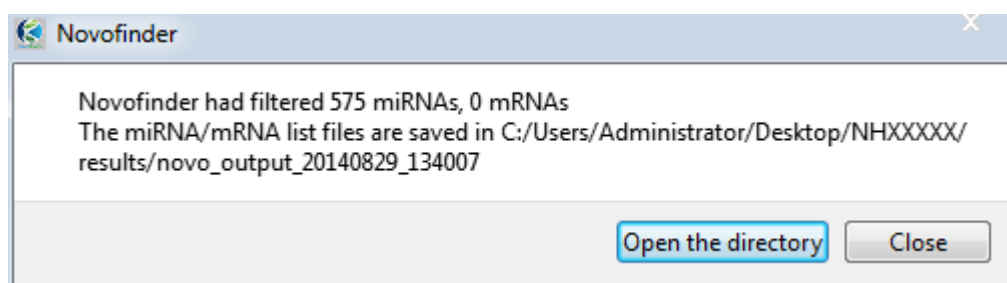



图 2.2.3

注：Select ALL 按钮表示选择全部；UnSelect ALL 按钮表示取消选择全部。

2.2.3.1 根据每个样品的表达量筛选 miRNA

若客户想挑选某些样品表达量达到一定要求的 miRNA 列表,可自行设定条件进行筛选。

(1) 在 FromFilter 模式下, 点击红框 Sample, 选择按照样品表达量筛选 miRNA, 如图 2.2.3.1 红框;

(2) 在图 2.2.3.1 绿框区域设定需要筛选的条件: 勾选样品, 输入 TPM 筛选阈值(可手动输入, 也可以通过后边的  进行上下调)。若勾选 2 个以上样品, 可以通过“Intersection”和“Union”分别筛选符合条件的多个样品中的 miRNA 的交集和并集。

