使用GO::TermFinder进行GO 富集分析

一、安装GO::TermFinder

- 操作系统: Ubuntu
- GO::TermFinder: 是Perl下的一个模块,可以对一组gene和GO Terms做基因富集分析
- 1. 首先在Ubuntu系统下安装好**Perl解释器**以及Perl的**包管理器CPAN**。安装完毕后确认CPAN能够使用: sudo perl -MCPAN -eshell 打开成功后即为成功安装CPAN,键入q退出CPAN
 - 2. 在安装GO::TermFinder之前需要**安装一些Perl下的依赖库**,否则安装时会一直报错,具体如下(待补充):
 - 1. Storable 使用CPAN下install Storable即可安装
 - 2. CGI 使用CPAN下install CGI 即可安装
 - 3. GD 首先**需要在Ubuntu系统下**安装zlib、libpng、libgd模块(可能可以仅安装个别,未验证但全部安装肯定可以),使用sudo atp-get update 以及 sudo apt-get install libgd2-xpm-dev 等命令进行安装,**然后再进入CPAN**下install GD进行安装才能成功,否则直接CPAN下安装会报错
 - 4. GraphViz 首先**需要在Ubuntu系统下**sudo apt-get install graphviz,**然后再进入**CPAN下install GraphViz进行安装才能成功,否则直接CPAN下安装会报错
 - 3. 安装完上述模块后入CPAN下install GO::TermFinder进行安装,如果还出现报错,则需要按照出错提示安装对应的依赖模块才能够成功

二、下载对应的ontology files

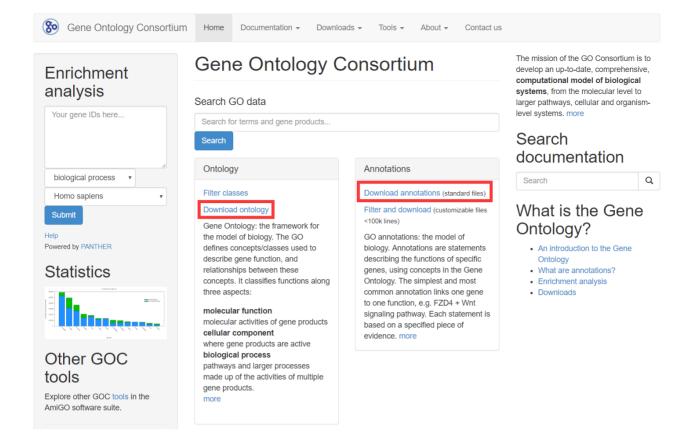
• GO::TermFinder主要需要两个与Gene Ontology有关的文件

1.**obo文件**,是用来存储所有GO term关系的文件,GOC上分有basic版本和不稳定版本,不稳定版本会经常拓展,但是包括了GO的其他关系

2.**annotations文件**,是用来存储gene 的GO 注释的文件 ,不同的物种有不同的annotation文件,在GOC上找对应的物种文件进行下载

这两个文件均可以从Gene Ontology Consortium的官网上(http://www.geneontology.org/)进行下载

下载界面:



三、获取分析代码并进行分析

- 在CPAN上下载的GO::TermFinder的模块包里面,examples文件夹中有一个其他团队写好的分析代码 batchGOView.pl 及其配置文件GoView.conf。该perl代码是利用GO::TermFinder模块对基因文件进行批量 处理分析的代码,配置文件内能够对生成的图以及p-value阈值等进行设定。
- 分析步骤
 - 1. 打开GoView.conf, 更改:
 - 1. annotationFile 把对应值改成下载下来的GO annotations文件的位置
 - 2. ontologyFile 把对应值改成下载下来的obo文件的位置
 - 3. aspect 表示GO分析的类别。GO数据库被分成了三个大类,分别cellular_component, biological_process 和molecular_function,所以这里的参数有三种可能:C, P 或者 F。每次只能设置一个。
 - 4. pvalueCutOff 可以设置p-value的阈值
 - 2. 更改配置文件完成后,准备gene文件(因为是批量处理,所以可以是多个),gene以txt文本的形式存储,每行存储一个gene,放在对应的位置。
 - 3. 此时再次确保 batchGOView.pl、GoView.conf、obo文件、annotations文件、gene.txt文件都已经存在
 - 4. 运行命令 perl batchGOView.pl GoView.conf genes.txt genes2.txt 进行富集分析
 - 5. 成功运行后,每个gene.txt文件都会对应生成一个html文件,里面即为富集分析的结果

结果示例:

