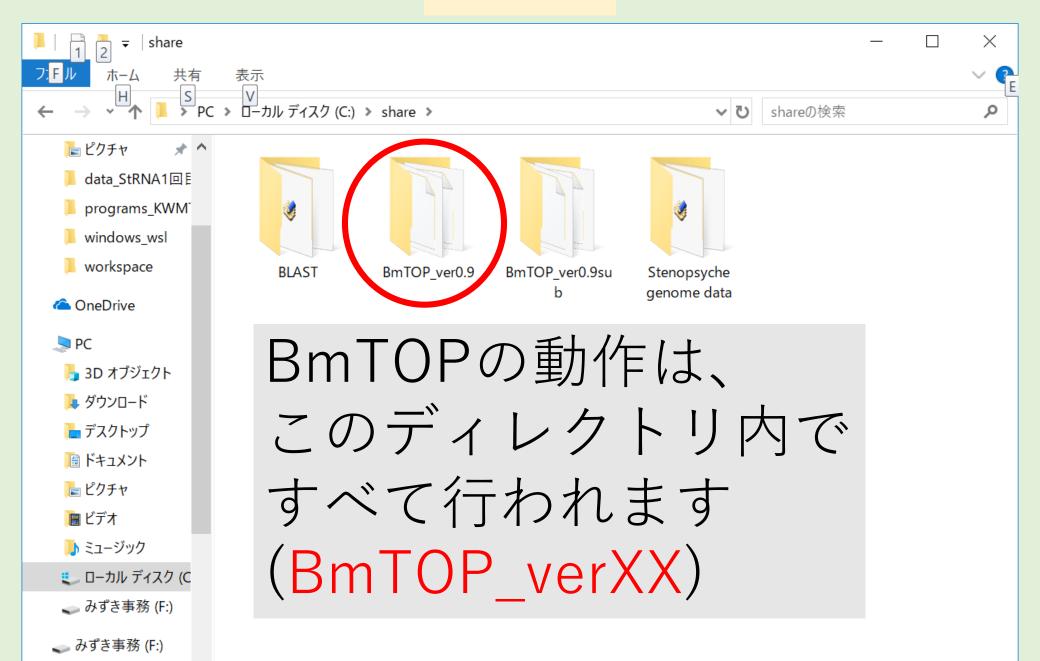
BmTOPのつかいかた

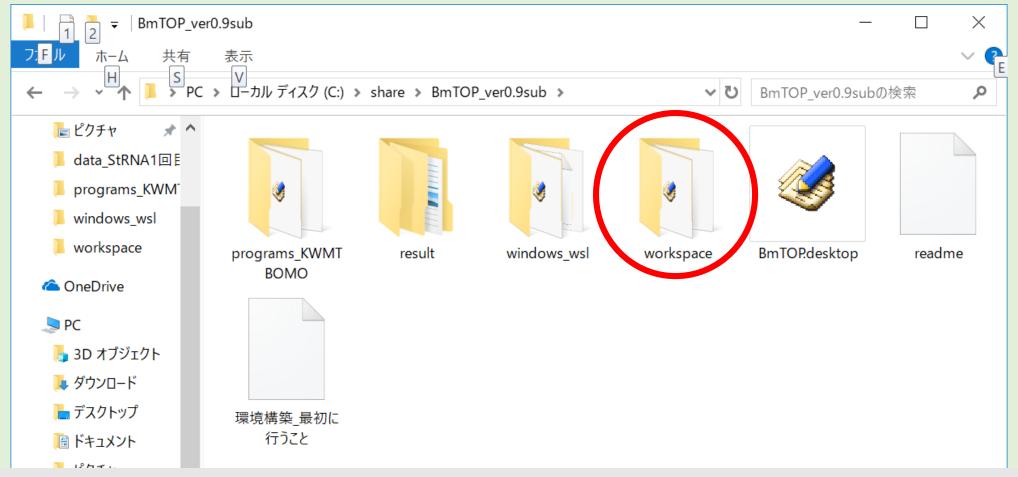
2019.09.08

岩手大学大学院連合農学研究科 大野瑞紀

はじめに



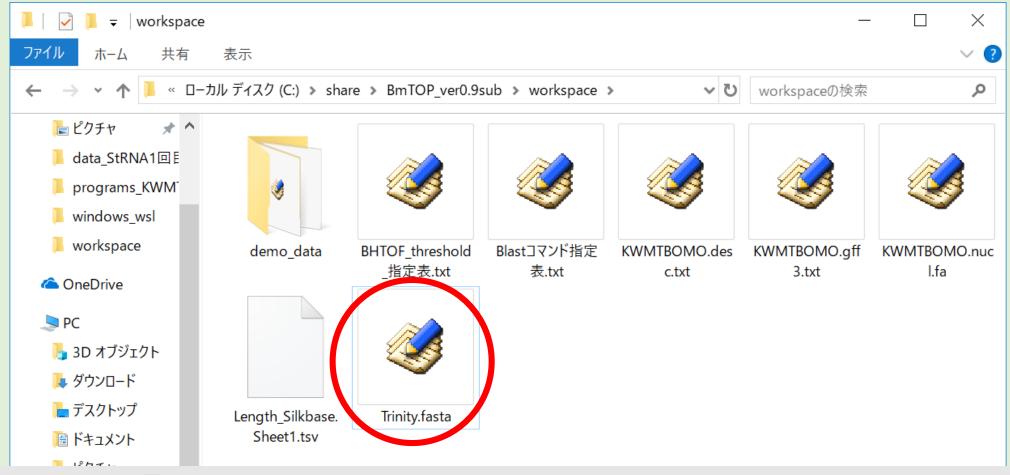
