

# Introduction à R

Thomas Denecker & Steven Volant

2022-11-15



# Contents

<b>1</b>	<b>Présentation du cours</b>	<b>7</b>
1.1	A propos de du livre . . . . .	7
1.2	Demandez le programme . . . . .	7
1.3	Intervenants . . . . .	7
<b>2</b>	<b>R en quelques mots</b>	<b>9</b>
2.1	Pourquoi ? . . . . .	9
2.2	Comment l’avoir ? . . . . .	9
2.3	Sur quel OS ? . . . . .	9
2.4	Historique . . . . .	9
2.5	R vs Excel . . . . .	10
2.6	Avantages et inconvénients . . . . .	11
2.7	Geeks and repetitive tasks . . . . .	12
2.8	R sait tout faire . . . . .	12
<b>3</b>	<b>Comment utiliser R ?</b>	<b>15</b>
3.1	Modes d’utilisation (liste non exhaustive) . . . . .	15
3.2	Ouverture ou connexion à RStudio . . . . .	15
3.3	RStudio . . . . .	16
<b>4</b>	<b>Premiers pas</b>	<b>19</b>
4.1	R sait tout faire : il compte ! . . . . .	19
4.2	Notion de variable/objet . . . . .	20

<b>5</b>	<b>Import de données</b>	<b>23</b>
5.1	Version “Avec les boutons” . . . . .	23
5.2	The “R geek” way (V2, directement depuis Rstudio) . . . . .	27
5.3	The “bash geek” way (V3, directement de votre home du cluster) . . . . .	30
5.4	Actualisation du dossier . . . . .	33
<b>6</b>	<b>Lecture des données</b>	<b>35</b>
6.1	Chargement des données (dans la mémoire de R) . . . . .	35
6.2	Affichage de l’objet “exprs” . . . . .	36
6.3	Caractéristiques d’un tableau de données . . . . .	39
<b>7</b>	<b>Manipuler les données dans R</b>	<b>43</b>
7.1	Sélection de colonnes d’un tableau . . . . .	43
7.2	Sélection de lignes d’un tableau . . . . .	46
7.3	formulation plus intuitive . . . . .	47
<b>8</b>	<b>Visualisation des données</b>	<b>49</b>
8.1	Histogrammes . . . . .	49
8.2	Boîtes à moustaches (boxplots) . . . . .	52
8.3	Nuage de points . . . . .	58
<b>9</b>	<b>Analyse d’expression différentielle : MA-plot</b>	<b>61</b>
9.1	C’est quoi un MA plot . . . . .	61
9.2	Calculs sur les colonnes . . . . .	62
9.3	MA-plot : log2FC vs intensité . . . . .	64
9.4	Appliquer une fonction sur les lignes/colonnes . . . . .	65
<b>10</b>	<b>Intégration des données</b>	<b>71</b>
10.1	Charger les annotations des gènes . . . . .	71
10.2	Combien ? . . . . .	75
10.3	Ma première bioinformatique intégrative . . . . .	76
10.4	Visualisation . . . . .	77

<i>CONTENTS</i>	5
<b>11 Bonus</b>	<b>79</b>
11.1 R de base . . . . .	79
11.2 ggplot2 . . . . .	80
11.3 Plotly . . . . .	81
11.4 echarts . . . . .	82
<b>12 Conclusion</b>	<b>83</b>
12.1 Take home messages . . . . .	83
12.2 Ressources IFB . . . . .	83
12.3 Resource . . . . .	84



# Chapter 1

## Présentation du cours

Bienvenues dans le cour Introduction à R de l'EBAIL ! Pour accompagner ce cours, Thomas Denecker et Steven Volant vous proposent ce livre. C'est une grande première alors n'hésitez pas à nous faire des retours.

### 1.1 A propos de du livre

L'objectif de ce livre est d'accompagner les apprenants de l'école EBAIL.

### 1.2 Demandez le programme

Debut	Fin	Durée	Lieu
8:30	10:15	01:45	HDF

### 1.3 Intervenants

- Thomas Denecker – [thomas.denecker@france-bioinformatique.fr](mailto:thomas.denecker@france-bioinformatique.fr)
- Steven Volant - [steven.volant@pasteur.fr](mailto:steven.volant@pasteur.fr)

La version “slides” a été créée initialement par Hugo Varet – [hugo.varet@pasteur.fr](mailto:hugo.varet@pasteur.fr)





## Chapter 2

# R en quelques mots

### 2.1 Pourquoi ?

Langage de programmation qui permet de : - manipuler des données : importer, transformer, exporter faire des analyses statistiques plus ou moins complexes : description, exploration, modélisation... - créer des (jolies) figures

### 2.2 Comment l'avoir ?

Disponible sur RCRAN

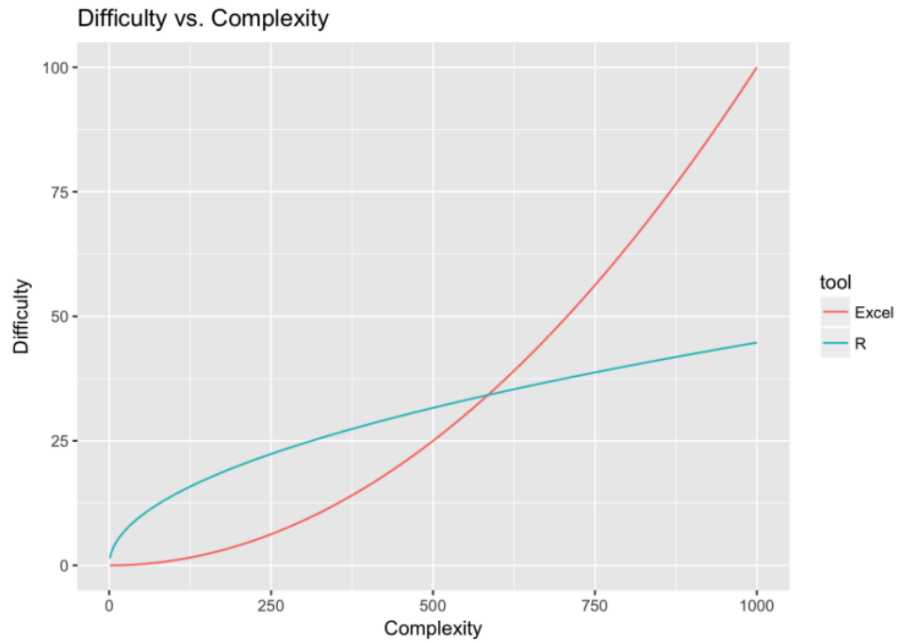
### 2.3 Sur quel OS ?

Tous !

### 2.4 Historique

- 1993 : Début du projet R
- 2000 : sortie de R 1.0.0
- 2022 : R 4.2.2

## 2.5 R vs Excel



Source: R-bloggers

### 2.5.1 Pourquoi plus Excel ?

Un exemple parmi tant d'autres !

## Covid : le Royaume-Uni passe à côté de milliers de cas à cause... d'un fichier Excel arrivé à saturation

Les autorités sanitaires britanniques ont reconnu que près de 16.000 cas de coronavirus en Angleterre sont passés sous le radar au cours de la semaine écoulée à cause d'un problème dans le chargement des données.

