The 1st. D-STEP & The 36th DDBJing /

第1回 D-STEP 講習会 & 第36回 DDBJing講習会

2018 (H30) Jan. 26th. 10:00 - 12:00

Takeshi Kawashima / 川島武士 / かわしまたけし

本日の方針

参加者の皆さんには

- 1. NIG (国立遺伝学研究所)の大型計算機にアクセスし、
- 2. Unix[系]のコマンドを利用し
- 3. 塩基配列データを対象とした配列解析を行う

ための基礎を身につけてもらいます。

ほとんどの内容は、NIGの大型計算機に特化した内容ではなく、他の多くの大型計算機センターでの利用時に通用するものだと思います。実際に使うジョブ管理システム(キューイングシステム)は、NIGの大型計算機で採用しているUGE (Univa Grid Engine)を前提に説明しますが、他の大型計算機センターにおいても概ね同じようなシステムが動いていますので、参考になるはずです。





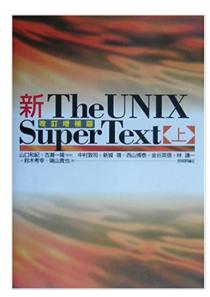
おすすめテキスト



入門Unixオペレーティングシステム 絶版かも。。。



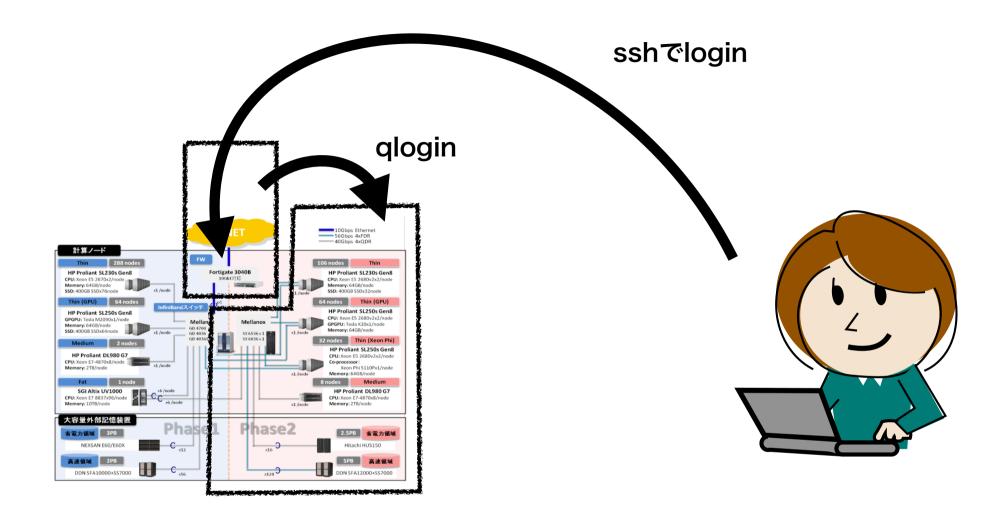
入門Unix for OS X 上記とほぼ同じ内容です。 (ただしMacOSXユーザ用)



新The UNIX Super Text 上下巻 絶版かも。。。







NIGスパコンへのloginは、2ステップ。 まずssh、次にすぐにqlogin!!







本日の目標、7項目

関連キーワード

- 1. 自分が利用している環境について知る
 - Is, Ifs, pwd, /usr/local/seq, etc.
- 2. キューイングシステムを利用する
 - qlogin, qsub, qstat, qdel, qreport, etc.
- 3. 欲しいデータを取得する
 - DDBJ, DRA / ftp, wget, tar, gzip, bzip2, etc.
- 4. 自分の環境を使いやすくする
 - .bashrc, ローカルへのインストール, 環境変数 etc.
- 5. マッピング作業
 - bowtie2, etc.
- 6. キューイングシステム利用のための簡単なBASHプログラミング
 - bash, アレイジョブ(SGE_TASK_ID)
- 7. (時間に余裕があれば) 描画のための簡単なRプログラミング

