

# How to use NCBI BLAST tool in windows





















## I. According your system, download appropriate version of BLAST.

### A. Download (version)-win64.exe

### B. Download link:

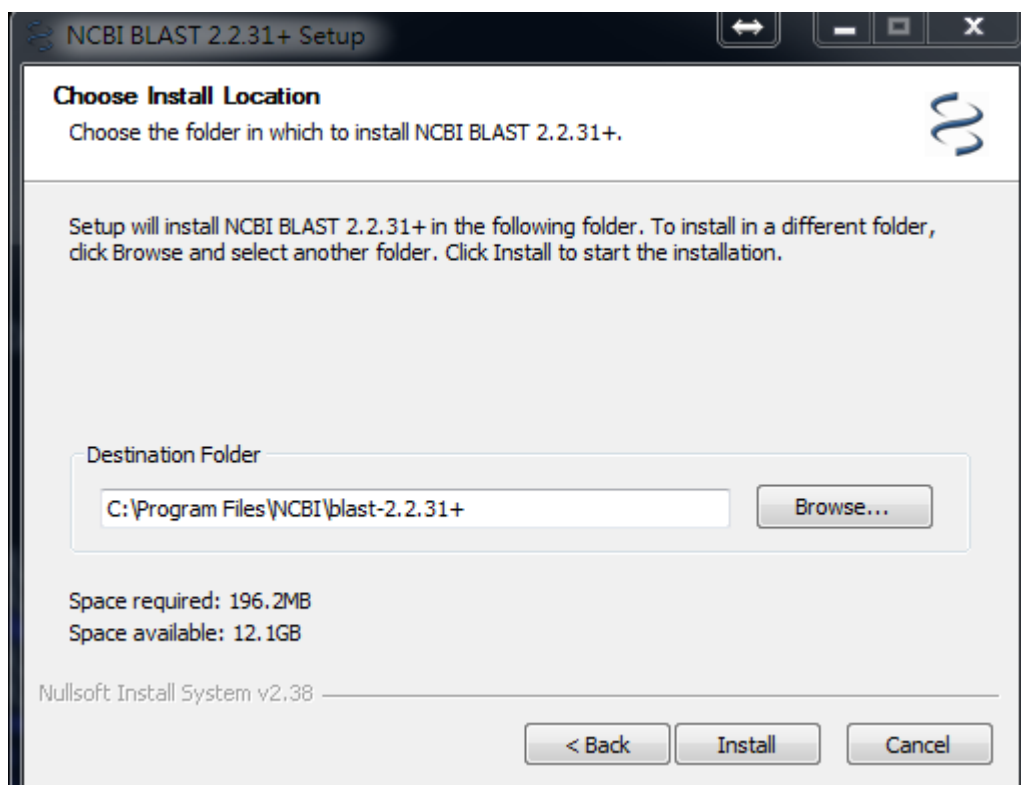
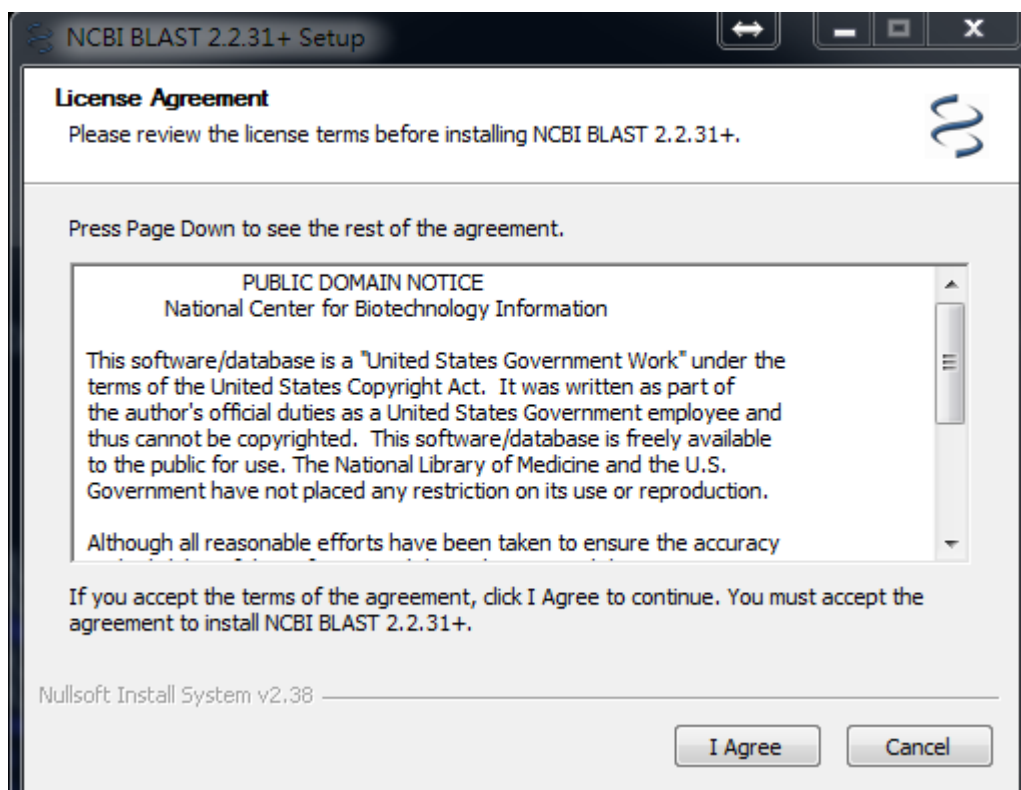
<ftp://ftp.ncbi.nlm.nih.gov/blast/executables/blast+/2.2.31/>