はじめに



最初に、BmTOP_verXXの中の「workspace」を開きます

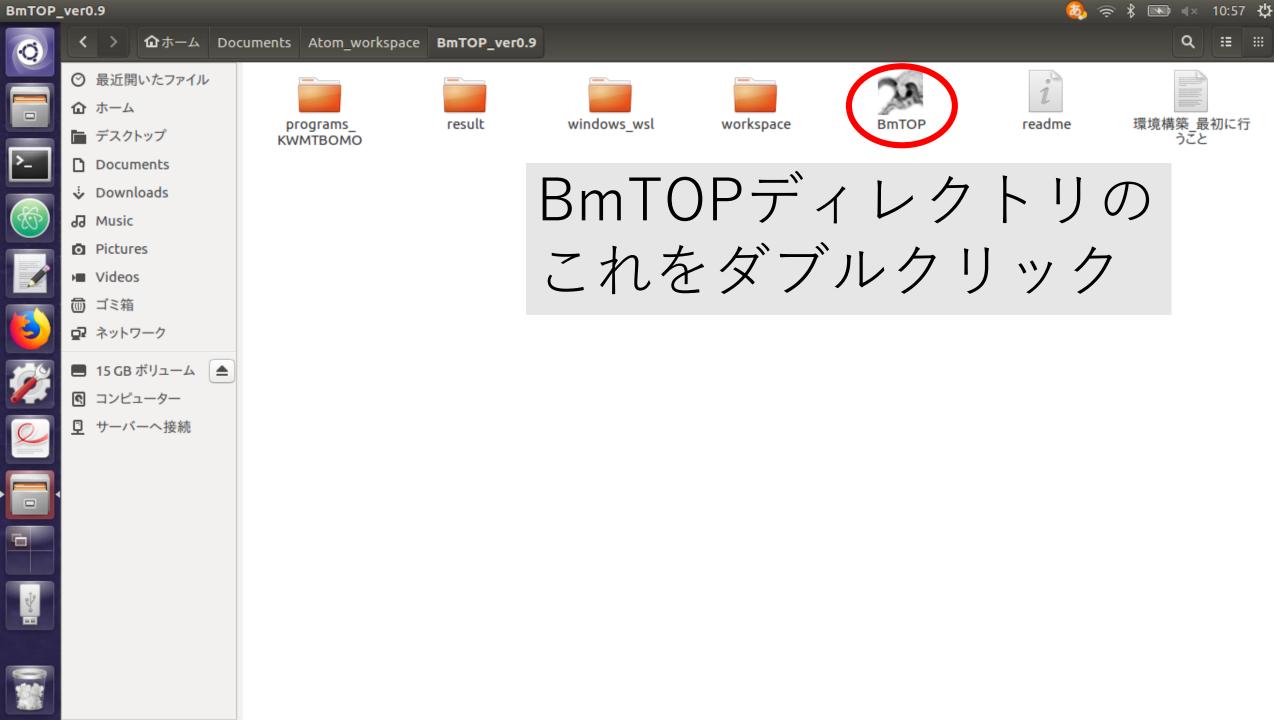
🧼 みずき事務 (F:)

はじめに



「workspace」の中に、あなたの RNA-seqデータを入れましょう(Trinity.fasta)

Ubuntuの場合 (18.04LTS)