• R

NIG Super Computer

ジョブ管理システム

生物データベース

UNIX

Genome Informatics

ジョブ管理システム

Visualize



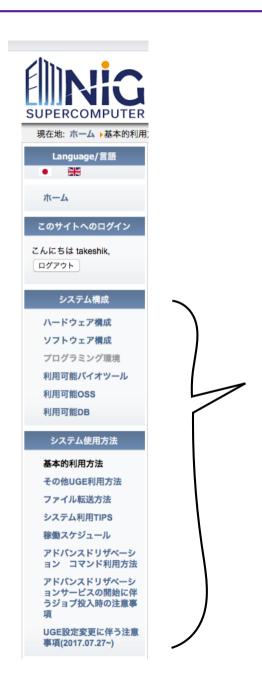
1. 自分が利用している環境について知る

大型計算機へのログインの方法と、 Unixの基本的なコマンドを、おさらいしましょう。





1-1. 自分が利用している環境について知る (1/8)



この辺りに書いてあります





(cc) BY

1-2-1. スパコンへのログインの方法 (2/8)

```
# 白分のパソコンのターミナルにて
1s
                                       # エルエス
1s -1
# ssh <your-login-id>@gw2.ddbj.nig.ac.jp
DSTEPMac:TOSHIBA dstep$ ssh dstep@gw2.ddbj.nig.ac.jp
Last login: Thu Jan 11 13:08:03 2018 from xxx.xx.xx
Thank you for using supercomputer system.
This node is in use for login service only. Please use 'glogin'.
[dstep@qw2 ~]$ qloqin
# 自分のパソコンのターミナルに戻る
[dstep@qw2 ~]$ exit
[dstep@qw2 ~]$ exit
#id rsa.pubの設定がややこしくなってきた時、id rsaのファイルをあえて指定する
# ssh -i <your-login-id>@gw2.ddbj.nig.ac.jp
DSTEPMac:TOSHIBA dstep$ ssh -i ~/.ssh/id rsa dstep@gw2.ddbj.nig.ac.jp
Enter passphrase for key '/Users/dstep/.ssh/id rsa.nig':
Last login: Thu Jan 11 13:08:03 2018 from xxx.xx.xx
Thank you for using supercomputer system.
This node is in use for login service only. Please use 'glogin'.
[dstep@gw2 ~]$ qlogin
```







1-2-2. スパコンへのログイン (3/8)

自分のパソコンのターミナルに戻る

```
[dstep@gw2 ~]$ exit

# X window システムを自分のターミナルに飛ばす

# ssh -X <your-login-id>@gw2.ddbj.nig.ac.jp

# ssh -Y <your-login-id>@gw2.ddbj.nig.ac.jp

DSTEPMac:TOSHIBA dstep$ ssh -Y dstep@gw2.ddbj.nig.ac.jp

Last login: Thu Jan 11 13:08:03 2018 from xxx.xx.xx.xx

Thank you for using supercomputer system.

This node is in use for login service only. Please use 'qlogin'.
```

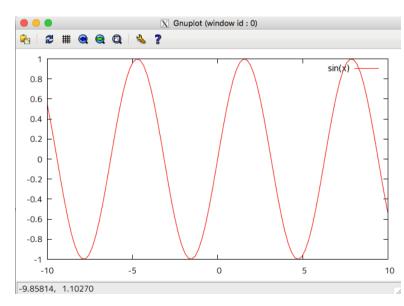
ここからはgnuplot

[dstep@nt098 ~]\$ gnuplot

G N U P L O T
Version 4.4 patchlevel 4

Terminal type set to 'wxt'
gnuplot> plot sin(x)

gnuplot> quit









1-2-3. スパコンへのログイン (4/8)

```
# ここからはR

[dstep@nt094 ~]$ R

R version 2.14.1 (2011-12-22)

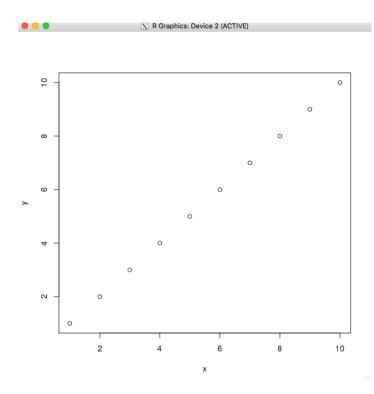
> x <- 1:10

> y <- 1:10

> plot(x, y)

# Rからでる

> q()
Save workspace image? [y/n/c]: n
```