[Lire plus tard](#) [Europe](#) [Partager](#) [Commenter](#)



Source Alexandre Counis, Les Echos, 5 oct. 2020

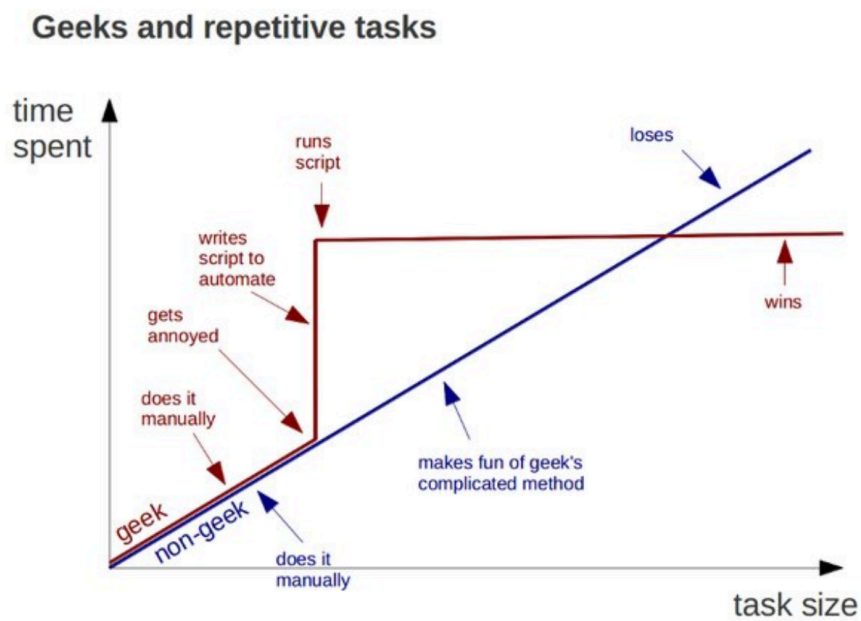
## 2.6 Avantages et inconvénients

### 2.6.1 Avantages

- Souplesse d'utilisation pour réaliser des analyses statistiques
- Libre et gratuit, même s'il existe maintenant des versions payantes de RStudio (shiny et/ou server)
- Reproductibilité des analyses en écrivant/sauvegardant les commandes R dans des scripts
- Large communauté d'utilisateurs/aide en ligne
- Grand nombre de packages spécifiques

### 2.6.2 Inconvénients

## 2.7 Geeks and repetitive tasks



## 2.8 R sait tout faire

Lire un tableau de données

```
read.table()
```

Fusionner deux tableaux

```
merge()
```

Filtrer des lignes

```
data[data$x > 10]
```

Sélectionner des colonnes

```
data[,c("x","y")]
```

Rechercher une chaîne de caractères

```
grep()
```

Réaliser une ACP

```
prcomp()
```

Calculer une moyenne

```
mean()
```

Additionner deux matrices

```
mat1 + mat2
```

Exporter un tableau de données

```
write.table()
```

Calculer une variance

```
var()
```

Régression linéaire

```
lm()
```

Tracer une courbe

```
plot()
```

Tester une hypothèse

```
t.test()
```

Dessiner un histogramme

```
hist()
```

Convertir des données

```
as.matrix()
```

## Chapter 3

# Comment utiliser R ?

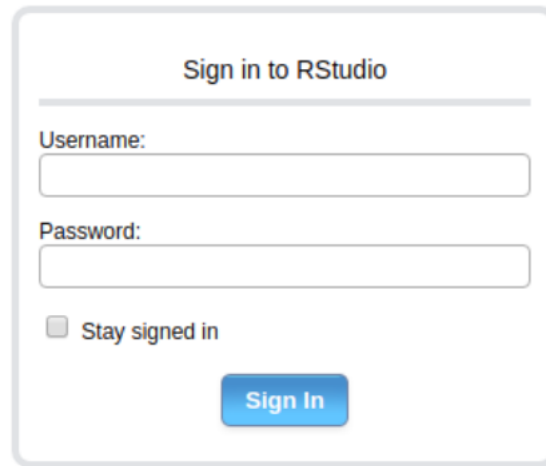
### 3.1 Modes d'utilisation (liste non exhaustive)

- Localement via le terminal
- Localement via RStudio (utilisation classique)
- Sur un serveur via le terminal et une connexion ssh
- Sur un serveur via un navigateur web pour accéder à RStudio server
- Sur un serveur via un navigateur web pour accéder à RStudio server par Jupyter

### 3.2 Ouverture ou connexion à RStudio

3 alternatives :

1. Ouvrir RStudio sur votre propre ordinateur (si installé)
2. Vous connecter au serveur Web RStudio de l'IFB <https://rstudio.cluster.france-bioinformatique.fr> puis vous identifier



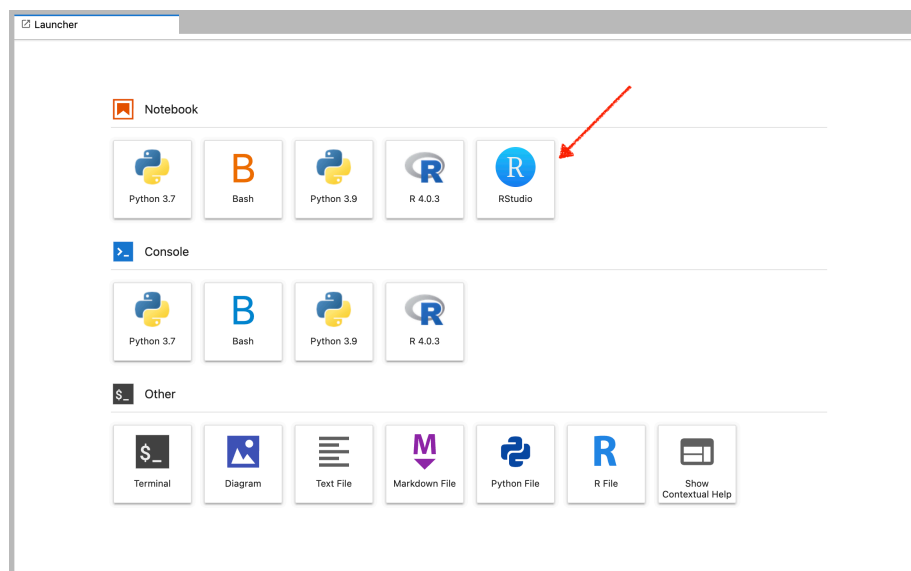
Sign in to RStudio

Username:

Password:

☐ Stay signed in

3. Vous connecter via Jupyter lab de l'IFB <https://jupyterhub.cluster.france-bioinformatique.fr> puis cliquer sur l'icône RStudio

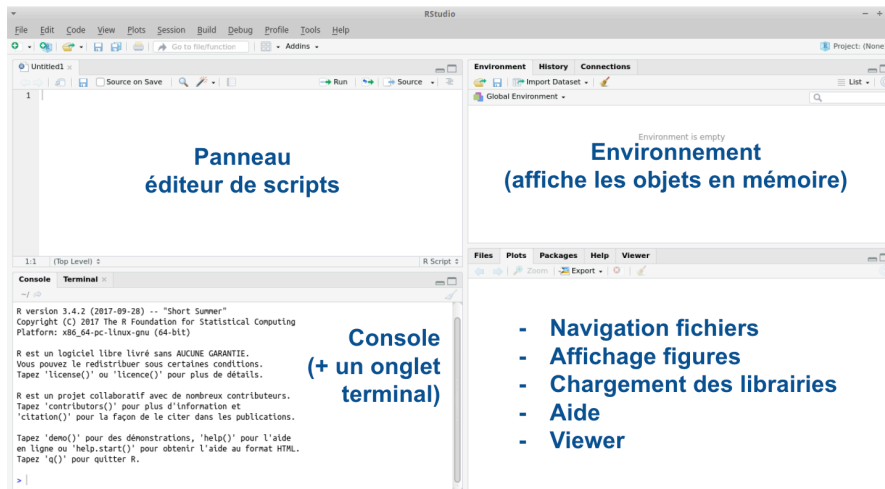


### 3.3 RStudio

- Disponible depuis 2011
- Logiciel facilitant l'utilisation de R via 4 panneaux



- Chaque panneau présente plusieurs onglets (fonctionnalités complémentaires)