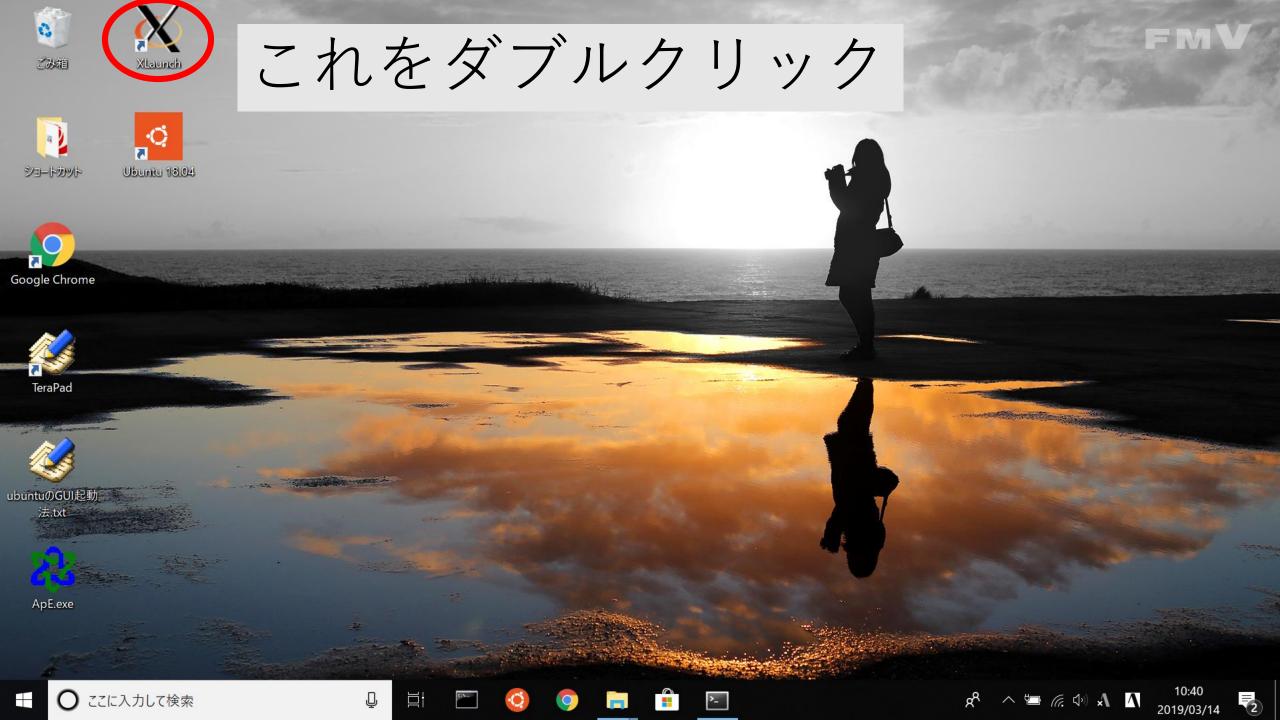


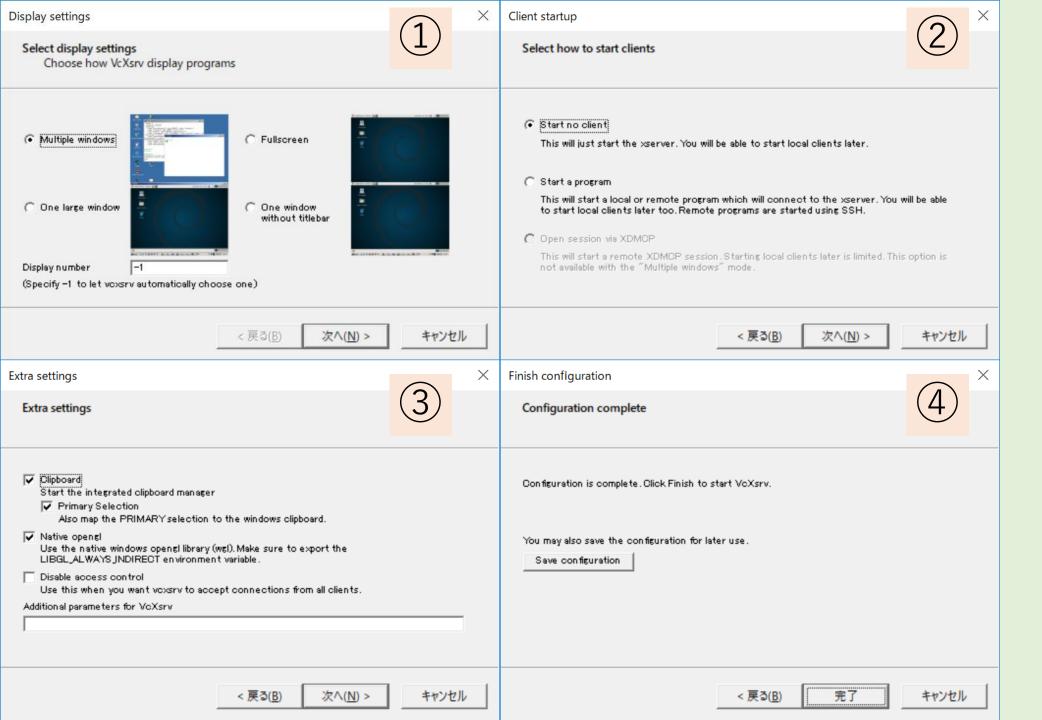
```
❷ ● □ 端末
それ以外のTableを解析に用いる場合、形式を合わせる必要があります
*2 本アプリケーションはlinux環境向けです
Windowsでは仮想OSやWSLでの実行をお勧めいたします
BmTOP:Bombyx mori Tool for Ortholog Picker
[menu]
1:BmTOP
2:BmTOP(16条件のオルソログ探索)
3:BmTOP_noIso(Trinity_data以外の解析用:Isoformを考えない解析)
4:BmTOP_noIso(Isoformを考えない16条件のオルソログ探索)
5:KWMT desConecter
6:ListCompariser
7:gene plotter
8:exit
command:
```