1-3. 利用可能なディスクスペース (5/8)

```
# gloginしたターミナルにて
1s
ls -1
ls -1 /home
ls -1 /home | grep dstep
[dstep@nt096 ~]$ ls -1 /home | grep <your-login-id>
lrwxrwxrwx 1 dstep
                      ma-nig 22 4月 8 10:43 2016 dstep -> /
lustre3/home/dstep
[dstep@nt096 ~]$
# この場合、自分のホームディレクトリが /lustre3 にあることがわかる。
# なおphase2の利用ユーザーは、lustre1からlustre5までのどれかに振り分けられている。
[dstep@nt096 ~]$ lfs quota -u <your-login-id> /lustre3
Disk quotas for user dstep (uid 3907):
    Filesystem kbytes quota limit
                                           files
                                                         limit
                                                  quota
                                    grace
                                                                 grace
      /lustre3 200000000
                            0 1000000000
                                            - 7000000
                                                           0
# この場合、自分には /lustre3の元で1000000000 kbyte (=1Tbyte)割り当てられており
# そのうち200000000 kbyte (=200Gbyte)利用していることが分かる。
```



1-4. 環境変数 (6/8)

```
# gloginしたターミナルにて
echo "TEST"
printenv
printenv
           WC
printenv
          sed -e "s/=.*//"
echo $HOME
echo $SHELL
echo SPWD
echo $USER
echo SPATH
time
which time
[dstep@nt098 ~]$ which time
/usr/bin/time
                                  # time コマンドは /usr/binの下においてある
echo $PATH
                                  # /usr/binというディレクトリは確かに環境変数PATHの中に記載されている
[dstep@nt098 ~]$ echo $PATH
/home/geadmin2/UGER/bin/lx-amd64:/usr/lib64/qt-3.3/bin:/opt/pgi/linux86-64/current/bin:/
usr/kerberos/sbin:/usr/kerberos/bin:/usr/local/pkg/java/current/bin:/opt/intel/xe 2016/
compilers and libraries 2016.1.150/linux/bin/intel64:/opt/intel/xe 2016/
compilers and libraries 2016.1.150/linux/mpi/intel64/bin:/opt/intel/xe 2016/debugger 2016/
gdb/intel64 mic/bin:/usr/local/bin:/bin:/usr/bin:/usr/local/sbin:/usr/sbin:/opt/
```

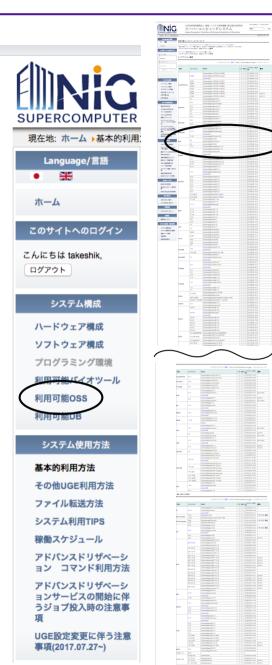






ibutils/bin:/opt/intel/itac/8.1.3.037/bin:/home/dstep/local/bin:/home/dstep/bin

1-5. 利用可能OSS (7/8)



		· -	
	0.5.9	/usr/local/pkg/bwa/0.5.9	o o o o 2012/02/07 11:07
	1.6	/usr/local/pkg/canu/v1.6	o o o o 2017/10/19 14:22
canu	4.5	/usr/local/pkg/canu/v1.5	o o o o 2017/05/18 15:42
	1.5	/usr/local/pkg/canu/current	o o o o 2017/05/18 15:42
	0.69-6	/usr/local/nkg/circos/0.69_6	0 0 0 0 2017/10/19 14:36