## Chapter 4

# Premiers pas

### 4.1 R sait tout faire : il compte !

Tapez les commandes suivantes dans le panneau Console de RStudio

```
2 + 3
```

```
## [1] 5
```

```
4 * 5
```

```
## [1] 20
```

```
6 / 4
```

```
## [1] 1.5
```

```
1:10
```

```
## [1] 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10
```

```
8:-9
```

```
## [1] 8 7 6 5 4 3 2 1 0 -1 -2 -3 -4 -5 -6 -7 -8 -9
```

```
1,2
```

```
1.2
```

```
## [1] 1.2
```

## 4.2 Notion de variable/objet

Créer une variable nommée a et lui assigner une valeur

```
a <- 2
```

Afficher la valeur de la variable a

```
print(a)
```

```
## [1] 2
```

Même résultat: si on évoque le nom de variable, R l'imprime

```
a
```

```
## [1] 2
```

Assigner une valeur à une seconde variable

```
b <- 3
```

Effectuer un calcul avec 2 variables

```
a_plus_b <- a + b
```

Afficher le contenu de la variable a\_plus\_b

```
print(a_plus_b)
```

```
## [1] 5
```

Changer la valeur de a

```
a <- 7
```

Note: le contenu de a\_plus\_b n'est pas modifié

```
print(a_plus_b)
```

```
## [1] 5
```

On recalcule a\_plus\_b

```
a_plus_b <- a + b
```

La nouvelle valeur tient compte de la modification de a

```
print(a_plus_b)
```

```
## [1] 10
```

Créer un vecteur

```
vec1 <- c(1,10)
```

Créer un vecteur contenant une séquence d'entiers de 1 à 10

```
vec2 <- 1:10
```

Somme d'un vecteur et d'un nombre

```
vec2 + a
```

```
## [1] 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17
```

Vecteur de chaînes de caractères

```
vec3 <- c("riri", "fifi", "loulou")
```

Diviser un vecteur de nombres par un nombre

```
vec2 / 2
```

```
## [1] 0.5 1.0 1.5 2.0 2.5 3.0 3.5 4.0 4.5 5.0
```

Diviser des chaînes de caractères par un nombre

vec3 / 2

**Attention** : Noms de variables interdits: TRUE, FALSE, T, F, c, t, pi, data, LETTERS, letters, ...

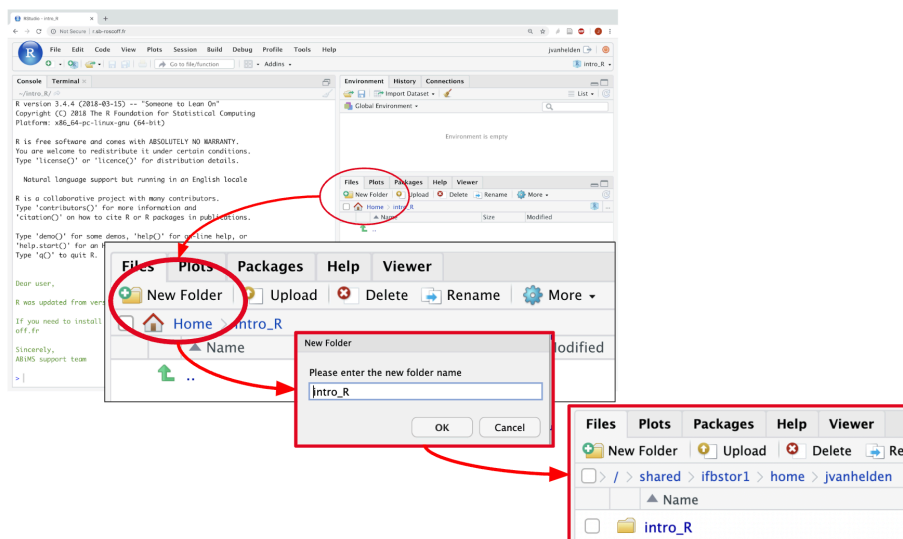
# Chapter 5

## Import de données

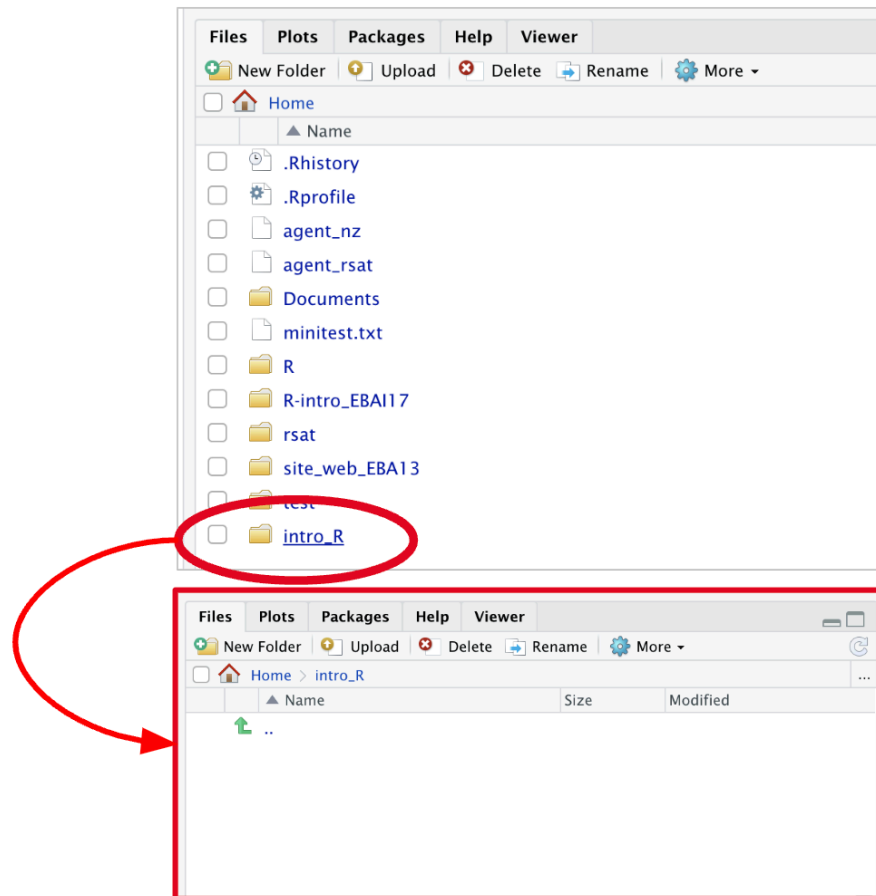
### 5.1 Version “Avec les boutons”