Terms for genes.txt

Result Table

Terms from the Process Ontology with p-value as good or better than 0.01

Gene Ontology term	Cluster frequency		Corrected P-value	FDR	False Positives	Genes annotated to the term
cellular lipid metabolism	68 out of 238 genes, 28.6%	996 out of 24863 genes, 4.0%		0.00%		Abca1, Ang, Akr1c6, Acat1, Acsm5, Acsl5, Acot4, Abhd2, Acot3, Acsm3, Akr1d1, Akr1c13, Acot12, Amacr, Adipor2, Acaa2, Acaa1b, Acsm1, Akr1c12, Abcd3, B3gal11, Abhd3, Bdh2, Aldh5a1, Apof, Bcmo1, Apoa1, Angpt13, Acnat1, Apoc3, Agmo, Apoa5, Apoh, Baat, Abcd2, Akr1c18, Abcb4, Akr1c20, Abhd15, Aldh8a1, Apobec1, 9130409123Rik, Anxa1, Apob, App, Agpat3, Apoc1, Adh1, Apoa4, Adh7, Akr1c14, Acox1, Adh4, Acox2, Akr1c19, Acsl1, Acadv1, Apoc2, Adh5, Aldh1a1, Apoe, Alg1, Acnat2, Agt, Apoa2, 9530008114Rik, Acat3, Bco2
lipid metabolism	68 out of 238 genes, 28.6%	1130 out of 24863 genes, 4.5%	1.85e-32	0.00%	0.00	Aldh8a1, Abhd15, Akr1c20, Abcb4, Akr1c18, Abcd2, Adh4, Acox1, Akr1c19, Acox2, Akr1c14, Adh7, Apoa4, App, Apoc1, Aspat3, Adh1, Anxa1, 9130409123Rik, Apob. Apobec1, Apoe. Aig1, Adh5, Aldh1a1, Apoc2, Acadv1, Acs11, Bco2, Acat3, 9530008114Rik, Apoa2, Agt, Acnat2, Acs15, Acat1, Acsm5, Akr1c6, Ang, Abca1, Amacr, Acot12, Akr1c13, Akr1d1, Acot3, Acsm3, Acot4, Abhd2, Bcmo1, Apof, Aldh5a1, Bdh2, B3galt1, Abhd3, Acsm1, Acaa1b, Akr1c12, Abcd3, Acaa2, Adipor2, Baat, Agmo, Apoh, Apoa5, Apoc3, Angpt13, Acnat1, Apoa1
carboxylic acid metabolism	64 out of 238 genes, 26.9%	1213 out of 24863 genes, 4.9%	5.77e-27	0.00%	0.00	App. Acmsd, Aif1, Aass, Anxa1, Acox1, Acox2, Akr1c14, Apoa4, Adhfe1, Akr1c18, Abcd2, Akr1c20, Amdhd1, Apoa2, Ahcy, Agt, Acnat2, Asi, Agtt2, Abat, Acat3, 9530008114Rik, Acadyl, Apoc2, Acs11, Aig1, Acot3, Acsm3, Acot4, Abhd2, Aldh4a1, Arg1, Amacr, Acot12, Akr1d1, Aldh6a1, Adi1, Bckdha, Akr1c6, Acs15, Bbox1, Acat1, Acsm5, Acnat1, Angpt13, Apoa1, Ass1, Aldh111, Agtt, Baat, Apoa5, Adss11, Agphd1, Abhd3, Acsm1, Acaa1b, Abcd3, 1500003003Rik, Adipor2, Acaa2, Aldh5a1, Aadat, Bdh2
organic acid metabolism	65 out of 238 genes, 27.3%	1261 out of 24863 genes, 5.1%	7.11e-27	0.00%		Akr1c20, Amdhd1, Akr1c18, Abcd2, Acox1, Acox2, Akr1c14, Apoa4, Adhfe1, App, Acmsd, Aif1, Abcg2, Aass, Anxa1, Aig1, Apoc2, Acadvl, Acs11, Agxt2, Abat, Acat3, 9530008.1481ii, Apoa2, Ahcy, Agt, Asl, Acnat2, Bbox1, Acs15, Acat1, Acsm5, Bckdha, Akr1c6, Amacr, Acot12, Akr1d1, Aldh6a1, Adi1, Acot3, Acsm3, Acot4, Abhd2, Aldh4a1, Arg1, Aldh5a1, Bdh2, Aadat, Agphd1, Abhd3, Acaa1b, Acsm1, Abcd3, 1500003003Rik, Acaa2, Adipor2, Agxt, Baat, Apoa5, Adssl1, Angptl3, Acnat1, Apoa1, Ass1, Aldh1l1
fatty acid metabolism	38 out of 238 genes, 16.0%	345 out of 24863 genes, 1.4%		0.00%	0.00	Bdh2, Aldh5a1, Aig1, Adipor2, Acaa2, Acsl1, Abcd3, Acaa1b, Acsm1, Abhd3, Apoc2, Acadvl, 9530008L14Rik, Apoa5, Acat3, Baat, Acnat2, Agt, Apoa2, Angptl3, Acnat1, Acsm5, Akr1c20, Acat1, Acsl5, Abcd2, Akr1c6, Akr1c18, Apoa4, Acot12, Akr1c14, Acox2, Acox1, Anxa1, Abhd2, Acot4, Acsm3, Acot3