/usr/local/pkg/canu/current

[dstep@nt094 ~]\$ /usr/local/pkg/canu/current/bin/canu --version

Canu snapshot v1.5 +43 changes (r8243 f05c81531c19887459ca53ac3702509ee70eac22)

full pathを打たないで使えるようにしたい

[dstep@nt094 ~]\$ canu

-bash: canu: コマンドが見つかりません

環境変数 PATHを設定することで、利用可能になります





Person Separation of Interesting and Laboration Section Contract Contract Bill Contract

1-6. 自分が利用している環境について知る (8/8)



ここまでで、

適切にログインし、 自分の環境を確認する

ことができるようになりました。

環境変数についても学びました。





2. キューイングシステムを利用する

大型計算機利用時に特有のジョブ管理システム(キューイングシステム) について学びます。

ただし**最低限**知っていなければならないことは、すでに1.で学んだように、 **ログイン時にすぐqlogin**コマンドを打つことです。

とはいえ、ゲノム解析などを実際に行うには、**キューイングシステム**について、正しい理解が必要です。ここでは実際にqsubコマンドを利用してみましょう。





2. キューイングシステムを利用する

大型計算機利用時に特有のジョブ管理システム(キューイングシステム) について学びます。

ただし**最低限**知っていなければならないことは、すでに1.で学んだように、 **ログイン時にすぐqlogin**コマンドを打つことです。

とはいえ、ゲノム解析などを実際に行うには、**キューイングシステム**について、正しい理解が必要です。ここでは実際にqsubコマンドを利用してみましょう。





2. キューイングシステムを利用する (1/6)

```
# この後利用するいくつかのファイルをダウンロードしてください。
 (gitを普段利用している方へ:
 ここでは説明のため、あえてgitの機能を利用せずにwgetで取得しています。)
 以下を、スパコンにログインした後行ってください
 cd ~/
 mkdir myprojects
 mkdir myprojects/DSTEP20180126
 cd ~/myprojects/DSTEP20180126
 wget https://raw.githubusercontent.com/tkwsm/DSTEP20180126/master/time.gsub
 wget https://raw.githubusercontent.com/tkwsm/DSTEP20180126/master/time.sh
 wget https://raw.githubusercontent.com/tkwsm/DSTEP20180126/master/bowtie2.gsub
 wget https://raw.githubusercontent.com/tkwsm/DSTEP20180126/master/bowtie2 multi.gsub
 wget https://raw.githubusercontent.com/tkwsm/DSTEP20180126/master/sra2fastg loop.sh
 wget https://raw.githubusercontent.com/tkwsm/DSTEP20180126/master/trimmomatic.sh
 wget https://raw.githubusercontent.com/tkwsm/DSTEP20180126/master/hemoglobin b.fa
 [dstep@nt096 tmp]$ wget https://raw.githubusercontent.com/tkwsm/DSTEP20180126/master/time.qsub
 2018-01-11 16:55:38 (24.8 MB/s) - `time.qsub' へ保存完了 [236/236]
 gitを普段利用されている方は下記の方が楽です。
 DSTEPMac:tmp dstep$ git clone git@github.com:tkwsm/DSTEP20180126.git
 Cloning into 'DSTEP20180126'...
 DSTEPMac:tmp dstep$ 1s
 DSTEP20180126
 DSTEPMac:tmp dstep$ cd DSTEP20180126/
 DSTEPMac:DSTEP20180126 dstep$ 1s
 README.md time.gsub time.sh
```







2. キューイングシステムを利用する (2/6)

```
# time.sh というプログラムが取得できたかどうかを1sで確認する [dstep@nt096 tmp]$ ls time.sh
```

time.sh というプログラムの中身をcatで確認する

[dstep@nt096 tmp]\$ cat time.sh



time.sh というプログラムを実行してみる

```
[dstep@nt094 dstep20180126]$ bash time.sh
start program
start sleep 15 sec
end sleep
program done
[dstep@nt094 dstep20180126]$
```