#### 5.1.1 Création d'un dossier intro\_R pour vos résultats de ce TP

**Attention** Dans votre espace projet ou votre home.



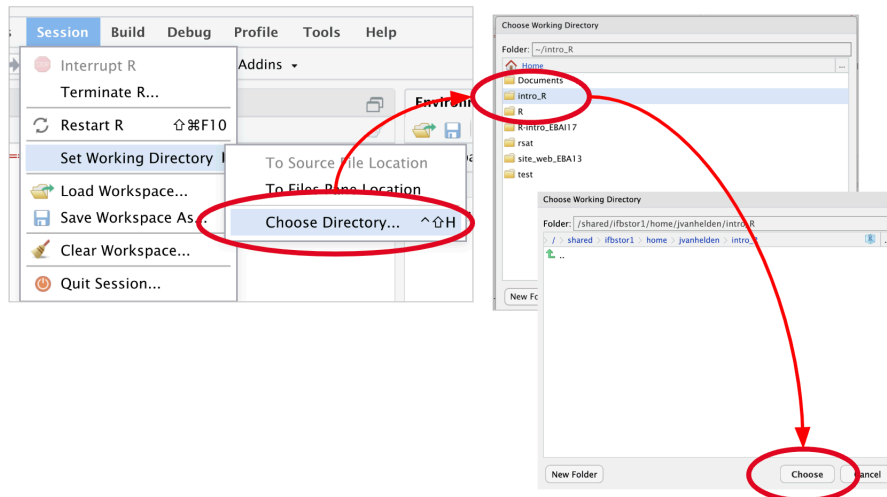
### 5.1.2 Déplacement dans le dossier “intro\_R”



### 5.1.3 Définissez votre dossier espace de travail (working directory)

1. Dans le menu “Session”, lancez “Choose Directory ...”
2. Naviguez jusqu’à votre dossier `intro_R`
3. Double-cliquez dessus pour l’ouvrir
4. Cliquez Choose





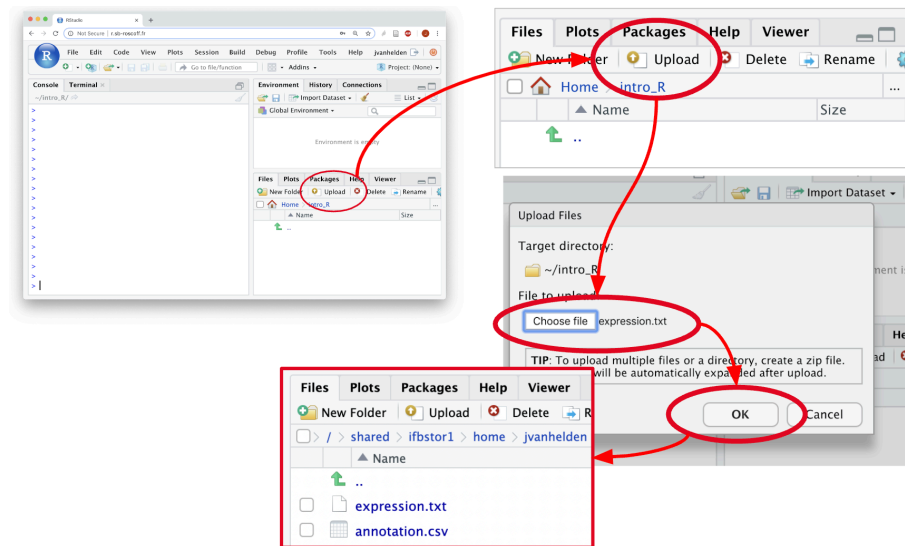
#### 5.1.4 Téléchargez les fichiers sur votre machine

A partir d'un navigateur Web, téléchargez et enregistrez sur votre ordi les fichiers de données - expression.txt: données d'expressions pour 4 échantillons - annotation.csv: informations sur les gènes (id, name, chr, start, stop)

Attention: veillez à sauvegarder les fichiers - sous leur nom original, - avec les extensions .txt et .csv respectives (certains navigateurs omettent l'extension, ce qui poserait problème pour la suite du TP)

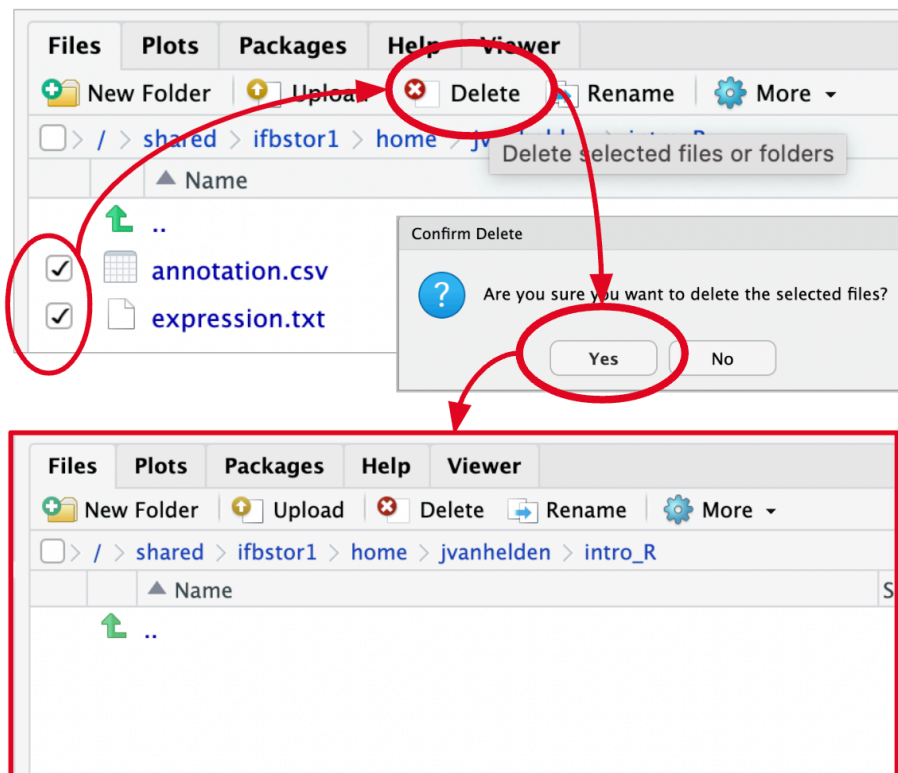
#### 5.1.5 Téléversement (“upload”) des données

Au moyen du bouton “Upload”, téléversez les fichiers d'expression et d'annotation depuis votre ordinateur vers votre compte sur le serveur.



### 5.1.6 On efface tout et on recommence

1. Sélectionnez les deux fichiers
2. Effacez-les sans pitié



(nous allons vous montrer deux autres façons de les téléverser)

## 5.2 The “R geek” way (V2, directement depuis Rstudio)

Attention ! Dans votre espace projet !

### 5.2.1 Creation de l’arborescence

Aller dans **votre** espace projet !

Dans tous les commandes ci-dessous, remplacer toujours `form_2022_32/EBaII_IntroR` par votre nom d’espace projet

Note : Pour les personnes ne travaillant pas sur le cluster mais par exemple en local, vous pouvez sans soucis remplacer l’adresse par une adresse sur votre ordinateur.

```
setwd("/shared/ifbstor1/projects/form_2022_32/EBAII_IntroR")
```

Définir une variable qui indique le chemin du dossier de travail (working directory).

```
my_work_dir <- "/shared/ifbstor1/projects/form_2022_32/EBAII_IntroR/intro_R"
```

S'il n'existe pas encore, créer le dossier de travail. (Commande Unix équivalente: `mkdir -p /shared/ifbstor1/projects/form_2022_32/EBAII_IntroR/intro_R`)

```
dir.create(my_work_dir, recursive = TRUE, showWarnings = FALSE)
```

Où suis-je ? (Commande Unix équivalente: `pwd`)

```
getwd()
```

```
## [1] "/shared/ifbstor1/projects/form_2022_32/EBAII_IntroR"
```

Aller dans ce dossier de travail (Commande Unix équivalente: `cd /shared/ifbstor1/projects/form_2022_32/EBAII_IntroR`)

```
setwd(my_work_dir)
```

Et maintenant, où suis-je ?

```
getwd()
```

```
## [1] "/shared/ifbstor1/projects/form_2022_32/EBAII_IntroR"
```