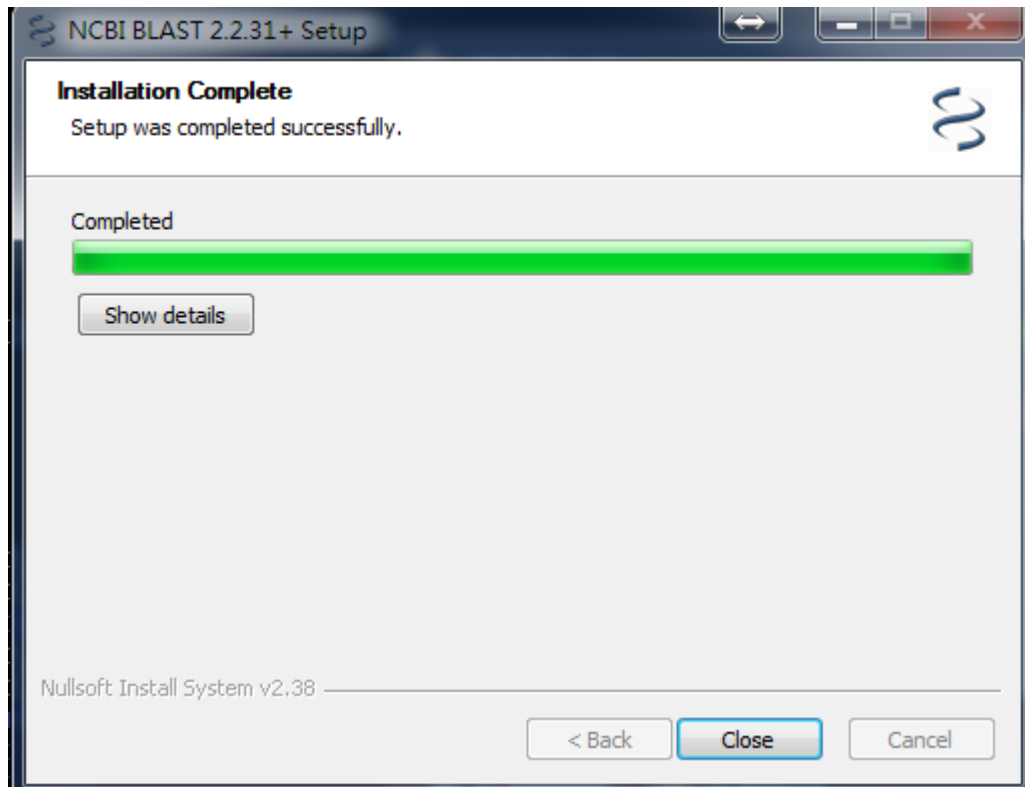
## /blast/executables/blast+/LATEST 的索引

名稱	大小	已修改日期
 [父目錄]		
 ChangeLog	85 B	2015/12/21 下午8:27:00
 ncbi-blast-2.3.0+-1.src.rpm	14.6 MB	2015/12/21 下午8:27:00
 ncbi-blast-2.3.0+-1.src.rpm.md5	62 B	2015/12/21 下午8:27:00
 ncbi-blast-2.3.0+-1.x86_64.rpm	138 MB	2015/12/21 下午8:28:00
 ncbi-blast-2.3.0+-1.x86_64.rpm.md5	65 B	2015/12/21 下午8:28:00
 ncbi-blast-2.3.0+-src.tar.gz	18.3 MB	2015/12/21 下午8:28:00
 ncbi-blast-2.3.0+-src.tar.gz.md5	63 B	2015/12/21 下午8:28:00
 ncbi-blast-2.3.0+-src.zip	21.6 MB	2015/12/21 下午8:28:00
 ncbi-blast-2.3.0+-src.zip.md5	60 B	2015/12/21 下午8:28:00
 ncbi-blast-2.3.0+-universal-macosx.tar.gz	219 MB	2015/12/21 下午8:28:00
 ncbi-blast-2.3.0+-universal-macosx.tar.gz.md5	76 B	2015/12/21 下午8:28:00
 ncbi-blast-2.3.0+-win64.exe	75.4 MB	2015/12/21 下午8:29:00
 ncbi-blast-2.3.0+-win64.exe.md5	62 B	2015/12/21 下午8:29:00
 ncbi-blast-2.3.0+-x64-linux.tar.gz	172 MB	2015/12/21 下午8:29:00
 ncbi-blast-2.3.0+-x64-linux.tar.gz.md5	69 B	2015/12/21 下午8:29:00
 ncbi-blast-2.3.0+-x64-win64.tar.gz	75.2 MB	2015/12/21 下午8:29:00
 ncbi-blast-2.3.0+-x64-win64.tar.gz.md5	69 B	2015/12/21 下午8:29:00
 ncbi-blast-2.3.0+.dmg	220 MB	2015/12/21 下午8:30:00
 ncbi-blast-2.3.0+.dmg.md5	56 B	2015/12/21 下午8:30:00

## II. Install

### A. Execute the install file and click “agree”, “install”, close”





### III. Before use

#### A. Download blast database and prepare your input (fasta format)

##### 1. Database download:

a. Link:

b. Use winrar or winzip to unzip the database