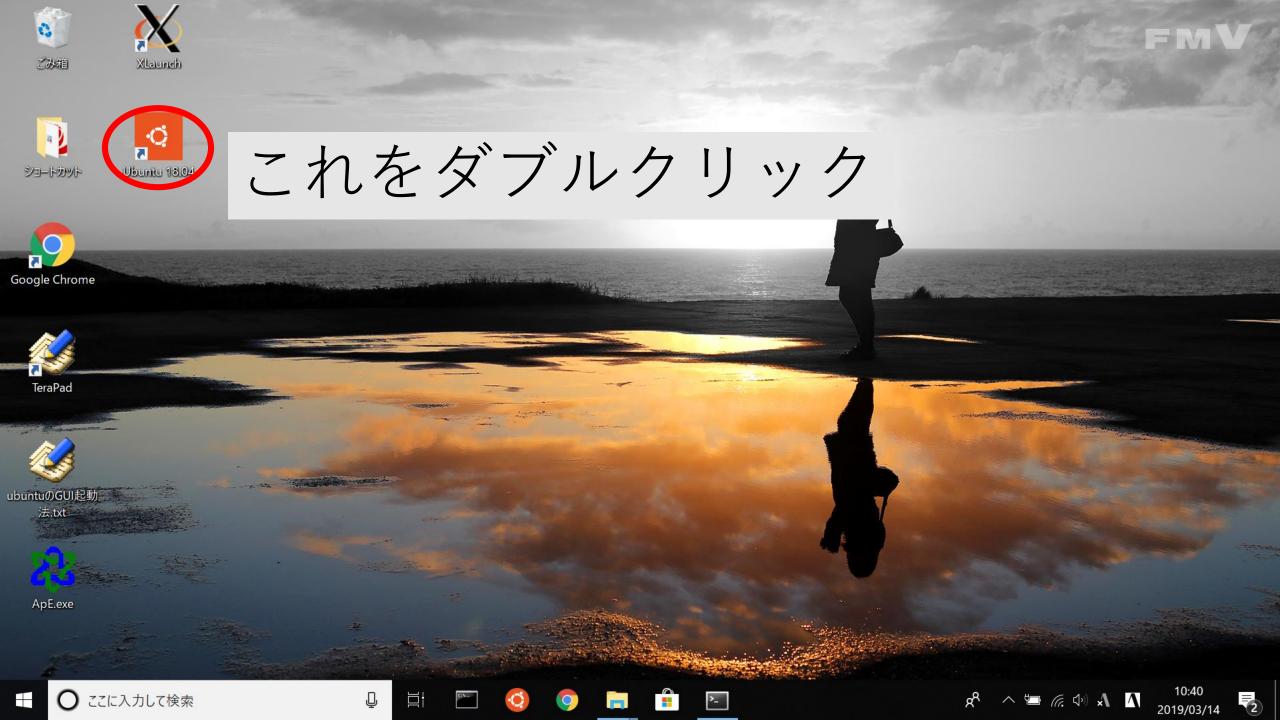
メニューが立ち上がりました

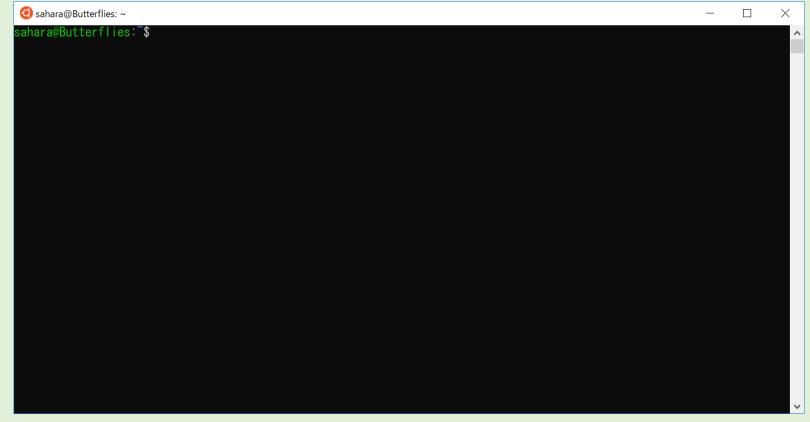
Windowsの場合 (Windows10)

正確には、windowsに実装されているWindows Subsystem for Linux(WSL)環境で実行する場合

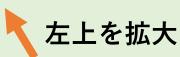


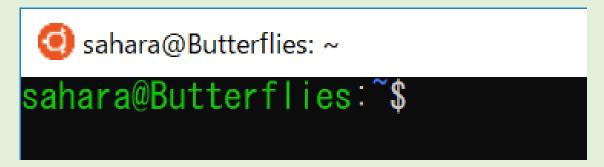






←こんなのが 出てきます





※「[パソコンの名前]:~\$」が 立ち上がるのを待ってから、 次の操作に移ってください sahara@Butterflies: ~

sahara@Butterflies:~\$ BmTOP

「BmTOP」と打ち込む

```
❷ ● □ 端末
それ以外のTableを解析に用いる場合、形式を合わせる必要があります
*2 本アプリケーションはlinux環境向けです
Windowsでは仮想OSやWSLでの実行をお勧めいたします
BmTOP:Bombyx mori Tool for Ortholog Picker
[menu]
1:BmTOP
2:BmTOP(16条件のオルソログ探索)
3:BmTOP_noIso(Trinity_data以外の解析用:Isoformを考えない解析)
4:BmTOP_noIso(Isoformを考えない16条件のオルソログ探索)
5:KWMT desConecter
6:ListCompariser
7:gene plotter
8:exit
command:
```

メニューが立ち上がりました

メニューの説明

```
BmTOP:Bombyx mori Tool for Ortholog Picker
[menu]
                                     一気に16条件のthresholdで
1:BmTOP
                                      解析したい場合、2 (or 4)を選ぶ
2:BmTOP(16条件のオルソログ探索)
3:BmTOP_noIso(Trinity_data以外の解析用:Isoformを考えない解析)
4:BmTOP_noIso(Isoformを考えない16条件のオルソログ探索)
5:KWMT_desConecter
6:ListCompariser
7:gene_plotter
8:exit
command:
```

- 1, 2: RNA_seqデータ(Trinity.fasta)を解析したい人
- 3, 4: GeneModel同士を解析したい人
- 5: カイコGeneModel(2017)のdescription dataを任意のファイルに書き込みたい人
- 6: 二つの解析結果を比較したい人
- 7: BmTOPの解析結果をカイコ染色体上に*in silico* mapしたい人
- 8: アプリケーションの実行をやめたい人

1~4を選んだ場合

BmTOPを実行します

解析に用いるデータタイプを選択してください

A:カイコGeneModelsのデータベース化とtblastx解析が必要

B:カイコGeneModelsのデータベース化とblastn解析が必要

C:tblastx解析が必要

D:blastn解析が必要

E:blast済(tblastx HitTable.txt準備済)

F:exit

command:

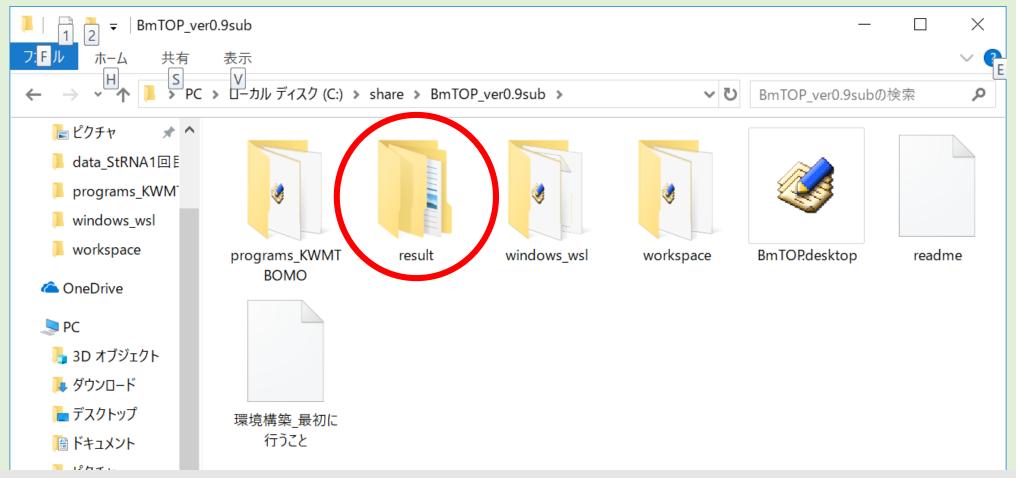
「workspace」ディレクトリに「Trinity.fasta」がある場合: AとBが点灯

「workspace」ディレクトリに Blastデータベースを作成済み: CとDが点灯

「workspace」ディレクトリに Blast解析済みのデータがある: Eが点灯

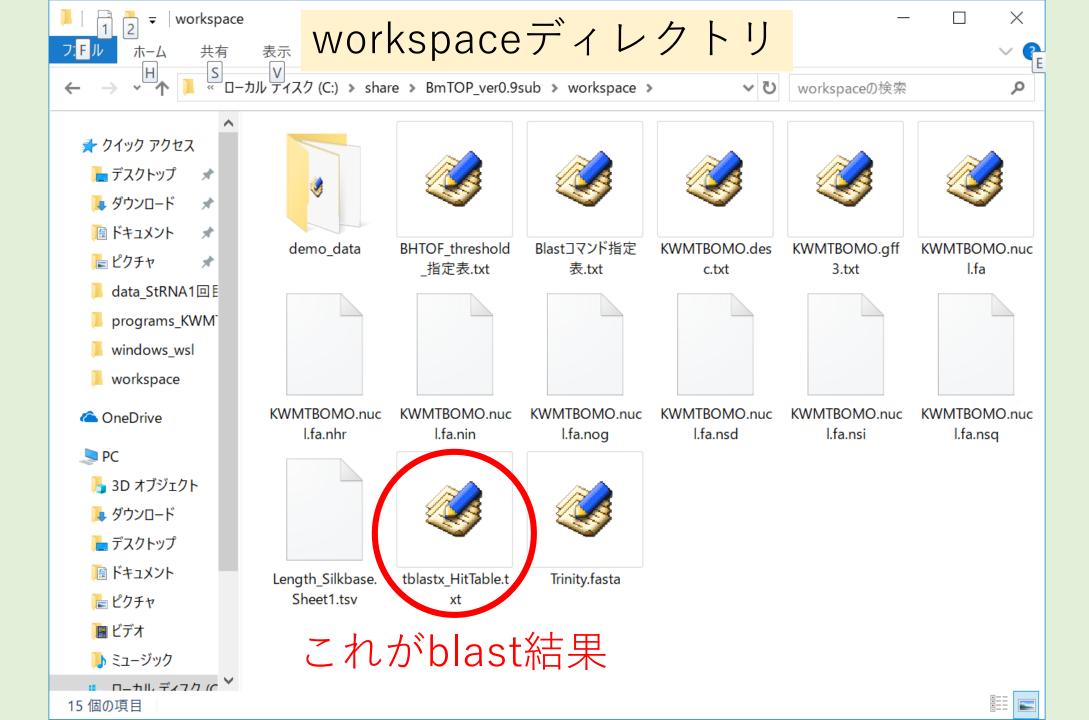
わからなかったら、とにかくAを選ぶ!!!