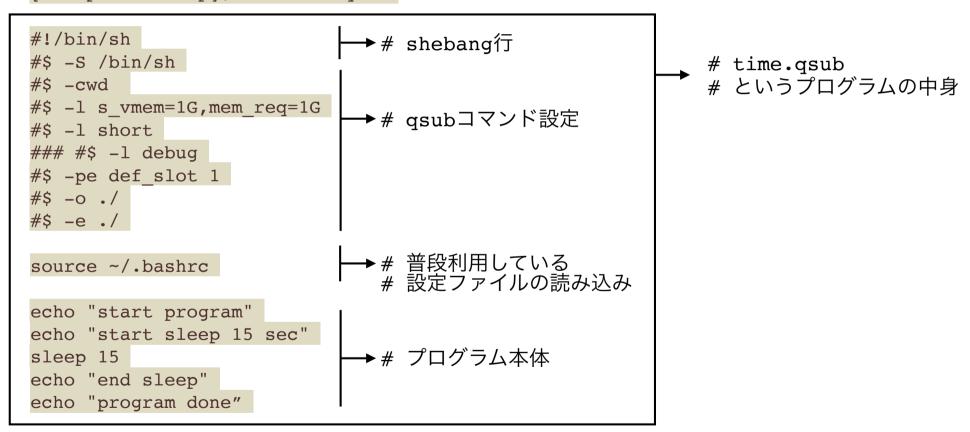


2. キューイングシステムを利用する (3/6)

```
# time.qsub というプログラムが取得できたかどうかを1sで確認する [dstep@nt096 tmp]$ 1s time.qsub
```

time.qsub というプログラムの中身をcatで確認する

[dstep@nt096 tmp]\$ cat time.qsub



[dstep@nt096 tmp]\$







2. キューイングシステムを利用する (4/6)

time.qsub というプログラムを実行してみる

[dstep@nt094 dstep20180126]\$ qsub time.qsub
Your job 10384431 ("time.qsub") has been submitted

[dstep@nt094 dstep20180126]\$ qstat

job-ID	prior	name	user	state	submit/star	t at	queue	jclass	slots j	a-task-ID
10384220	0.25036	QLOGIN	dstep	r	01/16/2018	11:36:44	login.q@nt094i			1
10384431	0.00000	time.qsub	dstep	qw	01/16/2018	12:35:25				1

[dstep@nt094 dstep20180126]\$ qstat

job-ID	prior	name	user	state	submit/sta	rt at	queue	jclass	slots	ja-task-ID	ì
10384220	0.25040	QLOGIN	dstep	 r	 01/16/2018	11:36:44	login.q@nt094i			1	

[dstep@nt094 dstep20180126]\$

[dstep@nt094 dstep20180126]\$ 1s

time.sh time.qsub

time.qsub.e10384431 time.qsub.pe10384431 time.qsub.o10384431 time.qsub.po10384431

▶# 標準出力と標準エラー出力



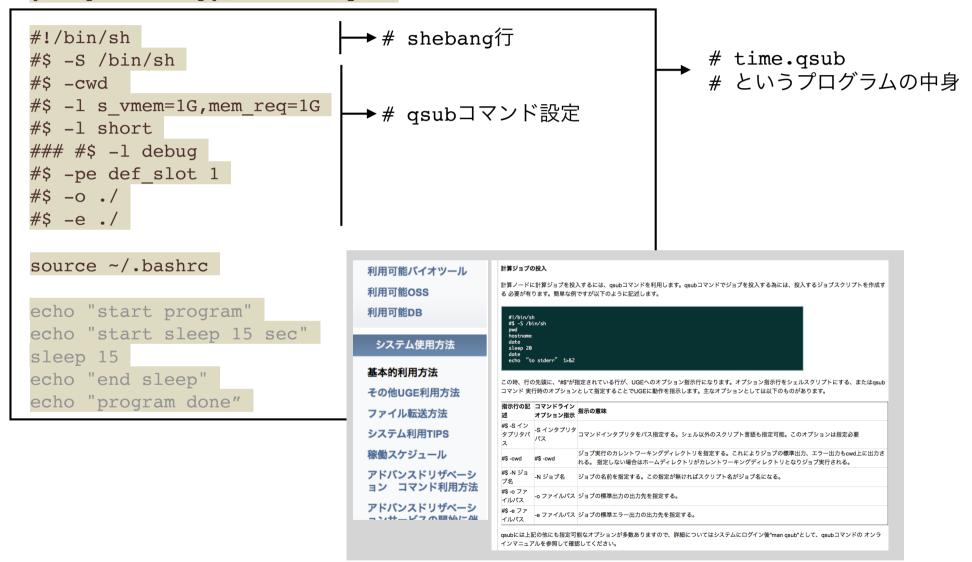




2. キューイングシステムを利用する (5/6)

time.qsub というプログラムの中身をcatで確認する

[dstep@nt096 tmp]\$ cat time.qsub



NIG スパコンのシステム使用方法のあたりに詳しく書いてあります。







2. キューイングシステムを利用する (6/6)