##### 2. Test file

a. Peptide

b. transcript

#### B. Put your blast database and your input file in NCBI blast installed file (default: C:\Program Files\NCBI\blast-2.2.31+\bin)

Note: If you are not "Administrator", you can skip this step.

However, you must know the file path of your database and input file for executing BLAST.









































**Before:**

電腦 > 系統保留 (C:) > Program Files > NCBI > blast-2.2.31+ > bin

加入至媒體櫃 共用對象 燒錄 新增資料夾

名稱	修改日期	類型	大小
blast_formatter.exe	2015/6/2 下午 10...	應用程式	12,456 KB
blastdb_aliastool.exe	2015/6/2 下午 10...	應用程式	5,098 KB
blastdbcheck.exe	2015/6/2 下午 10...	應用程式	6,921 KB
blastdbcmd.exe	2015/6/2 下午 10...	應用程式	8,316 KB
blastn.exe	2015/6/2 下午 10...	應用程式	12,666 KB
blastp.exe	2015/6/2 下午 10...	應用程式	12,659 KB
blastx.exe	2015/6/2 下午 10...	應用程式	12,665 KB
convert2blastmask.exe	2015/6/2 下午 10...	應用程式	6,962 KB
deltablast.exe	2015/6/2 下午 10...	應用程式	12,895 KB
dustmasker.exe	2015/6/2 下午 10...	應用程式	7,401 KB
legacy_blast.pl	2015/6/2 下午 10...	PL 檔案	51 KB
makeblastdb.exe	2015/6/2 下午 10...	應用程式	8,091 KB
makembindex.exe	2015/6/2 下午 10...	應用程式	7,610 KB
makeprofiledb.exe	2015/6/2 下午 10...	應用程式	6,440 KB
psiblast.exe	2015/6/2 下午 10...	應用程式	12,862 KB
rpsblast.exe	2015/6/2 下午 10...	應用程式	12,676 KB
rpstblastn.exe	2015/6/2 下午 10...	應用程式	12,667 KB
segmasker.exe	2015/6/2 下午 10...	應用程式	7,596 KB
tblastn.exe	2015/6/2 下午 10...	應用程式	12,830 KB
tblastx.exe	2015/6/2 下午 10...	應用程式	12,647 KB
update_blastdb.pl	2015/6/2 下午 10...	PL 檔案	13 KB
windowmasker.exe	2015/6/2 下午 10...	應用程式	9,337 KB