Qu'y a-t-il par ici ? (Commande Unix équivalente: `ls`)

```
list.files()
```

```
## [1] "_bookdown_files"      "_bookdown.yml"        "_main_files"
## [4] "_main.Rmd"            "_output.yml"          "01-intro.Rmd"
## [7] "02-how.Rmd"           "03-firstSteps.Rmd"    "04-uploadData.Rmd"
## [10] "05-readData.Rmd"      "06-manipulate.Rmd"    "07-plots.Rmd"
## [13] "08-analyseDiff.Rmd"   "09-integration.Rmd"   "10-visu.Rmd"
## [16] "11-conclusion.Rmd"     "12-references.Rmd"    "annotation.csv"
## [19] "book.bib"             "docs"                 "EBAII_IntroR.Rproj"
## [22] "expression.txt"        "exprs_chr8.txt"       "images"
## [25] "index.Rmd"            "intro_R"              "LICENSE"
## [28] "packages.bib"         "preamble.tex"         "README.md"
## [31] "style.css"
```

Un autre nom pour la même commande

```
dir()

## [1] "_bookdown_files"      "_bookdown.yml"      "_main_files"
## [4] "_main.Rmd"           "_output.yml"        "01-intro.Rmd"
## [7] "02-how.Rmd"          "03-firstSteps.Rmd"  "04-uploadData.Rmd"
## [10] "05-readData.Rmd"     "06-manipulate.Rmd"  "07-plots.Rmd"
## [13] "08-analyseDiff.Rmd"  "09-integration.Rmd" "10-visu.Rmd"
## [16] "11-conclusion.Rmd"    "12-references.Rmd"  "annotation.csv"
## [19] "book.bib"            "docs"               "EBaII_IntroR.Rproj"
## [22] "expression.txt"      "exprs_chr8.txt"     "images"
## [25] "index.Rmd"           "intro_R"            "LICENSE"
## [28] "packages.bib"        "preamble.tex"       "README.md"
## [31] "style.css"
```

### 5.2.2 Télécharger un fichier

Nous avons montré ci-dessus comment télécharger des fichiers en utilisant l’interface graphique de RStudio.

Alternativement, on peut télécharger des fichiers au moyen de la commande R `download.file`.

Les deux commandes suivantes permettent de télécharger les fichiers utilisés pour les exercices.

```
download.file(url = "https://raw.githubusercontent.com/IFB-ElixirFr/EBaII/master/2022/ebain1/intro.Rmd",
```

```
download.file(url = "https://raw.githubusercontent.com/IFB-ElixirFr/EBaII/master/2022/ebain1/intro.Rproj",
```

Note : équivalent de la commande `wget` sous Unix.

Qu’y a-t-il par ici ? (Commande Unix équivalente: `ls`)

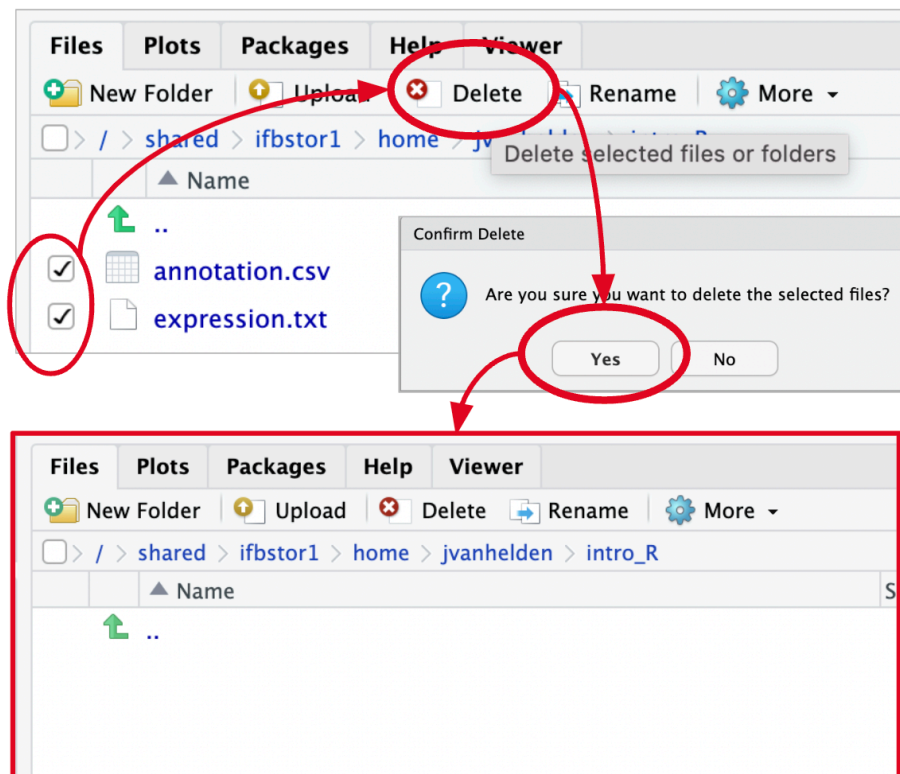
```
list.files()

## [1] "_bookdown_files"      "_bookdown.yml"      "_main_files"
## [4] "_main.Rmd"           "_output.yml"        "01-intro.Rmd"
## [7] "02-how.Rmd"          "03-firstSteps.Rmd"  "04-uploadData.Rmd"
## [10] "05-readData.Rmd"     "06-manipulate.Rmd"  "07-plots.Rmd"
## [13] "08-analyseDiff.Rmd"  "09-integration.Rmd" "10-visu.Rmd"
## [16] "11-conclusion.Rmd"    "12-references.Rmd"  "annotation.csv"
## [19] "book.bib"            "docs"               "EBaII_IntroR.Rproj"
```

```
## [22] "expression.txt"      "exprs_chr8.txt"      "images"
## [25] "index.Rmd"          "intro_R"              "LICENSE"
## [28] "packages.bib"       "preamble.tex"         "README.md"
## [31] "style.css"
```

### 5.2.3 On efface tout et on recommence

1. Sélectionnez les deux fichiers
2. Effacez-les sans pitié



Nous allons vous montrer une dernière façon de les téléverser.

## 5.3 The “bash geek” way (V3, directement de votre home du cluster)

Objectif

### 5.3. THE “BASH GEEK” WAY (V3, DIRECTEMENT DE VOTRE HOME DU CLUSTER)31

Dans le terminal du cluster, téléchargez et enregistrez dans votre home les fichiers de données: - expression.txt: données d’expressions pour 4 échantillons  
- annotation.csv: informations sur les gènes (id, name, chr, start, stop)

Ouvrez un connection ssh

```
ssh [votre_login]@core.cluster.france-bioinformatique.fr
```

Où suis-je ?

```
pwd
```

```
## /shared/ifbstor1/projects/form_2022_32/EBAII_IntroR
```

Créez un répertoire “intro\_R”

```
mkdir -p /shared/ifbstor1/projects/form_2022_32/EBAII_IntroR/intro_R
```

Déplacez-vous dans votre dossier

```
cd /shared/ifbstor1/projects/form_2022_32/EBAII_IntroR/intro_R
```

Où suis-je maintenant ?

```
pwd
```

```
## /shared/ifbstor1/projects/form_2022_32/EBAII_IntroR
```

