## 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
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"

😪 NCBI BLAST 2.2.31+ Setup
License Agreement Please review the license terms before installing NCBI BLAST 2.2.31+.
Press Page Down to see the rest of the agreement.
PUBLIC DOMAIN NOTICE National Center for Biotechnology Information
This software/database is a "United States Government Work" under the terms of the United States Copyright Act. It was written as part of the author's official duties as a United States Government employee and thus cannot be copyrighted. This software/database is freely available to the public for use. The National Library of Medicine and the U.S. Government have not placed any restriction on its use or reproduction.
Although all reasonable efforts have been taken to ensure the accuracy -
If you accept the terms of the agreement, click I Agree to continue. You must accept the agreement to install NCBI BLAST 2.2.31+.
Nullsoft Install System v2,38
I Agree Cancel

😂 NCBI BLAST 2.2.31+ Setup	<b>– – ×</b>
Choose Install Location Choose the folder in which to install NCBI BLAST 2.2.31+.	S
Setup will install NCBI BLAST 2.2.31+ in the following folder. To install in a di click Browse and select another folder. Click Install to start the installation.	ifferent folder,
Destination Folder	<b>P</b>
C: Program Files WCBI plast-2.2.31+	Browse
Space required: 196.2MB Space available: 12.1GB Nullsoft Install System v2.38	

S NCBI BLAST 2.2.31+ Setup	
Installation Complete Setup was completed successfully.	S
Completed	
Show details	
Nullsoft Install System v2,38	Back Close Cancel

### 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 🖡 b	last-2.2.31+ 🕨 bin	<b>▼</b> 4	➔ 搜尋 bin	
▼ 加入至媒體櫃 ▼	,	共用對象 ▼ 燒錄 新增資	料夾			:
y Documents	*	名稱 ^	修改日期	類型	大小	
etHood		S blast formatter.exe	2015/6/2 下午 10	應用程式	12.456 KB	
neDrive		& blastdb aliastool eve	2015/6/2 下午 10	雁田程式	5 098 KB	
ntHood		& blastdbcheck exe	2015/6/2 下午 10	應用程式	6 921 KB	
cent		& blastdbcmd exe	2015/6/2 下午 10	應用程式	8 316 KB	
ndTo		8 blastn.exe	2015/6/2 下午 10	應用程式	12.666 KB	
mplates		& blastp.exe	2015/6/2 下午 10	應用程式	12,659 KB	
acing		S blastx.exe	2015/6/2 下午 10	應用程式	12,665 KB	
載		😂 convert2blastmask.exe	2015/6/2 下午 10	應用程式	6,962 KB	
的文件	_	S deltablast.exe	2015/6/2 下午 10	應用程式	12,895 KB	
的文件		S dustmasker.exe	2015/6/2 下午 10	應用程式	7,401 KB	
的音樂		legacy_blast.pl	2015/6/2 下午 10	PL 檔案	51 KB	
的最愛		S makeblastdb.exe	2015/6/2 下午 10	應用程式	8,091 KB	
的圖片		S makembindex.exe	2015/6/2 下午 10	應用程式	7,610 KB	
的網站		S makeprofiledb.exe	2015/6/2 下午 10	應用程式	6,440 KB	
的影片		S psiblast.exe	2015/6/2 下午 10	應用程式	12,862 KB	
結		S rpsblast.exe	2015/6/2 下午 10	應用程式	12,676 KB	
絡人	Ξ	S 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	
存的游戲		😪 tblastn.exe	2015/6/2 下午 10	應用程式	12,830 KB	
		S 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	
4		😣 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
S blast_formatter.exe	2015/6/2 下午 10	應用程式	12,456 KB
S blastdb_aliastool.exe	2015/6/2 下午 10	應用程式	5,098 KB
S blastdbcheck.exe	2015/6/2 下午 10	應用程式	6,921 KB
S blastdbcmd.exe	2015/6/2 下午 10	應用程式	8,316 KB
S blastn.exe	2015/6/2 下午 10	應用程式	12,666 KB
S blastp.exe	2015/6/2 下午 10	應用程式	12,659 KB
S blastx.exe	2015/6/2 下午 10	應用程式	12,665 KB
S 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
S 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
S 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
S rpsblast.exe	2015/6/2 下午 10	應用程式	12,676 KB
S rpstblastn.exe	2015/6/2 下午 10	應用程式	12,667 KB
S segmasker.exe	2015/6/2 下午 10	應用程式	7,596 KB
S tblastn.exe	2015/6/2 下午 10	應用程式	12,830 KB
S 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."

程式 (1)
m cmd.exe
Microsoft OneNote (2)
🛐 transfac profile 製作
🕼 逶缓旁邊的,1次只能傳一筆,而且不能戰
檑寨 (1174)
🕌 cmd
acmd.tar.gz
acmd.tar.gz
acmd.tar.gz
cmd_link.tar.gz
emd.tar.gz
S unvst.cmd
start/anted.cmd
◎ 查看要多结果
F == 10.00 (10.000)
cmd × 開機 +
🥶 🗢 😬 📉 🔤 🗾

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



3. Win+R and type "cmd"



四 執行
輸入程式、資料夾、文件或網際網路資源的名稱, Windows 會自動開啟。
開啟( <u>O</u> ):
確定 取消 瀏覽( <u>B</u> )

- B. Move to NCBI blast installed file
  - 1. Type: " cd "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 0.0
00001 -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
    - Open -> File extension -> select "All files (\*.\*)" -> select the output file -> Open

🕌 EXPath Tool	- to	est1 vo99.com_20091121134542655[1].w	2012/2/16 下午 0 2011/7/21 上午 1	檔案 Windows Media	1 K 3,317 K	CB
	檔案名稱(N):	blastp_output_test			•	所有檔案 (*.*) ▼
				工具(L	.) 🔻	開啟(O) ▼ 取消

3. Click "Yes" to continue opening

然正在嘗試開設 blastp_output_test',其檔案格式與副檔名所指定的格式不同。開設檔案之前,請確認檔案未損毀,且來自信任的來源。您現在	生要開啟檔案嗎?
是(Y) 否(N) 說明(H)	
這項資訊有幫助嗎?	