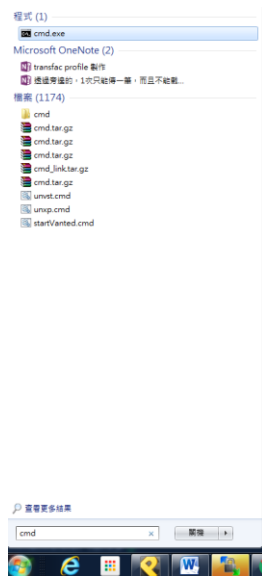
After:

名稱	修改日期	類型	大小
 blast_formatter.exe	2015/6/2 下午 10...	應用程式	12,456 KB
 blastdb_aliastool.exe	2015/6/2 下午 10...	應用程式	5,098 KB
 blastdbcheck.exe	2015/6/2 下午 10...	應用程式	6,921 KB
 blastdbcmd.exe	2015/6/2 下午 10...	應用程式	8,316 KB
 blastn.exe	2015/6/2 下午 10...	應用程式	12,666 KB
 blastp.exe	2015/6/2 下午 10...	應用程式	12,659 KB
 blastx.exe	2015/6/2 下午 10...	應用程式	12,665 KB
 convert2blastmask.exe	2015/6/2 下午 10...	應用程式	6,962 KB
 deltablast.exe	2015/6/2 下午 10...	應用程式	12,895 KB
 dustmasker.exe	2015/6/2 下午 10...	應用程式	7,401 KB
 KEGG_gene.pep.00.phr	2016/4/11 下午 0...	PHR 檔案	158,824 KB
 KEGG_gene.pep.00.pin	2016/4/11 下午 0...	PIN 檔案	16,044 KB
 KEGG_gene.pep.00.psq	2016/4/11 下午 0...	PSQ 檔案	976,563 KB
 KEGG_gene.pep.01.phr	2016/4/11 下午 0...	PHR 檔案	189,681 KB
 KEGG_gene.pep.01.pin	2016/4/11 下午 0...	PIN 檔案	18,644 KB
 KEGG_gene.pep.01.psq	2016/4/11 下午 0...	PSQ 檔案	976,563 KB
 KEGG_gene.pep.02.phr	2016/4/11 下午 0...	PHR 檔案	240,900 KB
 KEGG_gene.pep.02.pin	2016/4/11 下午 0...	PIN 檔案	24,410 KB
 KEGG_gene.pep.02.psq	2016/4/11 下午 0...	PSQ 檔案	976,563 KB
 KEGG_gene.pep.03.phr	2016/4/11 下午 0...	PHR 檔案	252,888 KB
 KEGG_gene.pep.03.pin	2016/4/11 下午 0...	PIN 檔案	25,578 KB
 KEGG_gene.pep.03.psq	2016/4/11 下午 0...	PSQ 檔案	976,563 KB
 KEGG_gene.pep.04.phr	2016/4/11 下午 0...	PHR 檔案	180,660 KB
 KEGG_gene.pep.04.pin	2016/4/11 下午 0...	PIN 檔案	18,327 KB
 KEGG_gene.pep.04.psq	2016/4/11 下午 0...	PSQ 檔案	742,903 KB
 KEGG_gene.pep.pal	2016/4/11 下午 0...	PAL 檔案	1 KB
 legacy_blast.pl	2015/6/2 下午 10...	PL 檔案	51 KB
 makeblastdb.exe	2015/6/2 下午 10...	應用程式	8,091 KB
 makembindex.exe	2015/6/2 下午 10...	應用程式	7,610 KB
 makeprofiledb.exe	2015/6/2 下午 10...	應用程式	6,440 KB
 nucleotide.fa	2016/4/11 下午 0...	FA 檔案	1 KB
 protein.fa	2016/4/11 下午 0...	FA 檔案	1 KB
 psiblast.exe	2015/6/2 下午 10...	應用程式	12,862 KB
 rpsblast.exe	2015/6/2 下午 10...	應用程式	12,676 KB
 rpstblastn.exe	2015/6/2 下午 10...	應用程式	12,667 KB
 segmasker.exe	2015/6/2 下午 10...	應用程式	7,596 KB
 tblastn.exe	2015/6/2 下午 10...	應用程式	12,830 KB
 tblastx.exe	2015/6/2 下午 10...	應用程式	12,647 KB
 update_blastdb.pl	2015/6/2 下午 10...	PL 檔案	13 KB
 windowmasker.exe	2015/6/2 下午 10...	應用程式	9,337 KB