Téléchargez les données

```
wget https://raw.githubusercontent.com/IFB-ElixirFr/EBAII/master/2022/ebain1/intro_R/expression.
```

```
## --2022-11-15 17:35:51-- https://raw.githubusercontent.com/IFB-ElixirFr/EBAII/master/2022/ebai
## Resolving raw.githubusercontent.com (raw.githubusercontent.com)... 185.199.109.133, 185.199.11
## Connecting to raw.githubusercontent.com (raw.githubusercontent.com)|185.199.109.133|:443... co
## HTTP request sent, awaiting response... 200 OK
## Length: 1747 (1.7K) [text/plain]
## Saving to: 'expression.txt'
##
##      OK .                               100% 16.5M=0s
##
## 2022-11-15 17:35:51 (16.5 MB/s) - 'expression.txt' saved [1747/1747]
```

```
wget https://raw.githubusercontent.com/IFB-ElixirFr/EBAIL/master/2022/ebain1/intro_R/

## --2022-11-15 17:35:51-- https://raw.githubusercontent.com/IFB-ElixirFr/EBAIL/master/2022/ebain1/intro_R/
## Resolving raw.githubusercontent.com (raw.githubusercontent.com)... 185.199.111.133,
## Connecting to raw.githubusercontent.com (raw.githubusercontent.com)|185.199.111.133:
## HTTP request sent, awaiting response... 200 OK
## Length: 2326 (2.3K) [text/plain]
## Saving to: 'annotation.csv'
##
##      OK ..                               100% 26.3M=0s
##
## 2022-11-15 17:35:51 (26.3 MB/s) - 'annotation.csv' saved [2326/2326]
```

Qu'y a-t-il ici ?

```
ls -l
```

```
## total 133
## -rw-r--r--+ 1 tdenecker tdenecker 1843 Nov 15 09:19 01-intro.Rmd
## -rw-r--r--+ 1 tdenecker tdenecker 996 Nov 15 09:40 02-how.Rmd
## -rw-r--r--+ 1 tdenecker tdenecker 1478 Nov 15 09:48 03-firstSteps.Rmd
## -rw-r--r--+ 1 tdenecker tdenecker 5467 Nov 15 10:30 04-uploadData.Rmd
## -rw-r--r--+ 1 tdenecker tdenecker 1790 Nov 15 10:46 05-readData.Rmd
## -rw-r--r--+ 1 tdenecker tdenecker 1419 Nov 15 11:57 06-manipulate.Rmd
## -rw-r-----+ 1 tdenecker tdenecker 1882 Nov 15 12:20 07-plots.Rmd
## -rw-r-----+ 1 tdenecker tdenecker 2490 Nov 15 12:38 08-analyseDiff.Rmd
## -rw-r-----+ 1 tdenecker tdenecker 1490 Nov 15 15:51 09-integration.Rmd
## -rw-r-----+ 1 tdenecker tdenecker 1423 Nov 15 17:35 10-visu.Rmd
## -rw-r-----+ 1 tdenecker tdenecker 1128 Nov 15 12:35 11-conclusion.Rmd
## -rw-r--r--+ 1 tdenecker tdenecker 54 Nov 14 21:51 12-references.Rmd
## -rw-rw----+ 1 tdenecker tdenecker 2326 Nov 15 17:35 annotation.csv
## -rw-r--r--+ 1 tdenecker tdenecker 267 Nov 14 21:51 book.bib
## drwxrwx---+ 2 tdenecker tdenecker 4096 Nov 15 17:35 _bookdown_files
## -rw-r--r--+ 1 tdenecker tdenecker 113 Nov 15 16:00 _bookdown.yml
## drwxrwx---+ 5 tdenecker tdenecker 12288 Nov 15 17:35 docs
## -rw-rw----+ 1 tdenecker tdenecker 247 Nov 15 15:48 EBAIL_IntroR.Rproj
## -rw-rw----+ 1 tdenecker tdenecker 1747 Nov 15 17:35 expression.txt
## -rw-rw----+ 1 tdenecker tdenecker 244 Nov 15 17:35 exprs_chr8.txt
## drwxrwx---+ 2 tdenecker tdenecker 4096 Nov 15 12:35 images
## -rw-r--r--+ 1 tdenecker tdenecker 1460 Nov 15 17:29 index.Rmd
## drwxrwx---+ 2 tdenecker tdenecker 4096 Nov 15 10:25 intro_R
## -rw-rw----+ 1 tdenecker tdenecker 1551 Nov 14 21:50 LICENSE
## drwxrwx---+ 4 tdenecker tdenecker 4096 Nov 15 17:35 _main_files
## -rw-r--r--+ 1 tdenecker tdenecker 23396 Nov 15 17:35 _main.Rmd
```



```
## -rw-r--r--+ 1 tdenecker tdenecker 500 Nov 14 21:52 _output.yml
## -rw-rw-----+ 1 tdenecker tdenecker 2655 Nov 15 17:35 packages.bib
## -rw-r--r--+ 1 tdenecker tdenecker 22 Nov 14 21:51 preamble.tex
## -rw-r--r--+ 1 tdenecker tdenecker 311 Nov 15 09:29 README.md
## -rw-r--r--+ 1 tdenecker tdenecker 172 Nov 14 21:51 style.css
```

A quoi ressemblent ces fichiers ?

```
head expression.txt
```

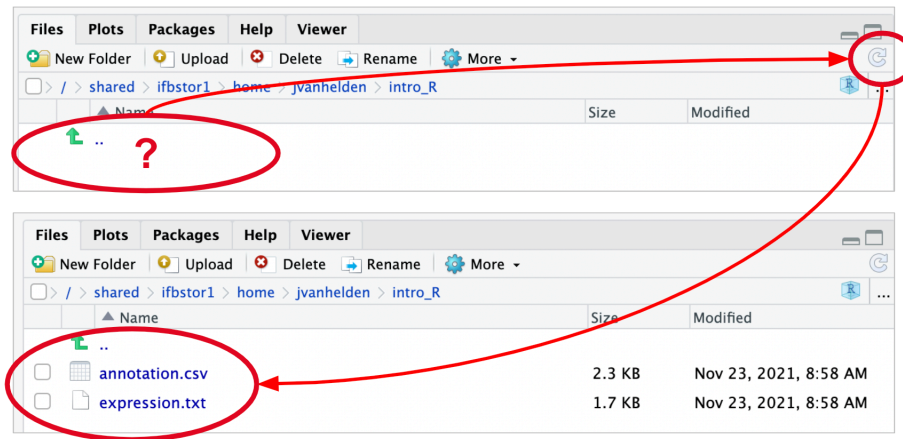
```
## id WT1 WT2 K01 K02
## ENSG00000034510 235960 94264 202381 91336
## ENSG00000064201 116 71 64 56
## ENSG00000065717 118 174 124 182
## ENSG00000099958 450 655 301 472
## ENSG00000104164 4736 5019 4845 4934
## ENSG00000104783 9002 8623 7720 7142
## ENSG00000105229 1295 2744 1113 2887
## ENSG00000105723 3353 7449 3589 7202
## ENSG00000116199 2044 4525 2604 4902
```

```
head annotation.csv
```

```
## id;name;chr;start;stop;strand
## ENSG00000225630;MTND2P28;1;629640;630683;+
## ENSG00000134198;TSPAN2;1;115048011;115089500;-
## ENSG00000116199;FAM20B;1;179025804;179076562;+
## ENSG00000119285;HEATR1;1;236549005;236604504;-
## ENSG00000034510;TMSB10;2;84905625;84906675;+
## ENSG00000198586;TLK1;2;170990823;171231314;-
## ENSG00000157036;EXOG;3;38496127;38542161;+
## ENSG00000157869;RAB28;4;13361354;13484365;-
## ENSG00000250202;RP11-397E7.2;4;86876338;86876652;+
```

## 5.4 Actualisation du dossier

Dans certains cas, il faut actualiser le contenu du dossier pour pouvoir voir le nouveau sous-dossier. Vérifiez ensuite si `intro_R` apparaît bien dans le contenu de votre dossier principal.