例如图 2.2.3.1: 输出的结果为在这两个样品中 TPM 值均大于 100 的 miRNA 列表。

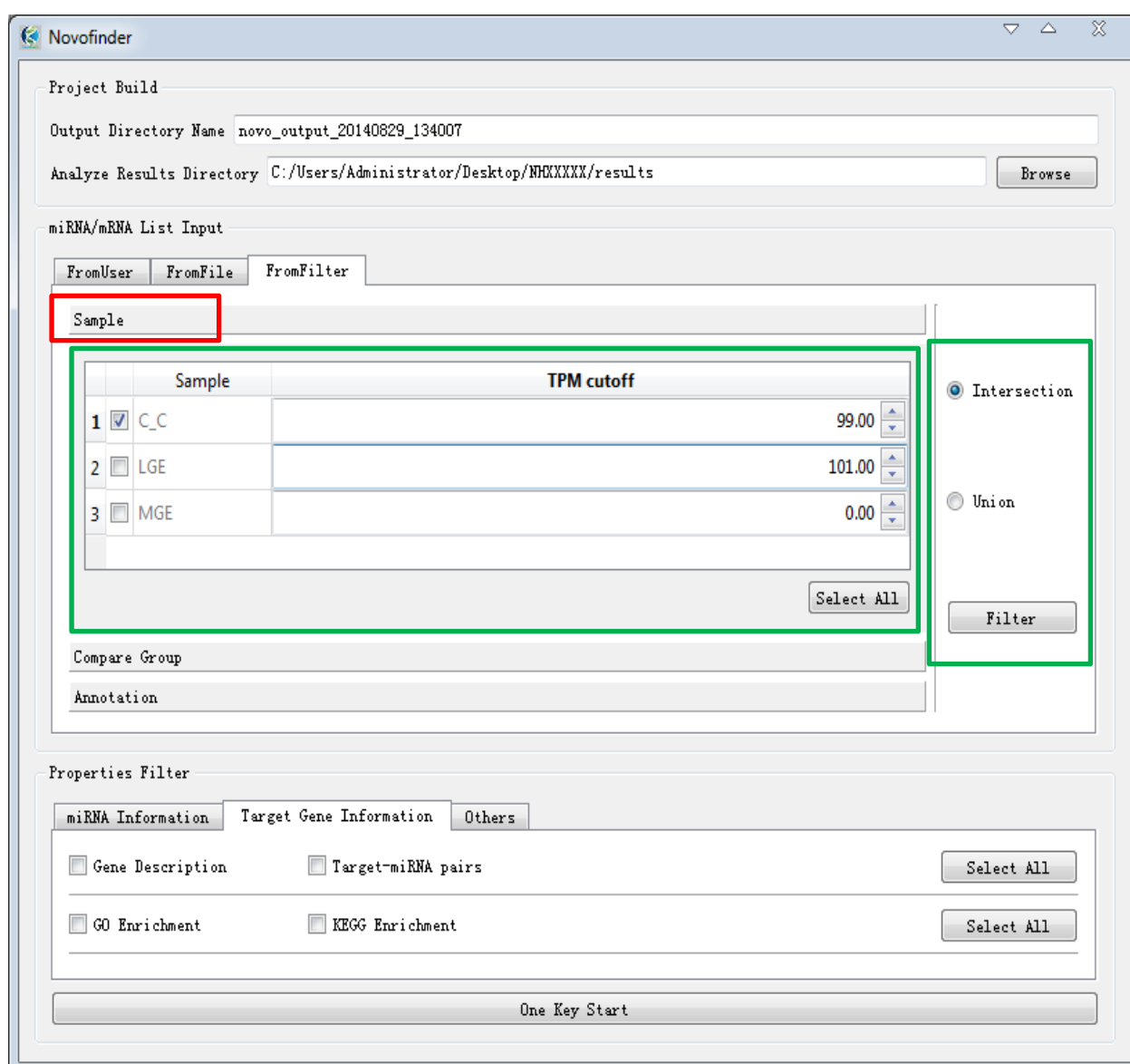


图 2.2.3.1

2.2.3.2 根据 log2Fold_change 和 Corrected Pvalue 筛选 miRNA

若客户想挑选某些差异比较组的 $|\log_2\text{Fold_change}|$ 和 Corrected Pvalue 达到一定要求的 miRNA 列表，可自行设定条件进行筛选。

(1) 在 FromFilter 模式下，点击红框 Compare Group，选择比较组筛选 miRNA，如图 2.2.3.2 红框；

(2) 在图 2.2.3.2 绿框区域设定需要筛选的条件：勾选比较组，输入 log2Fold_change 和 Corrected Pvalue 的筛选阈值（可手动输入，也可以通过后边的上下箭头进行上下调）。

例如图 2.2.3.2：输出的结果为在这个组合中， $|\log_2\text{Fold_change}| > 1$, Corrected Pvalue < 0.005 的 miRNA。

Novofinder

Project Build

Output Directory Name: novo_output_20140829_134007

Analyze Results Directory: C:/Users/Administrator/Desktop/NHXXXXXX/results [Browse]

miRNA/mRNA List Input

FromUser FromFile FromFilter

Sample

Compare Group

	Compare Group	log2 Fold_change	Corrected Pvalue
1	<input checked="" type="checkbox"/> C_CvsLGE	1.00	0.005
2	<input type="checkbox"/> C_CvsMGE	1.00	0.005
3	<input type="checkbox"/> LGEvsMGE	1.00	0.005

Intersection (selected) Union

Filter

Select All

Annotation

Properties Filter

miRNA Information Target Gene Information Others

☐ Gene Description ☐ Target-miRNA pairs [Select All]

☐ GO Enrichment ☐ KEGG Enrichment [Select All]

One Key Start

图 2.2.3.2

2.2.3.3 根据靶基因功能筛选 mRNA 列表

若客户想挑选某些功能相关的 mRNA 列表，可自行设定条件进行筛选。

(1) 在 FromFilter 模式下，点击红框 Annotation，选择按照基因功能筛选靶基因，如图 2.2.3.3 红框；

(2) 在图 2.2.3.3 绿框区域设定需要筛选的条件：可输入感兴趣的 GO ID 或 KEGG ID，也可输入功能的关键词。其中“GO classification”可输入 GO 注释分类中的 term 号；“Enriched GO Terms”可输入富集的 GO_accession 号；“Enriched KEGG Terms”可输入富集的 KEGG term 或 id 号。多选之间以“，”隔开。