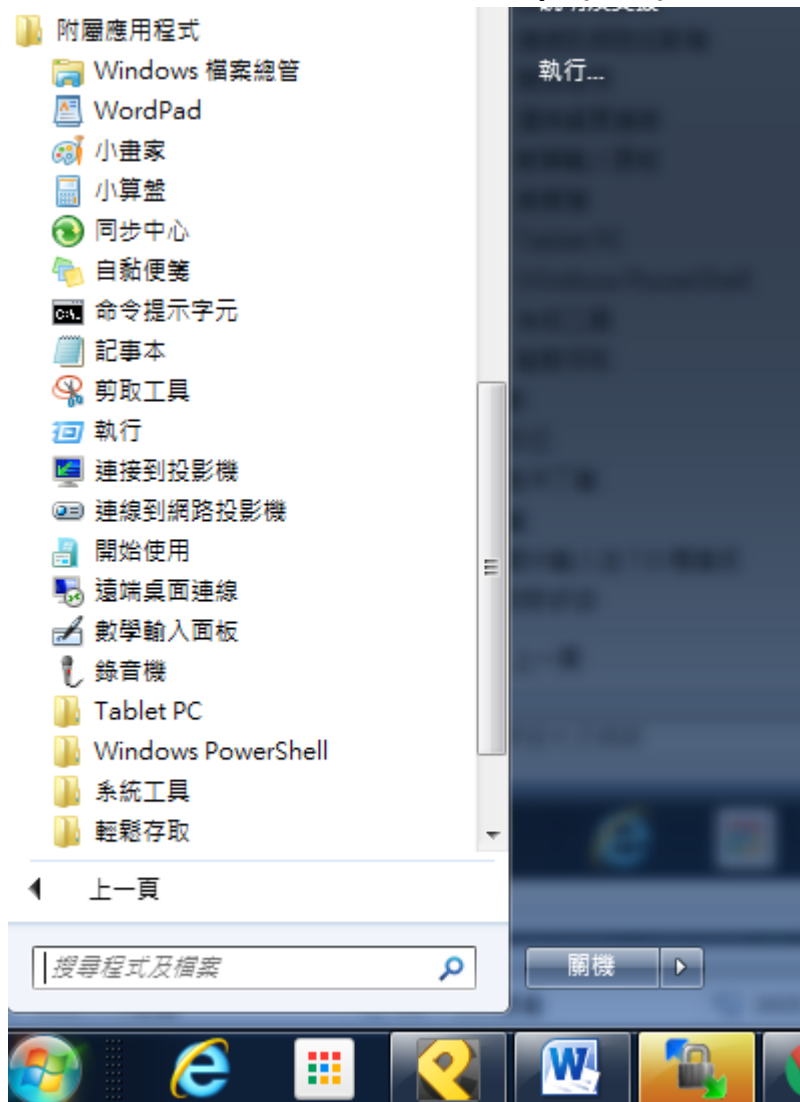
#### IV. How to use?