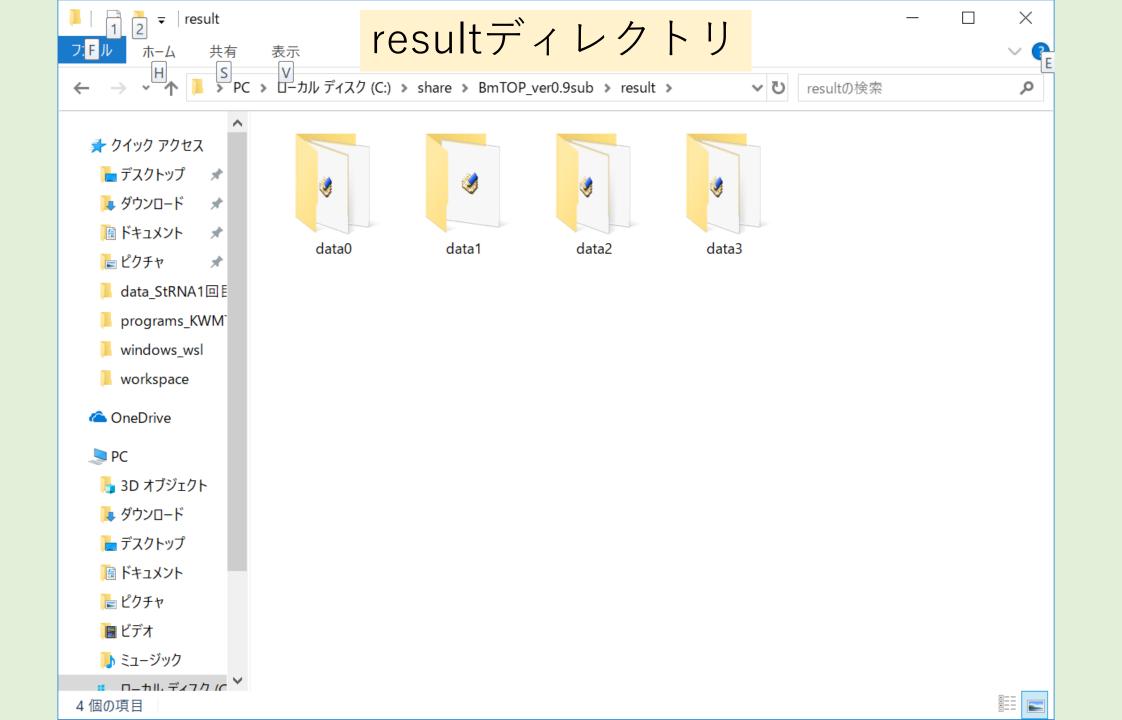
BmTOP解析結果



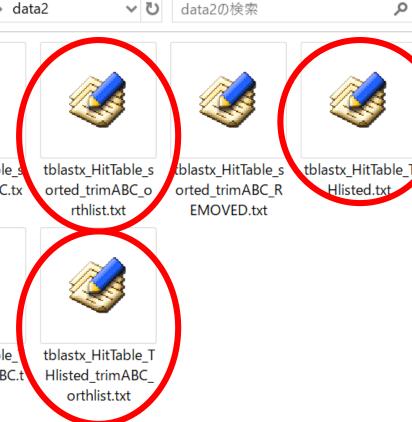
ほとんどが「result」に出力されます (tblastx_HitTable.txtなど一部は、workspaceに出力されます)

・ かずき事務 (F:)





dataXディレクトリ(1 or 3を選んだ場合) ★ クイック アクセス 🤚 デスクトップ 🌗 ダウンロード || ドキュメント tblastx HitTable s tblastx HitTable s tblastx HitTable s ኬ ピクチャ orted.txt orted trimAB.txt orted trimABC.tx data StRNA1回目 programs KWM⁻ windows wsl workspace OneDrive tblastx HitTable T tblastx HitTable T tblastx HitTable Hlisted trimA.txt Hlisted trimAB.tx Hlisted trimABC.t PC 易 3D オブジェクト 🌗 ダウンロード 「使うファイル」 **デスクトップ**



 \times

tblastx HitTable Thlisted.txt tblastx HitTable sorted.txt tblastx HitTable Thlisted trimABC orthlist.txt tblastx HitTable sorted.txt trimABC orthlist.txt

■ ローカル・ディフカ /C 🎽 10 個の項目

ミュージック

| ドキュメント

L ピクチャ

₩ ビデオ

[使うファイル]

tblastx_HitTable_Thlisted.txt: 全blast結果のTop Hitのみを並べたTable

tblastx_HitTable_sorted.txt: 全blast結果を並べたTable

tblastx_HitTable_Thlisted_trimABC_orthlist.txt: すべてのthresholdによるfilteringをパスした blast結果のTop Hitのみを並べたTable

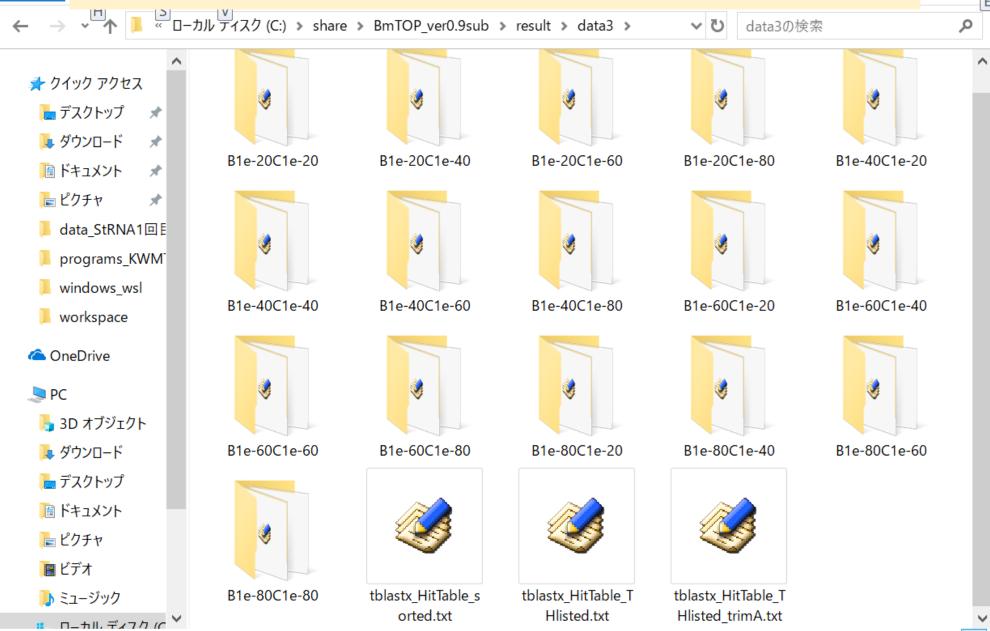
tblastx_HitTable_sorted.txt_trimABC_orthlist.txt: すべてのthresholdによるfilteringをパスした blast結果を並べたTable