注：关键词设置要恰当，以免筛选不到相应的功能基因。

例如：输入 GO:0015074，则会得到该 GO 分类相应的靶基因。

注：Sample、Compare Group 针对 miRNA，Annotation 针对 mRNA，两种分子之间不会取交集。

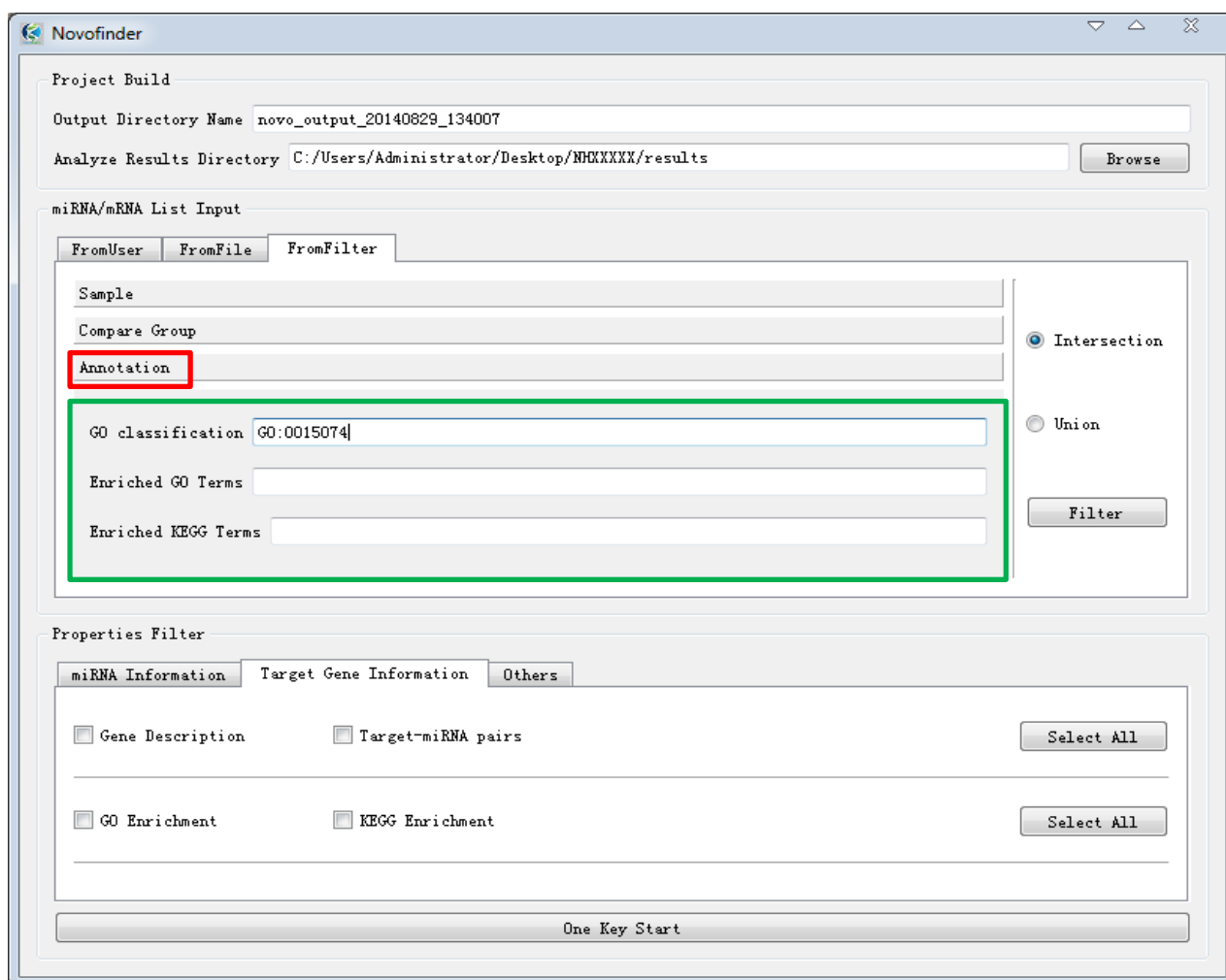


图 2.2.3.3

2.3 输出筛选结果

根据上述 2.2 输入的 miRNA 列表，可以提取出这些 miRNA 成熟体和前体的序列、各样品中的 readcount 和 TPM 值、靶基因列表和靶基因注释、富集等结果，其中 novel miRNA 还可输出对应 star 的序列及 readcount、hairpin 的结构及位置信息等；

根据上述 2.2 输入的 mRNA 列表，可以提取出 mRNA 的基因描述或注释信息、GO/KEGG 富集结果、被靶向 miRNA 列表以及对应的被靶向 miRNA 的一系列信息。

(1) 在 Properties Filter 选项框下选择相应的提取结果条目（表 2.3，筛选条目与其对应筛选结果说明）：

表 2.3

Name	Description
miRNA Information	miRNA 相关信息 (已知 miRNA 相关信息、新预测 miRNA 相关信息、miRNA 表达量信息及靶基因列表)