##### A. Execute “CMD”

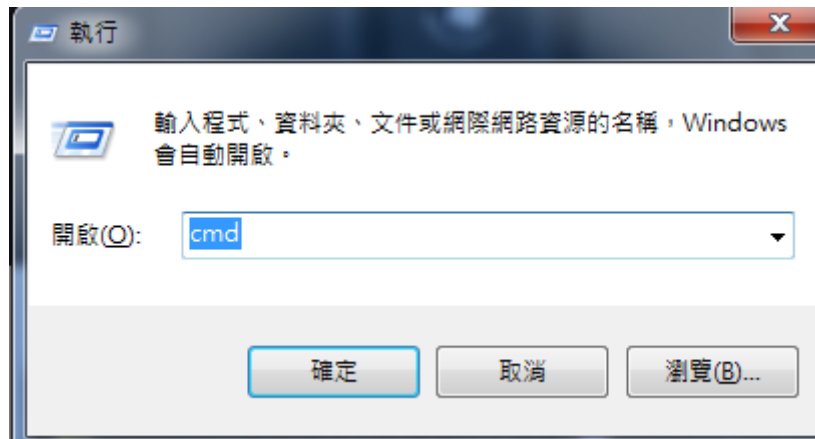
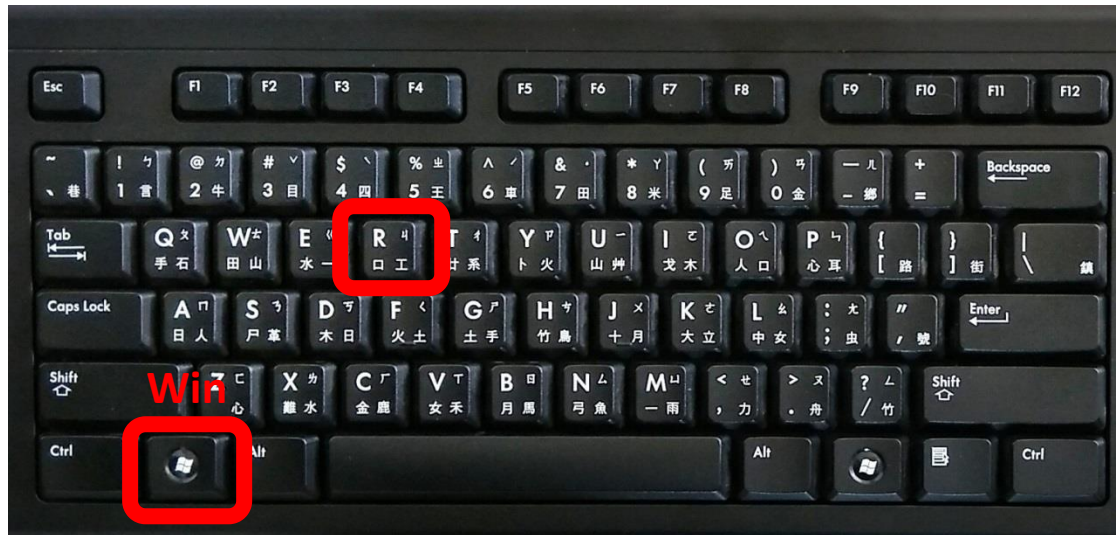
1. From “start taskbar”: Click “start” and type “cmd”. Then execute “cmd.exe.”