4. Click "Next", "Next", "finish"

匯入字串精靈 - 步驟 3 之 1	200 0		32 25	? ×
資料剖析精靈判定資料類型 若一切設定無誤,諸選取[ 原始資料類型	!為 分隔符號。 下一步] ,或攫取適當的資	料類別。		
請選擇最適合剖析您的資 ◎ 分隔符號(四) 一) ◎ 固定寬度(型) 一	料的檔案類型: 用分欄字元,如逗號或 TA 每個欄位固定,欄位間以3	B 键,匾分每一個欄位 E格區分。	[•	
起始列號( <u>R</u> ): 1	🛃 檔案原始格式(0):	950 : 繁體中文 (Big	5)	•
預覽檔案 D:\blastp_output_	_test2 °			
1 protein_test vcn:VOI 2 3 4 ∢	CADRAFT_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E
□ 匯入字串精靈 - 步驟 3 之 2	20 0		52 256	? X
■ 運入字串精靈 - 步驟 3 之 2 您可在此畫面中選擇輸入資	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。	? ×
匯入字串精靈 - 步驟 3 之 2 您可在此畫面中選擇輸入資 分隔符號 ☑ Tab 鍵(T)	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。	? x
<ul> <li>匯入字串精靈 - 步驟 3 之 2</li> <li>您可在此畫面中選擇輸入資 分隔符號</li> <li>☑ Tab 鍵(I)</li> <li>☑ 分號(M)</li> </ul>	料中所包含的分隔符號, ] 連續分隔符號視為單一處	您可在預覽視窗內看到 註理(R)	分欄的結果。	? x
<ul> <li>匯入字串精靈 - 步驟 3 之 2</li> <li>您可在此畫面中選擇輸入資 分隔符號</li> <li>⑦ Tab 鍵(I)</li> <li>⑦ 分號(M)</li> <li>② 逗點(C)</li> <li>文</li> <li>○ 葉格(S)</li> <li>○ 其他(Q):</li> </ul>	料中所包含的分隔符號, ] 連續分隔符號視為單一處 (字辨識符號(Q): "	您可在預覽視窗內看到 註理(R)	分欄的結果。	? x
<ul> <li>匯入字串精靈 - 步驟 3 之 2</li> <li>您可在此畫面中選擇輸入資分隔符號</li> <li>⑦ Tab 键(T)</li> <li>⑦ 分號(M)</li> <li>② 逗點(C)</li> <li>② 空格(S)</li> <li>○ 其他(Q):</li> <li>預覽分欄結果(P)</li> </ul>	料中所包含的分隔符號, ] 連續分隔符號視為單一處 :字辨識符號(Q): 『	您可在預覽視窗內看到 冠理(R)	分 <b>欄</b> 的結果。	? X
匯入字串稿靈 - 步驟 3 之 2 您可在此畫面中選擇輸入資 分隔符號 ♥ Tab 键(T) ● 分號(M) ● 逗點(C) ● 空格(S) ● 其他(Q): ● 可otein_test vcn: VOLCA	料中所包含的分隔符號, ] 連續分隔符號視為單一處 (字辨識符號(Q): " DRAFT_103468 100.00 264	您可在預覽視窗內看到 意理(R) ▼	4 1 264 0.0 5	31 ×

匯入字串精靈 - 步驟 3 之 3	200					25	? X
<ul> <li>請在此畫面選擇欲使用的欄位,並</li> <li>欄位的資料格式</li> <li>● 一般(G)</li> <li>● 文字(T)</li> <li>● 日期(D): YMD</li> <li>▼ 不匯入此欄(L)</li> </ul>	設定其資料格 [一般]資 式,其餘資	式。 科格式會 科則被轉	使得數值被 成文字格元 〔	皮轉成數字 ∜。 進階( <u>A</u> )	格式,日	期值被轉/	<b>戊日期欄格</b>
預覽分欄結果(2)							-17
一般之 一般之 protein_test vcn:VOLCADRAFT_1	<u>→ 般</u> 103468 100.00	<u>一般</u> ) 264 0	<u>-股  -股</u>	<u>一般</u> 1 264	<u>一般</u> 1 26	<u>般</u> ──般   4 0.0 5	<u>一股</u> 331 ▲
	(	取消		上一步围	) [下一	步(N) > ]	完成(F)

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

	A	В	С	D	E	F	G	Н	Ι	J	K	L	М	Ν
1	protein_tes	vcn:VOLC	100	264	0	0	1	264	1	264	0	531		
2														

#### After

	А	В
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):	文字權 (Tab 字元分隔) (*.txt) ▼
▲ 陽藏資料夾	工具(L) ▼ 儲存(S) 取消

- 7. Upload the result in EXpath tool
  - a. The format of "annotation file pathway" is KEGG gene