Target Gene Information	miRNA 对应的靶基因相关信息 (靶基因描述或注释信息及 GO/KEGG 富集结果)
Others	样品组间 venn 列表

(2) 在每类筛选条目中勾选自己所需要的筛选结果；

(3) 点击 “One key start” 按钮，开始提取 miRNA/mRNA 列表中相应的符合条件的结果，将在 Program Name 文件夹生成结果文件夹/文件；

(4) 提取完成后将弹出对话框，如图 2.3。点击 Open result directory 打开筛选结果目录，点击 Close 关闭此对话框。

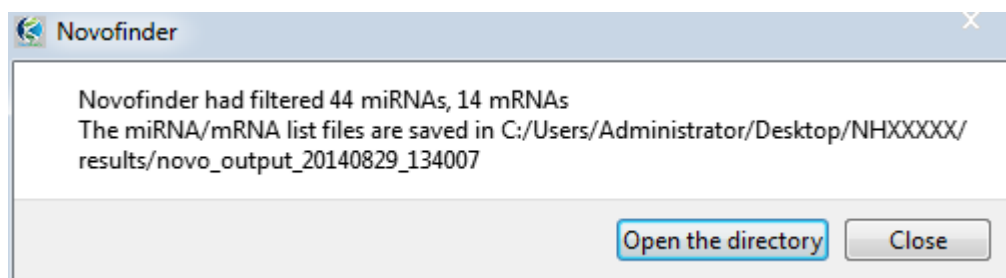


图 2.3

注：在 **Program Name** 文件夹下产生三个文件夹 **MiRNA**、**Target gene** 和 **venn**：在 **MiRNA**/下是 **miRNA Information** 条目筛选的结果文件，**Target gene**/下是 **Target Gene Information** 条目筛选的结果文件；**venn**/下是 **venn** 条目筛选的结果文件，即样品间 **miRNA** 维恩分析结果。