2. From “start taskbar”: “start” => “Programs” => “Accessories”.  
Then execute “Command Prompt (cmd)”;

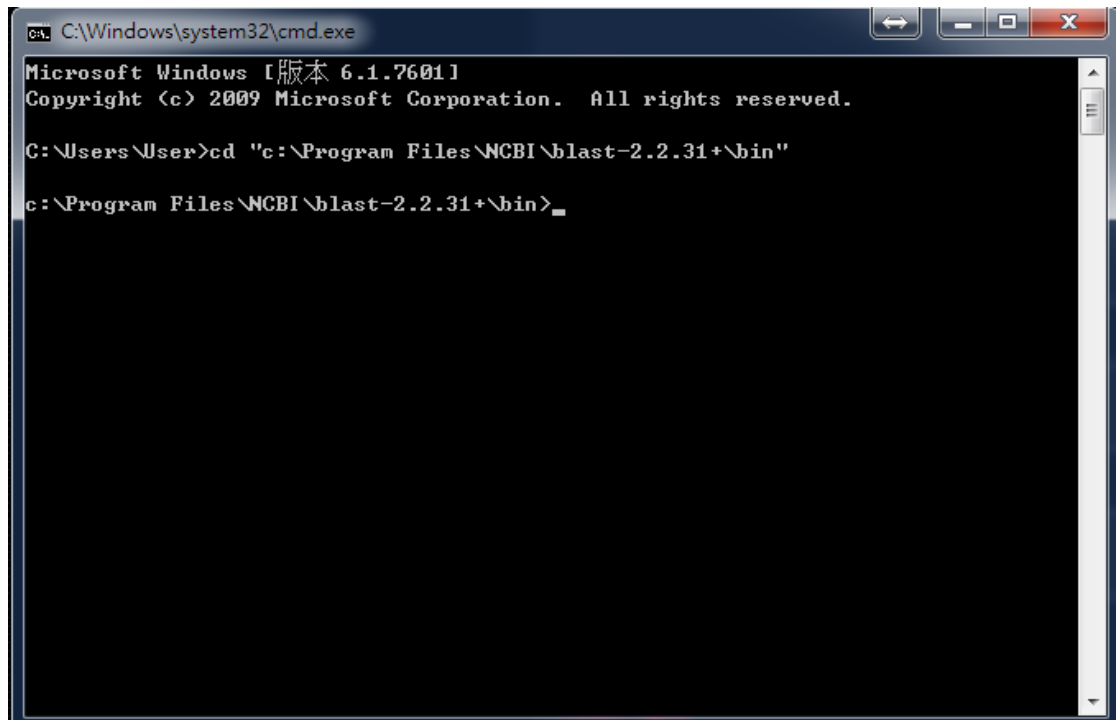


3. Win+R and type “cmd”



## B. Move to NCBI blast installed file

1. Type: " `cd "c:\Program Files\NCBI\blast-2.2.31+\bin"` "



```
C:\Windows\system32\cmd.exe
Microsoft Windows [版本 6.1.7601]
Copyright (c) 2009 Microsoft Corporation. All rights reserved.

C:\Users\User>cd "c:\Program Files\NCBI\blast-2.2.31+bin"
c:\Program Files\NCBI\blast-2.2.31+bin>
```

### C. Execute

#### 1. BLASTp:

- a. "blastp.exe -query (input) -db (database name) -out (output) -evalue (threshold, float) -outfmt (output format, int) -max\_target\_seqs (The max of target, int)
- b. E.g. "blastp.exe -query protein.fa -evalue 0.000001 -outfmt 6 -db KEGG\_gene.pep -out d:/blastp\_output\_test -max\_target\_seqs 1

```
c:\Program Files\NCBI\blast-2.2.31+bin>blastp.exe -query protein.fa -evalue 0.000001 -outfmt 6 -db KEGG_gene.pep -out d:\blastp_output_test
```

#### 2. BLASTx:

- a. "blastx.exe -query (input) -db (database name) -out (output) -evalue (threshold, float) -outfmt (output format, int) -max\_target\_seqs (The max of target, int)
- b. "blastx.exe -query nucleotide.fa -evalue 0.000001 -outfmt 6 -db KEGG\_gene.pep -out d:\blastx\_output\_text -max\_target\_seqs 1

#### 3. Note:

- a. Input of blastx is transcript, cds sequence
- b. Input of Blastp is peptide sequence
- c. Suggest output format: -outfmt 6 (TABLE)
- d. Suggest max target number: -max\_target\_seqs 1 (remain the best hit)



- e. If your system is win7 or above, you may not write the output in the NCBI blast installed file. Hence, you may write the output in other directory or execute “cmd” with administrator to solve this problem.
- f. If you put the input file and database in other directory, you need type the relative path in your command.
- g. E.g.

```
c:\Program Files\NCBI\blast-2.2.31+bin>blastx.exe -query "c:\Users\User\Desktop\input.fa" -out "c:\Users\User\Desktop\output" -evalue 0.000001 -outfmt 6 -db "c:\Users\User\Desktop\DB"
```

