整理分组和BAM输入并跑通一次剪接分析

准备可追溯的BAM分组清单，明确双端、链特异性和读长参数，运行一次rMATS并核对有效读段与事件输出。

rMATS-turbo 处理多个 BAM 时，可以把耗时较长的 prep 按样本拆开运行，最后集中做 post。这样便于把样本分配到不同计算节点，但前提是样本清单、GTF、读长和文库类型一致，并且每个 BAM 的 prep 结果都能被 post 找到。小数据集通常直接使用一次 --task both 更简单；只有确实需要分批或并行时，才拆成多个阶段。

先整理样本和文件清单

按 rMATS 格式准备逗号分隔的 BAM 完整路径清单。分组标签、重复关系与实验设计另存一份表，不能只依赖文件名猜组别。检查每个文件可读、BAM 能通过快速完整性检查，并确认样本与注释版本匹配。prep 运行时记录 rMATS 版本、GTF 校验值、读段类型、读长、文库类型和参数；这些设置在后续合并分析时必须一致。

准备内容	为何需要	容易出错处
BAM 完整路径	prep 结果会记录对应输入路径	post 时改为相对路径或换挂载路径
唯一临时目录	保存每个 BAM 的 .rmats 文件	并发运行产生同名文件冲突
分析参数记录	保证 prep 与 post 解释一致	混用不同 GTF、读长或文库参数

分批运行 prep 并保留结果

将 BAM 清单按节点拆分，每一批使用单独的临时目录。rMATS 官方说明中，prep 可对不同 BAM 子集独立运行，之后汇总 `.rmats` 文件供 post 使用。集群并发量应按每个任务的资源申请和共享存储压力安排，不要把所有样本同时启动后再用登录节点内存判断。

```
set -euo pipefail
: "${RMATS_PY:?set rmats.py path}"
: "${BAM_LIST:?set comma-separated full-path list}"
: "${GTF:?set annotation GTF}"
: "${TMP_PREP:?set unique prep temp directory}"
: "${OUTDIR:?set output directory}"
: "${READ_LENGTH:?set read length}"
: "${THREADS:?set allocated threads}"
test -r "$BAM_LIST" && test -r "$GTF"
test ! -e "$TMP_PREP" && test ! -e "$OUTDIR"
mkdir -p "$TMP_PREP" "$OUTDIR"
python "$RMATS_PY" --b1 "$BAM_LIST" --gtf "$GTF" -t paired \
  --readLength "$READ_LENGTH" --nthread "$THREADS" \
  --od "$OUTDIR" --tmp "$TMP_PREP" --task prep
```

汇总前先核对，不要直接拼文件

所有 prep 成功后，将 `.rmats` 文件复制到一个新建的 post 临时目录。并行 prep 可能生成同名文件，官方提供的 cp_with_prefix.py 可在复制时添加批次前缀。不要用普通复制覆盖同名文件，也不要把旧批次残留文件留在汇总目录。随后用完整的 b1、b2 分组清单运行完整性检查，再运行 post。保留每批日志、临时文件来源、输入清单和复制命令，后续才能追溯某个样本对应哪份 prep 数据。

结果验收至少包括：每个输入 BAM 均有 prep 记录、完整性检查通过、post 正常退出、输出目录包含预期的事件和统计文件。prep 成功并不意味着组间比较已完成；若比较设计、重复关系或文库方向不确定，应先核对实验设计，而不是通过重跑不同参数来试探结果。

分组文件也要和分析设计一致

prep 阶段可以按节点拆分处理批次，但用于统计比较的 b1、b2 应按照真实实验分组另行准备。每个列表写一行逗号分隔的完整 BAM 路径，并留存清单版本；不能把“在哪台机器做 prep”误当作“属于哪一组”。如果是配对设计，还需确认两个列表中的样本顺序能够逐一对应，并按设计决定是否使用配对统计模型。完成 prep 后，先统计每批成功样本数，与原始样本表逐个比对，发现漏样本先补跑，不要直接进入 post。

数据量小时，单次 both 能减少目录交接和路径差错；大批量时分阶段处理更方便调度，但要额外承担结果搬运和清单管理。选择哪种方式应由样本量、集群队列和团队复现能力决定。

参考资料

rMATS-turbo 官方 README：分阶段 prep/post 与完整性检查 · 官方资料

rMATS-turbo 官方参数说明 · 官方资料

samtools quickcheck 官方手册 · 官方资料