2.3.1 提取 miRNA 信息结果

若客户想提取 miRNA 信息结果：

(1) 在 Properties Filter 模式下，点击红框 miRNA Information，提取 miRNA 相关信息结果，如图 2.3.1 红框；

(2) 在图 2.3.1 绿框区域设定需要提取的信息，包括已知 miRNA 相关信息、新 miRNA 相关信息、表达量信息以及 miRNA 的靶基因。

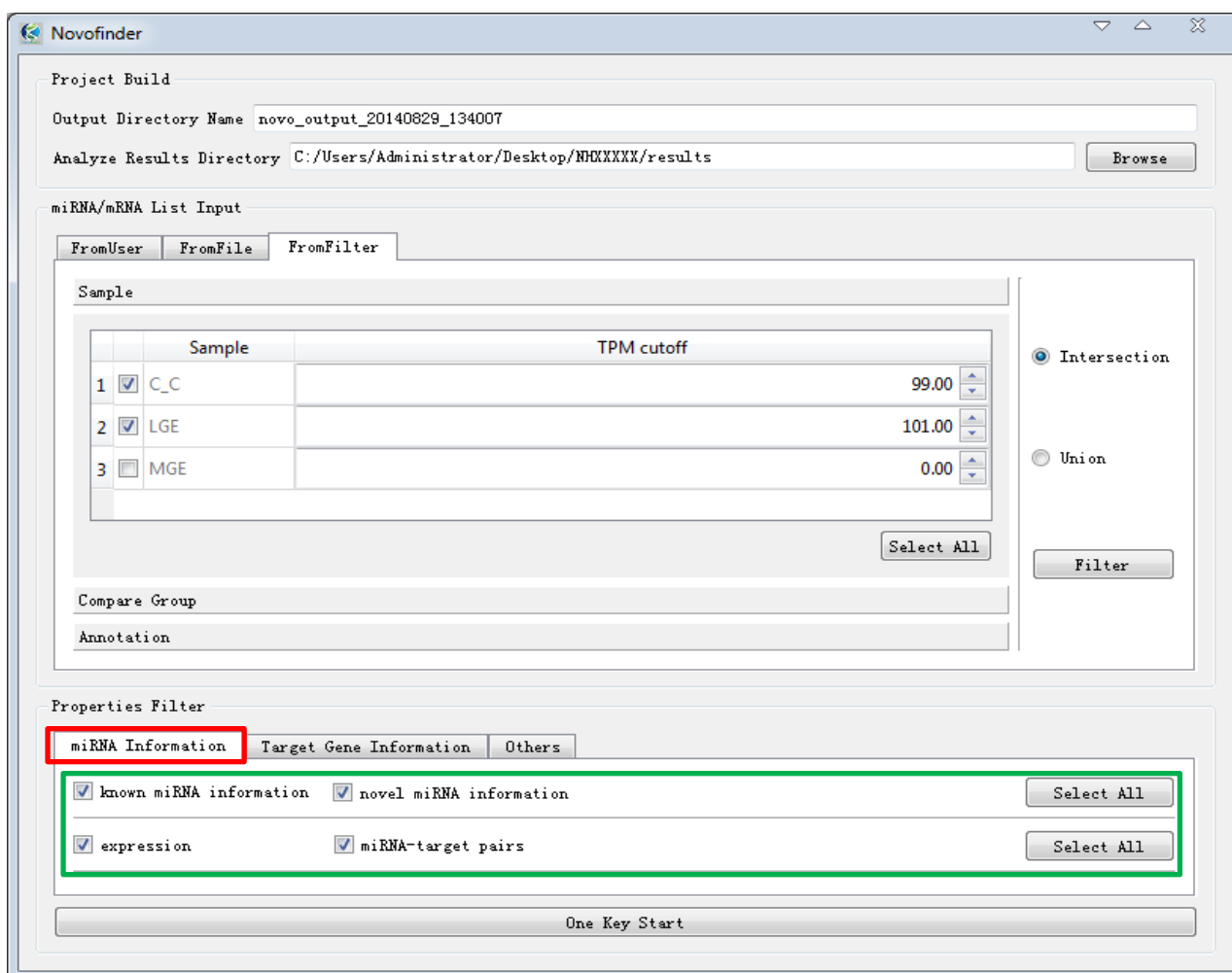


图 2.3.1

2.3.2 提取靶基因相关结果

若客户想提取 miRNA 对应的靶基因相关的结果：

- (1) 在 Properties Filter 模式下，点击红框 Target Gene Information，如图 2.3.2 红框；
- (2) 在图 2.3.2 绿框区域设定需要提取靶基因相关的信息，包括靶基因列表、靶基因富集信息。