## Chapter 6

# Lecture des données

### 6.1 Chargement des données (dans la mémoire de R)

Charger le contenu du fichier “expression.txt” dans une variable nommée “exprs”.

```
exprs <- read.table(file = "expression.txt", header = TRUE, sep = "\t")
```

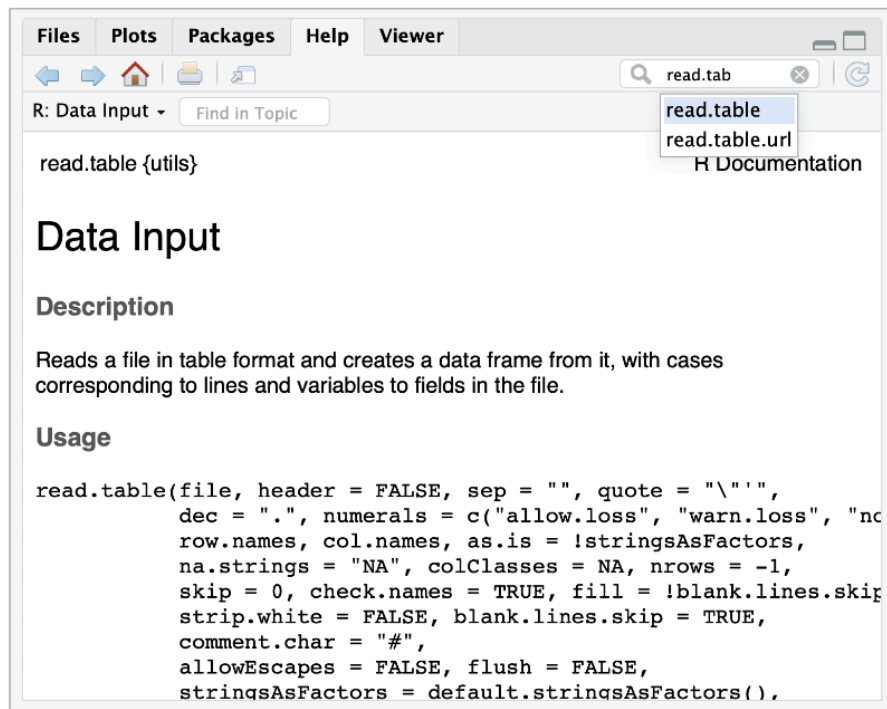
Accéder à l’aide d’une fonction

```
help(read.table)
```

Notation alternative

```
?read.table
```

Recherche interactive sous RStudio - Sélectionner l’onglet “Help” du panneau inférieur droit. - Taper “read.table” dans la boîte de recherche.



Sinon, une approche plus simple et plus pratique : - demande à Google “Comment lire une table en R ?” - adapte l'exemple

## 6.2 Affichage de l'objet “exprs”

Imprimer toutes les valeurs.

```
print(exprs)
```

```
##           id    WT1   WT2    K01   K02
## 1 ENSG00000034510 235960 94264 202381 91336
## 2 ENSG000000064201   116    71    64    56
## 3 ENSG000000065717   118   174   124   182
## 4 ENSG000000099958   450   655   301   472
## 5 ENSG000000104164  4736  5019  4845  4934
## 6 ENSG000000104783  9002  8623  7720  7142
## 7 ENSG000000105229  1295  2744  1113  2887
## 8 ENSG000000105723  3353  7449  3589  7202
## 9 ENSG000000116199  2044  4525  2604  4902
## 10 ENSG000000118939  7022  2526  6269  3068
```

```

## 11 ENSG00000119285 15783 17359 18591 20077
## 12 ENSG00000121680 3133 2775 2045 2796
## 13 ENSG00000125384 1380 3079 869 2419
## 14 ENSG00000129562 12089 7958 10708 7683
## 15 ENSG00000129932 1744 2247 1513 3104
## 16 ENSG00000134198 122 66 44 16
## 17 ENSG00000135452 635 427 662 291
## 18 ENSG00000140416 83 246 136 267
## 19 ENSG00000147274 16013 17642 15055 18804
## 20 ENSG00000148090 552 1062 615 1082
## 21 ENSG00000148248 62324 33973 56862 37710
## 22 ENSG00000157036 1225 1475 1275 1373
## 23 ENSG00000157869 1201 1034 1025 858
## 24 ENSG00000159433 31 788 30 675
## 25 ENSG00000161692 695 1825 746 1851
## 26 ENSG00000167005 26866 23111 24888 22661
## 27 ENSG00000168517 273 112 190 77
## 28 ENSG00000169570 202 181 207 209
## 29 ENSG00000172216 3515 1981 3204 3174
## 30 ENSG00000175221 1988 4788 2115 5306
## 31 ENSG00000183161 2238 974 2089 996
## 32 ENSG00000185324 1236 2163 1048 2024
## 33 ENSG00000188985 3415 1703 3587 2096
## 34 ENSG00000196867 209 189 293 192
## 35 ENSG00000197081 14741 36309 14941 29645
## 36 ENSG00000198586 1216 4545 1660 3932
## 37 ENSG00000214121 4044 2575 3019 2506
## 38 ENSG00000225630 1405 8135 1569 7866
## 39 ENSG00000226742 158 94 153 178
## 40 ENSG00000238241 90 43 122 143
## 41 ENSG00000248751 518 718 411 597
## 42 ENSG00000250202 261 163 177 191
## 43 ENSG00000251106 94 114 63 86
## 44 ENSG00000253991 77 78 134 92
## 45 ENSG00000254470 3025 3707 2558 4066
## 46 ENSG00000262814 15470 11450 11656 13821
## 47 ENSG00000267228 3801 2465 2787 2301
## 48 ENSG00000267699 1488 1086 1374 939
## 49 ENSG00000269293 424 162 310 120
## 50 ENSG00000279329 55 76 58 70

```

Affichage des premières lignes de l'objet

```
head(exprs)
```

```
##           id      WT1      WT2      K01      K02
```

```
## 1 ENSG00000034510 235960 94264 202381 91336
## 2 ENSG00000064201      116    71      64    56
## 3 ENSG00000065717      118    174     124    182
## 4 ENSG00000099958      450    655     301    472
## 5 ENSG00000104164     4736   5019    4845   4934
## 6 ENSG00000104783     9002   8623    7720   7142
```

Affichage des dernières lignes de l'objet

```
tail(exprs)
```

```
##           id    WT1    WT2    K01    K02
## 45 ENSG00000254470 3025  3707  2558  4066
## 46 ENSG00000262814 15470 11450 11656 13821
## 47 ENSG00000267228 3801  2465  2787  2301
## 48 ENSG00000267699 1488  1086  1374   939
## 49 ENSG00000269293  424   162   310   120
## 50 ENSG00000279329   55    76    58    70
```

Un peu plus de lignes

```
head(exprs, n = 15)
```

```
##           id    WT1    WT2    K01    K02
## 1 ENSG00000034510 235960 94264 202381 91336
## 2 ENSG00000064201      116    71      64    56
## 3 ENSG00000065717      118    174     124    182
## 4 ENSG00000099958      450    655     301    472
## 5 ENSG00000104164     4736   5019    4845   4934
## 6 ENSG00000104783     9002   8623    7720   7142
## 7 ENSG00000105229     1295   2744    1113   2887
## 8 ENSG00000105723     3353   7449    3589   7202
## 9 ENSG00000116199     2044   4525    2604   4902
## 10 ENSG00000118939     7022   2526    6269   3068
## 11 ENSG00000119285    15783  17359   18591  20077
## 12 ENSG00000121680     3133   2775     2045   2796
## 13 ENSG00000125384     1380   3079      869   2419
## 14 ENSG00000129562    12089   7958   10708   7683
## 15 ENSG00000129932     1744   2247     1513   3104
```