ここまでで、

適切にログインし、 UGEキューイングシステム(qsubコマンドなど)を使って、 計算機を利用できるようになりました。





3. 欲しいデータを取得する

大型計算機によるゲノム解析の特徴の一つは、事前に大量の生物学データを自分の計算機環境にアップロードする必要があることです。そのような生物学データは多くの場合、既存の配列データベースに登録されているものや利用者自身が取得したNGS等による配列データでしょう。NIGの大型計算機では、主要な生物学データベースがすでに相当数整備され、常時アップデートされています。これらのデータベースの利用方法を学びましょう。またNIGの大型計算機に整備されていないデータベースについてはご自身で最新のデータをダウンロードしてこなくてはなりません。そのために必要な知識としてftp, wgetなどのコマンドの利用方法を学びましょう。

- 3-1. NIGのスパコンにすでに整備してあるデータベースを利用する
- 3-2. その他のゲノムの基礎データの登録サイト
- 3-2. DRAから取得





NIGのスパコンにすでに整備してあるデータベースを利用する



スーパーコンピュータシステム 利用可能DB

スーパーコンピュータシステムでは、各計算ノード、各口グインノードから各種バイオ系DBが利用可能です。

1.DDBJ,NCBI,EBI等の公共DBを利用したい場合

スーパーコンピュータシステムにて利用可能なDBおよびパスは利用可能DB一覧をご覧下さい。

2.DRAを含むその他のDDBJ DBを利用したい場合

上記利用可能DB以外のDDBJ DBについては下記方法にてデータをコピーしてご利用下さい。

利用可能DB一覧

DB名	パス (/usr/local/seq/)		設置されているファイルの詳細			
DDBJ- unified-all	- fasta/	ddbj-unified-	- ftp://ftp.ddbj.nig.ac.jp/ddbj_database/ddbjnew/unified-all/fasta/以下を解凍 したFASTA形式ファイル	毎日		
urillied-all	blast/	alli	ftp://ftp.ddbj.nig.ac.jp/ddbj_database/ddbjnew/unified-all/blastdb/以下を解凍したBLASTデータベース			
	-		-			
DDBJ- unified-	fasta/	ddbj-unified- new/	ftp://ftp.ddbj.nig.ac.jp/ddbj_database/ddbjnew/unified-new/fasta/以下を解 凍したFASTA形式ファイル	毎日		
new	blast/	I IGW/	ftp://ftp.ddbj.nig.ac.jp/ddbj_database/ddbjnew/unified-new/blastdb/以下を解凍したBLASTデータベース			
	flat/		ftp://ftp.ncbi.nih.gov/genbank/以下の*.seqファイル、およびWGSファイル	Dent		
GenBank	fasta/	genbank/	上記のFASTA形式ファイル	随時		
	blast/		上記FASTA形式ファイルのBLASTデータベース			
	flat/		ftp://ftp.ncbi.nih.gov/genbank/daily-nc/以下の全ファイル			
GenBank- UPD	fasta/	genbank-upd/	上記ファイルの内*.flatのFASTA形式ファイル	毎日		
	blast/		上記FASTA形式ファイルのBLASTデータベース			
	-		-			
GenPept	fasta/	genpept/	GenBankのseqファイル内の翻訳可能なエントリを翻訳したFASTA形式 ファイル	随時		
	blast/		上記FASTA形式ファイルのBLASTデータベース			
GenPept- UPD	-		-			
	fasta/	genpept-upd/	GenBank-UPDの*.flatファイル内の翻訳可能なエントリを翻訳した FASTA形式ファイル	毎日		
	blast/		上記FASTA形式ファイルのBLASTデータベース			