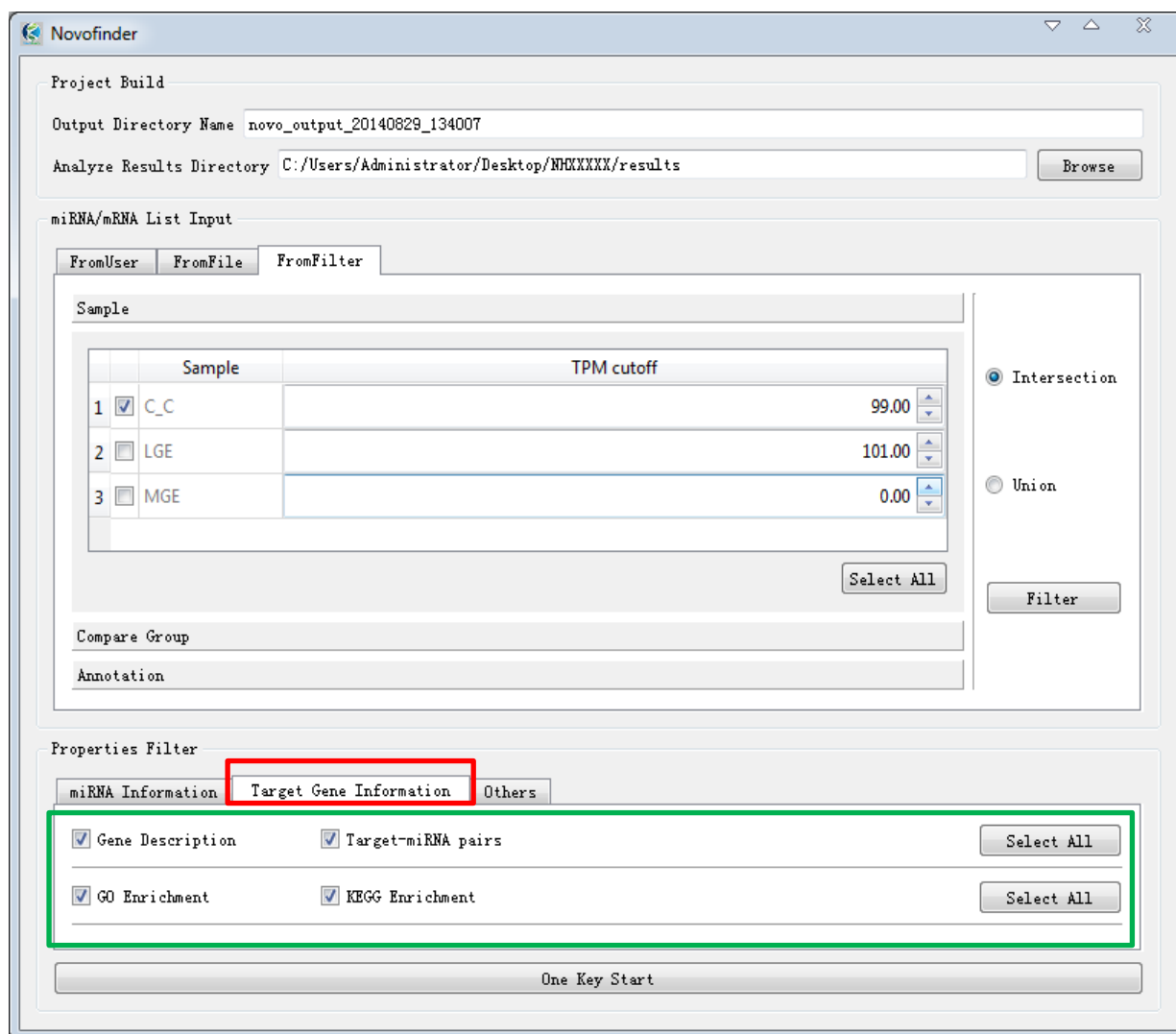


图 2.3.2

2.3.3 提取 Venn 列表

若客户想提取样品组合间 miRNA Venn 图各部分的列表：

- (1) 在 2.2 中勾选要进行 miRNA 维恩分析的 Sample 名称，并点击“Filter”；
- (2) 在 Properties Filter 模式下，点击红框 Others，提取 Venn 列表结果，如图 2.3.3 红框；
- (3) 在图 2.3.3 绿框区域勾选“Venn list”，结果包括所勾选样品的特有 miRNA 列表，以及所勾选样品共有的 miRNA 列表。