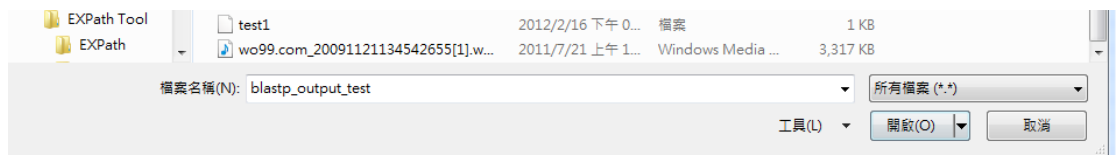
D. Note: Please go to NCBI to view more detail parameter/

1. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK279690/>

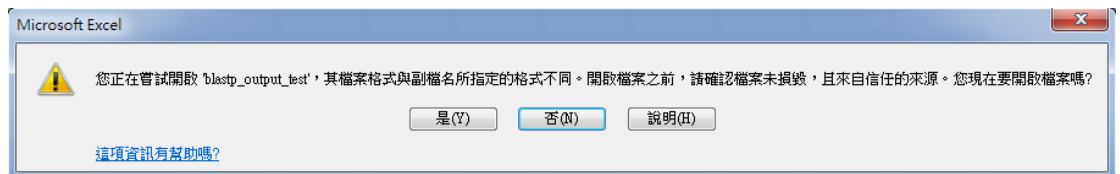
## V. Upload the BLAST results

### A. Import the result into EXCEL

1. Execute EXCEL
2. Open -> File extension -> select “All files (\*.\*)” -> select the output file -> Open



3. Click “Yes” to continue opening



4. Click “Next”, “Next”, “finish”

**匯入字串精靈 - 步驟 3 之 1**

資料剖析精靈判定資料類型為 分隔符號。

若一切設定無誤，請選取 [下一步]，或選取適當的資料類別。

原始資料類型

請選擇最適合剖析您的資料的檔案類型：

☒ 分隔符號(D) — 用分欄字元，如逗號或 TAB 鍵，區分每一個欄位。

☐ 固定寬度(W) — 每個欄位固定，欄位間以空格區分。

起始列號(R):  檔案原始格式(O):

預覽檔案 D:\blastp\_output\_test2。

1	protein_test vcn:VOLCADRAFT_103468 100.00 264 0 0 1 264 1 264 0.0 531
2	
3	
4	

取消 < 上一步(B) 下一步(N) > 完成(F)

**匯入字串精靈 - 步驟 3 之 2**

您可在畫面中選擇輸入資料中所包含的分隔符號，您可在預覽視窗內看到分欄的結果。

分隔符號

☒ Tab 鍵(T)

☐ 分號(M)

☐ 逗點(C)

☐ 空格(S)

☐ 其他(O):

☐ 連續分隔符號視為單一處理(R)

文字辨識符號(Q):

預覽分欄結果(P)

protein_test	vcn:VOLCADRAFT_103468	100.00	264	0	0	1	264	1	264	0.0	531
--------------	-----------------------	--------	-----	---	---	---	-----	---	-----	-----	-----

取消 < 上一步(B) 下一步(N) > 完成(F)

匯入字串精靈 - 步驟 3 之 3

請在此畫面選擇欲使用的欄位，並設定其資料格式。

欄位的資料格式

☒ 一般(G)  
☐ 文字(T)  
☐ 日期(D): YMD  
☐ 不匯入此欄(I)

「一般」資料格式會使得數值被轉成數字格式，日期值被轉成日期欄格式，其餘資料則被轉成文字格式。

進階(A)...

預覽分欄結果(P)

一般	一般	一般	一般	一般	一般	一般	一般	一般	一般	一般	一般
protein_test	vcn:VOLCADRAFT_103468	100.00	264	0	0	1	264	1	264	0.0	531

取消 < 上一步(B) 下一步(N) > 完成(F)

## 5. Remain the first and second column and add column name

### Before

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N
1	protein_test	vcn:VOLC	100	264	0	0	1	264	1	264	0	531		
2														

### After

	A	B
1	Transcript_name	KEGG_Gene_ID
2	protein_test	vcn:VOLCADRAFT_103468
3		

## 6. Save the file as txt file (Separated with tab)

檔案名稱(N): blastp\_output\_test.txt

存檔類型(T): 文字檔 (Tab 字元分隔) (\*.txt)

隱藏資料夾 工具(I) 儲存(S) 取消

## 7. Upload the result in EXpath tool

### a. The format of "annotation file – pathway" is KEGG gene