NIGのスパコンにすでに整備してあるデータベースを利用する

```
[dstep@nt098 dstep20180126] $ ls /usr/local/seq/
blast chemicaldb entity fasta flat igenome old
                                                     taxonomy work
[dstep@nt098 dstep20180126]$ ls /usr/local/seg/blast
ddbj-unified-all embl
                                                     ncbi
                                                             refseq-upd
                           genbank
                                        genpept
ddbj-unified-new embl-upd genbank-upd genpept-upd refseg uniprot
[dstep@nt098 dstep20180126]$ ls
hemoglobin b.fa
DRR016430.fastg README.md time.gsub time.sh
[dstep@nt098 dstep20180126]$ cat hemoglobin b.fa
>NP 000509.1 hemoglobin subunit beta [Homo sapiens]
MVHLTPEEKSAVTALWGKVNVDEVGGEALGRLLVVYPWTORFFESFGDLSTPDAVMGNPKVKAHGKKVLG
AFSDGLAHLDNLKGTFATLSELHCDKLHVDPENFRLLGNVLVCVLAHHFGKEFTPPVOAAYOKVVAGVAN
ALAHKYH
# blastp -query hemoglobin b.fa
        -db /usr/local/seg/blast/uniprot/swissprot
        -num alignments 1
        -outfmt 6
[dstep@nt098 dstep20180126]$ blastp -query hemoglobin b.fa -db /usr/local/seq/blast/
uniprot/swissprot -num alignments 1 -outfmt 6
NP 000509.1 sp|P68873|HBB PANTR100.00014700114711473.25e-104301
```

3-3. その他のゲノムの基礎データの登録サイト (オススメいくつか)

https://asia.ensembl.org/index.html



https://phytozome.jgi.doe.gov/pz/portal.html



https://gold.jgi.doe.gov/



http://www.genome.jp/kegg/catalog/org_list.html



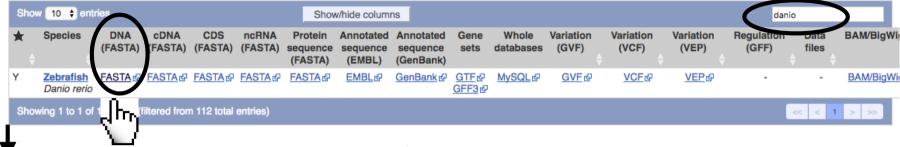




3. 欲しいデータを取得する (ftp経由) (4/14)

EnsemblからcDNAファイルを取得する方法を試しましょう https://asia.ensembl.org/info/data/ftp/index.html





/pub/release-91/fasta/danio_rerio/dna/ のインデックス



今回は

Danio_rerio.GRCz10.dna.chromosome.9.fa.gz だけをダウンロード



Danio rerio /ゼブラフィッシュ

Click!!







Ensemblからanonymous FTPで、cDNAファイルを取得する方法を試しましょう

```
ftp://ftp.ensembl.org/pub/release-91/fasta/drosophila_melanogaster/cdna/ の一覧

金前 上位のディレクトリーへ移動

名前 サイズ 最終更新日時

CHECKSUMS 1 KB 2017/11/29 13:33:00 JST

Drosophila_melanogaster.BDGP6.cdna.all.fa.gz 16973 KB 2017/11/20 23:37:00 JST

README 3 KB 2017/11/20 23:37:00 JST
```

[dstep@nt093 dat]\$ ftp -i ftp.ensembl.org

```
Name (ftp.ensembl.org:dstep): anonymous
331 Please specify the password.
Password: <your-email-address>
230 Login successful.
Remote system type is UNIX.
Using binary mode to transfer files.
ftp> cd pub/release-91/fasta/drosophila melanogaster/cdna
ftp> 1s
227 Entering Passive Mode (193,62,193,8,246,104)
150 Here comes the directory listing.
              1 ftp
                                        76 Nov 29 13:33 CHECKSUMS
-rw-r--r--
                         ftp
              1 ftp
                         ftp
                                  17379879 Nov 20 23:37 Drosophila melanogaster.BDGP6.cdna.all.fa.gz
-rwxrwxr-x
            1 ftp
-rwxrwxr-x
                         ftp
                                      2521 Nov 20 23:37 README
226 Directory send OK.
ftp> get Drosophila melanogaster.BDGP6.cdna.all.fa.gz
local: Drosophila melanogaster.BDGP6.cdna.all.fa.gz remote: Drosophila melanogaster.BDGP6.cdna.all.fa.gz
227 Entering Passive Mode (193,62,193,8,94,215)
150 Opening BINARY mode data connection for Drosophila melanogaster.BDGP6.cdna.all.fa.gz (17379879 bytes).
226 Transfer complete.
17379879 bytes received in 5.3 seconds (3.2e+03 Kbytes/s)
ftp> bye
221 Goodbye.
[dstep@nt093 dat]$
```