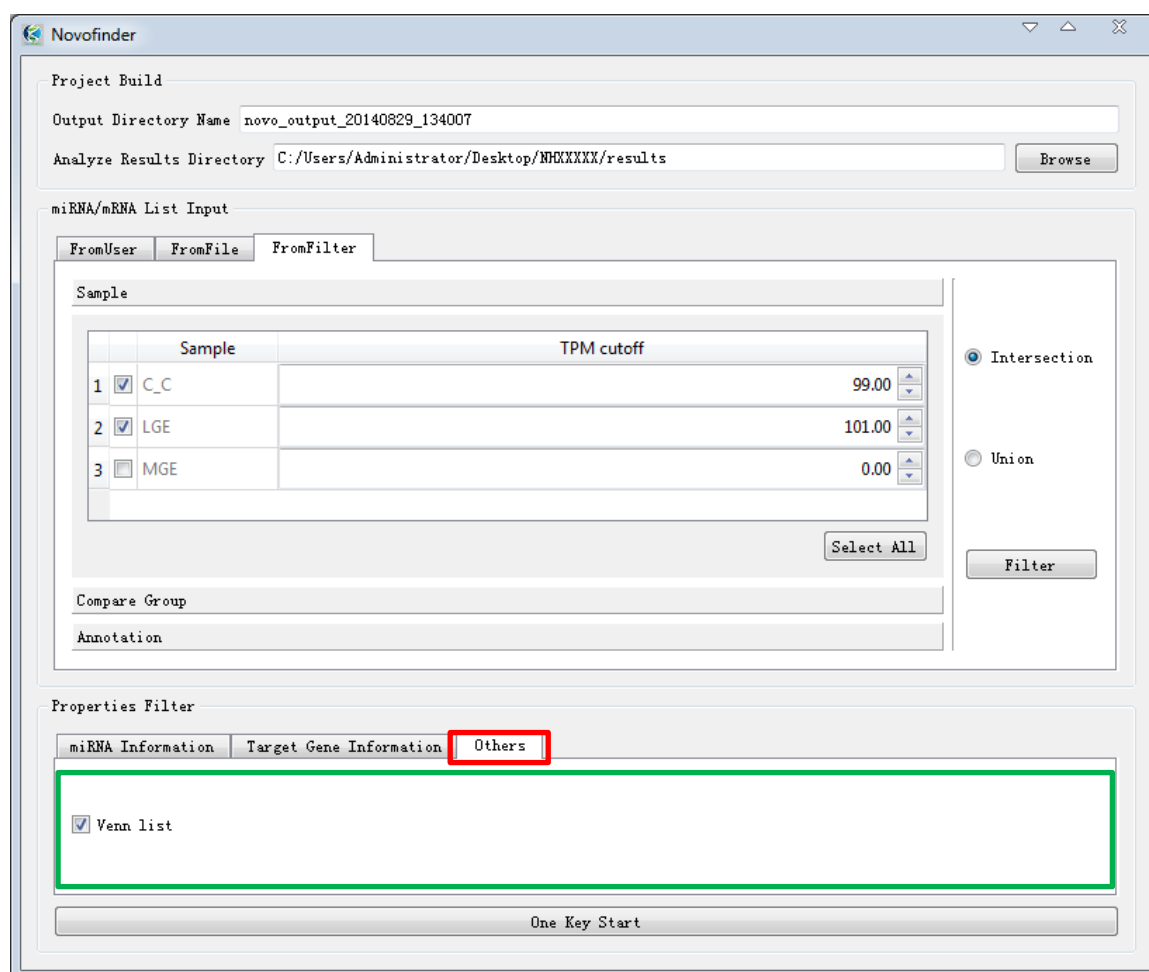


图 2.3.3

注：结果中的 txt 文本需要用 EditPlus、PlotEdit 等软件打开，直接用记事本打开不能以列的形式呈现；同一个 Output Directory Name 下进行操作时，二次搜集的结果会替换原先结果名称相同的文件中的内容。