本解析の 最終結果

19 個の項目

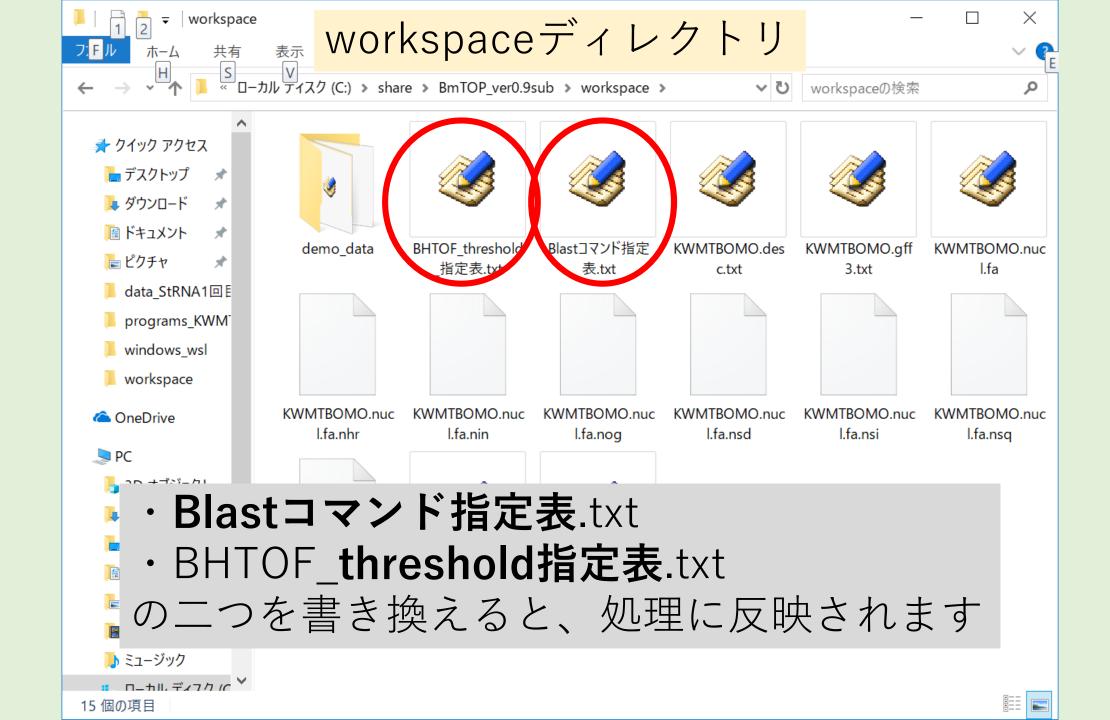
dataXディレクトリ(2 or 4を選んだ場合)



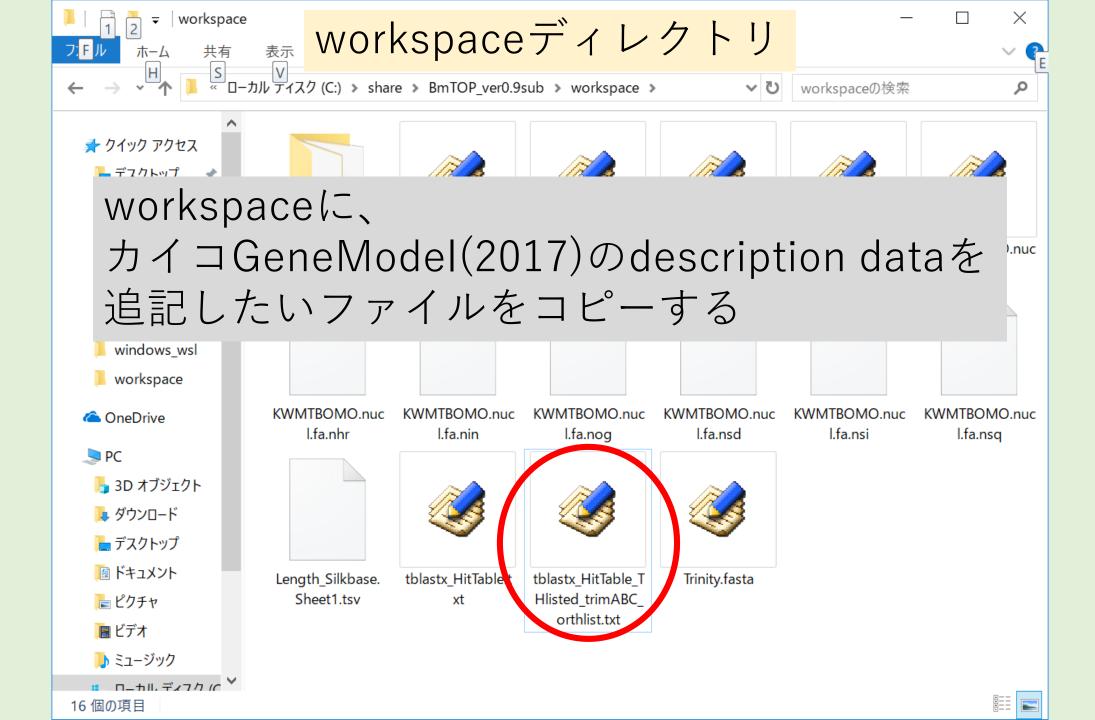


BmTOP

blast条件と各thresholdの変更



5: KWMT_desConecterの使い方



```
BmTOP:Bombyx mori Tool for Ortholog Picker
[menu]
1:BmTOP
2:BmTOP(16条件のオルソログ探索)
3:BmTOP_noIso(Trinity_data以外の解析用:Isoformを考えない解析)
4:BmTOP_noIso(Isoformを考えない16条件のオルソログ探索)
5:KWMT desConecter
6:ListCompariser
7:gene plotter
8:exit
command:
```

BmTOPを起動して、5を選ぶ

KWMTBOMO description dataを追加したいファイル名を記入してください ※テキストファイル限定 filename:

> ※KWMTBOMO_IDが特定のカラム(列)に 記載されているファイルならなんでもいい

KWMTB0M0 description dataを追加したいファイル名を記入してください ※テキストファイル限定

filename: tblastx_HitTable_THlisted_trimABC_orthlist.txt

KWMTB0M0ナンバーが記入されているカラム番号を記入してください

(一番左のカラムを0として、0,1,2....と数える)

column#:

tblastx HitTable Thlisted trimABC orthlist.txt

Trinity_ID	SB_ID	SB_chr	SB_start	SB_end	evalue	bitscore
TRINITY_DN32_c0_g1_i1	KWMTBOMO12624	Bomo_Chr21	9544924	9553506	1.15E-125	448
TRINITY_DN140_c0_g1_i1	KWMTBOMO08769	Bomo_Chr15	4760217	4798518	1.27E-112	405
TRINITY_DN141_c0_g1_i1	KWMTBOMO11779	Bomo_Chr19	14554851	14565666	1.48E-112	405
TRINITY_DN439_c0_g1_i1	KWMTBOMO07000	Bomo_Chr12	1517092	1563539	2.93E-87	320
TRINITY_DN489_c0_g1_i1	KWMTBOMO15834	Bomo_Chr26	11172537	11173638	8.11E-161	566
TRINITY_DN537_c0_g1_i1	KWMTBOMO15739	Bomo_Chr26	8353209	8357142	5.54E-91	333
TRINITY_DN593_c0_g1_i1	KWMTBOMO10658	Bomo_Chr18	145276	152435	1.82E-93	340

この場合、 KWMTBOMOのIDは **カラム1**に記入されている



処理の結果

workspaceに、 (元データ)_desc.fastaファイルが出力される

tblastx_HitTable_Thlisted_trimABC_orthlist_desc.txt

Trinity_ID	SB_ID	SB_chr	SB_start	SB_end	evalue	bitscore BLAST (UniRef) KWMTBOMO_length(bp)
TRINITY_DN32_c0_g1_i1	KWMTBOMO12624	Bomo_Chr21	9544924	9553506	1.15E-125	5 448 para_sodium_channel_alpha_subunit 1356 variant_2_[Bombyx_mandarina]
TRINITY_DN140_c0_g1_i1	KWMTBOMO08769	Bomo_Chr15	4760217	4798518	1.27E-112	PREDICTED:_GTPase- activating_Rap/Ran-GAP_domain- like_protein_3_isoform_X1_[Bombyx_ mori] 2826
TRINITY_DN141_c0_g1_i1	KWMTBOMO11779	Bomo_Chr19	14554851	14565666	1.48E-112	I IIN: CACTIN I BOMDVX MOTH
TRINITY_DN439_c0_g1_i1	кwмтвомоо7000	Bomo_Chr12	1517092	1563539	2.93E-87	7 320 PREDICTED:_dynein_heavy_chain_2, 7599 axonemal_[Amyelois_transitella]
TRINITY_DN489_c0_g1_i1				11173638	8.11E-161	1 566osiris_18_precursor_[Bombyx_mori] 813
TRINITY_DN537_c0_g1_i1	KWMTBOMO15739	Bomo_Chr26	8353209	8357142	5.54E-91	1 333 octopamine_receptor_[Bombyx_mori] 1182
TRINITY_DN593_c0_g1_i1	KWMTBOMO10658	Bomo_Chr18	145276	152435	1.82E-93	PREDICTED:_SLIT- ROBO_Rho_GTPase- activating_protein_3- like_isoform_X2_[Bombyx_mori]





6: ListCompariserの使い方

workspaceに**比較したい2つのファイル**を配置し、 端末の指示に従ってKWMTBOMO_IDの記入されている カラムを指定すると、比較結果が返される

出力ファイル

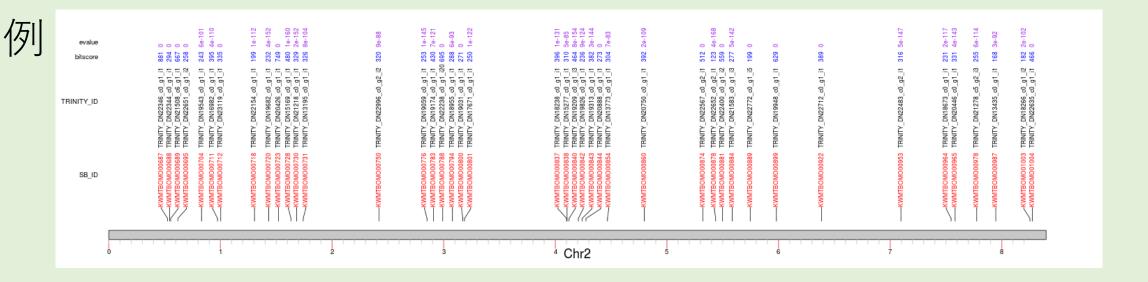
[指定したファイル名]_both.txt 比較した2ファイルの<mark>どちらにも存在した</mark>KWMTBOMO_IDのリスト

[指定したファイル名]_qonly.txt 比較した2ファイルのうち、<mark>クエリー側にしか存在しなかった</mark>KWMTBOMO_IDのリスト

7: gene_plotterの使い方

「tblastx_HitTable_Thlisted_trimABC_orthlist.txt」がworkspaceにある状態で選択すると、自動でカイコ染色体Z-28まで*in silico* mapしてくれます

結果はresultファイルにまとめて出力されます(.png, .pdf)



注意点

※※注意※※

- 自分のデータと解析結果以外、ディレクトリを動かさないこと!
 - 「result」のファイルは自由に消したり動かしてもいい
 - 「workspace」のファイルは、Trinity.dasta, tblastx_HitTable.txt, KWMTBOMO.nucl.fa.nhr, KWMTBOMO.nucl.fa.nin, KWMTBOMO.nucl.fa.nsd, KWMTBOMO.nucl.fa.nsd, KWMTBOMO.nucl.fa.nsqは自由に消したり動かしてもいい
- 「workspace」と「result」以外を触らないこと!
- BmTOP自体の場所を動かすと、正常に起動しなくなります (環境設定をし直す必要あり)