3. 欲しいデータを取得する (ftp経由) (5/14)

Ensemblからanonymous FTPで、cDNAファイルを取得する方法を試しましょう/pub/release-91/fasta/danio_rerio/dna/ のインデックス

```
1 [親ディレクトリ]
                 名前
                                    サイズ
                                                更新日
 ☐ CHECKSUMS
                                      4.7 kB
                                            2017/11/29 22:32:00
 Danio_rerio.GRCz10.dna.chromosome.1.fa.gz
                                     16.8 MB
                                            2017/11/22 19:14:00
  Danio_rerio.GRCz10.dna.chromosome.10.fa.gz
                                     13.0 MB
                                            2017/11/22 19:14:00
   Danio_rerio.GRCz10.dna.chromosome.11.fa.gz
                                     12.9 MB
                                            2017/11/22 19:14:00
Danio_rerio.GRCz10.dna.chromosome.8.fa.gz
                                            2017/11/22 19:14:00
                                     15.5 MB
  Danio rerio.GRCz10.dna.chromosome.9.fa.gz
                                     16.3 MB
                                            2017/11/22 19:14:00
                                            2017/11/22 10:14:00
                   [dstep@nt093 dat]$ ftp -i ftp.ensembl.org
                   Name (ftp.ensembl.org:dstep): anonymous
                   331 Please specify the password.
                   Password: <vour-email-address>
                   230 Login successful.
                   ftp> cd pub/release-91/fasta/danio rerio/dna
                   ftp> 1s
                   227 Entering Passive Mode (193,62,193,8,246,104)
                   150 Here comes the directory listing.
                                                                 76 Nov 29 13:33 CHECKSUMS
                   -rw-r--r--
                                   1 ftp
                                                ftp
                                   1 ftp
                                                          17379879 Nov 20 23:37 Danio rerio.GRCz10.dna.chromosome.9.fa.gz
                                                ftp
                   -rwxrwxr-x
                                   1 ftp
                   -rwxrwxr-x
                                                ftp
                                                               2521 Nov 20 23:37 README
                   226 Directory send OK.
                   ftp> get Drosophila melanogaster.BDGP6.cdna.all.fa.gz
                   local: Drosophila melanogaster.BDGP6.cdna.all.fa.gz remote: Drosophila melanogaster.BDGP6.cdna.all.fa.gz
                   227 Entering Passive Mode (193,62,193,8,94,215)
                   150 Opening BINARY mode data connection for Drosophila melanogaster.BDGP6.cdna.all.fa.gz (17379879 bytes).
                   226 Transfer complete.
                   17379879 bytes received in 5.3 seconds (3.2e+03 Kbytes/s)
                   221 Goodbye.
                   [dstep@nt093 dat]$
```







3. 欲しいデータを取得する (ftp経由) (6/14)

```
ftp> bye
221 Goodbye.
[dstep@nt093 dat]$

[dstep@nt093 dat]$ ls

DRR016430.fastq Danio_rerio.GRCz10.dna.chromosome.9.fa.gz

[dstep@nt093 dat]$ gunzip Danio_rerio.GRCz10.dna.chromosome.9.fa
[dstep@nt093 dat]$ ls

Danio_rerio.GRCz10.dna.chromosome.9.fa
```

今回は拡張子が *.gzだったので、gunzipで解凍しました。 拡張子が*bz2だった場合は、bunzip2で解凍しましょう