Explorer le tableau dans un panneau de visualisation

```
View(exprs)
```

**Note:** vous pouvez cliquer sur une en-tête de colonne pour trier les données

Explorer le tableau avec le package DT

```
library(DT)
datatable(exprs)
```

```
## PhantomJS not found. You can install it with webshot::install_phantomjs(). If it is installed,
```

## 6.3 Caractéristiques d'un tableau de données

### 6.3.1 Dimensions

Nombre de colonnes

```
ncol(exprs)
```

```
## [1] 5
```

Nombre de lignes

```
nrow(exprs)
```

```
## [1] 50
```

Dimensions

```
dim(exprs)
```

```
## [1] 50 5
```

### 6.3.2 Noms des colonnes et des lignes

Noms des colonnes

```
colnames(exprs)
```

```
## [1] "id" "WT1" "WT2" "K01" "K02"
```

Idem

```
names(exprs)
```

```
## [1] "id" "WT1" "WT2" "K01" "K02"
```

Noms des lignes

```
rownames(exprs)
```

```
## [1] "1" "2" "3" "4" "5" "6" "7" "8" "9" "10" "11" "12" "13" "14" "15"
## [16] "16" "17" "18" "19" "20" "21" "22" "23" "24" "25" "26" "27" "28" "29" "30"
## [31] "31" "32" "33" "34" "35" "36" "37" "38" "39" "40" "41" "42" "43" "44" "45"
## [46] "46" "47" "48" "49" "50"
```

### 6.3.3 Résumé rapide des données par colonne

Statistiques par colonne

```
summary(exprs)
```

```
##          id                WT1                WT2                K01
## Length:50          Min.   :    31          Min.   :   43.0          Min.   :    30.0
## Class :character    1st Qu.:   264          1st Qu.:  203.2          1st Qu.:   228.5
## Mode  :character    Median :  1338          Median : 1903.0          Median :  1324.5
##                                     Mean   :   9358          Mean   :  6498.6          Mean   :   8356.0
##                                     3rd Qu.:   3730          3rd Qu.:  4727.2          3rd Qu.:   3491.2
##                                     Max.   :235960          Max.   :94264.0          Max.   :202381.0
##          K02
## Min.   :    16.0
## 1st Qu.:   223.5
## Median : 2060.0
## Mean   :  6489.5
## 3rd Qu.:  4926.0
## Max.   :91336.0
```

Structure de la variable







## Chapter 7

# Manipuler les données dans R

### 7.1 Sélection de colonnes d'un tableau

Afficher les noms des colonnes

```
colnames(exprs)
```

```
## [1] "id" "WT1" "WT2" "K01" "K02"
```

Valeurs stockées dans la colonne nommée “WT1”

```
exprs$WT1
```

```
## [1] 235960    116    118    450    4736    9002    1295    3353    2044    7022
## [11] 15783    3133    1380   12089    1744     122     635     83   16013    552
## [21] 62324    1225    1201     31     695   26866    273    202    3515   1988
## [31]  2238    1236    3415    209   14741    1216   4044    1405    158     90
## [41]   518     261     94     77    3025   15470    3801    1488    424     55
```

Notation alternative

```
exprs[, "WT1"]
```

```
## [1] 235960    116    118    450    4736    9002    1295    3353    2044    7022
## [11] 15783    3133    1380   12089    1744     122     635     83   16013    552
```

```
## [21] 62324 1225 1201 31 695 26866 273 202 3515 1988
## [31] 2238 1236 3415 209 14741 1216 4044 1405 158 90
## [41] 518 261 94 77 3025 15470 3801 1488 424 55
```

Sélection de plusieurs colonnes.

```
exprs[ , c("WT1", "WT2")]
```

```
##      WT1  WT2
## 1 235960 94264
## 2    116    71
## 3    118   174
## 4    450   655
## 5   4736  5019
## 6   9002  8623
## 7   1295  2744
## 8   3353  7449
## 9   2044  4525
## 10  7022  2526
## 11 15783 17359
## 12  3133  2775
## 13  1380  3079
## 14 12089  7958
## 15  1744  2247
## 16   122    66
## 17   635   427
## 18    83   246
## 19 16013 17642
## 20   552  1062
## 21 62324 33973
## 22  1225  1475
## 23  1201  1034
## 24    31   788
## 25   695  1825
## 26 26866 23111
## 27   273   112
## 28   202   181
## 29  3515 1981
## 30  1988  4788
## 31  2238   974
## 32  1236  2163
## 33  3415  1703
## 34   209   189
## 35 14741 36309
## 36  1216  4545
```

```
## 37 4044 2575
## 38 1405 8135
## 39 158 94
## 40 90 43
## 41 518 718
## 42 261 163
## 43 94 114
## 44 77 78
## 45 3025 3707
## 46 15470 11450
## 47 3801 2465
## 48 1488 1086
## 49 424 162
## 50 55 76
```

Sélection de colonnes par leur indice

```
exprs[, 2]
```

```
## [1] 235960 116 118 450 4736 9002 1295 3353 2044 7022
## [11] 15783 3133 1380 12089 1744 122 635 83 16013 552
## [21] 62324 1225 1201 31 695 26866 273 202 3515 1988
## [31] 2238 1236 3415 209 14741 1216 4044 1405 158 90
## [41] 518 261 94 77 3025 15470 3801 1488 424 55
```

```
exprs[, c(3, 2)]
```

```
## WT2 WT1
## 1 94264 235960
## 2 71 116
## 3 174 118
## 4 655 450
## 5 5019 4736
## 6 8623 9002
## 7 2744 1295
## 8 7449 3353
## 9 4525 2044
## 10 2526 7022
## 11 17359 15783
## 12 2775 3133
## 13 3079 1380
## 14 7958 12089
## 15 2247 1744
## 16 66 122
```

```
## 17 427 635
## 18 246 83
## 19 17642 16013
## 20 1062 552
## 21 33973 62324
## 22 1475 1225
## 23 1034 1201
## 24 788 31
## 25 1825 695
## 26 23111 26866
## 27 112 273
## 28 181 202
## 29 1981 3515
## 30 4788 1988
## 31 974 2238
## 32 2163 1236
## 33 1703 3415
## 34 189 209
## 35 36309 14741
## 36 4545 1216
## 37 2575 4044
## 38 8135 1405
## 39 94 158
## 40 43 90
## 41 718 518
## 42 163 261
## 43 114 94
## 44 78 77
## 45 3707 3025
## 46 11450 15470
## 47 2465 3801
## 48 1086 1488
## 49 162 424
## 50 76 55
```

## 7.2 Sélection de lignes d'un tableau

Sélection des lignes 4 et 11 du tableau des expressions

```
exprs[c(4, 11), ]
```

```
##           id  WT1  WT2  K01  K02
## 4  ENSG00000099958  450  655  301  472
## 11 ENSG00000119285 15783 17359 18591 20077
```

Sélection des identifiants de deux gènes d'intérêt

```
my_genes <- c("ENSG00000253991", "ENSG00000099958")
```

Vecteur booléen indiquant si chaque ID du tableau fait partie des gènes d'intérêt

```
exprs$id %in% my_genes
```

```
## [1] FALSE FALSE FALSE  TRUE FALSE FALSE FALSE FALSE FALSE FALSE FALSE FALSE
## [13] FALSE FALSE FALSE FALSE FALSE FALSE FALSE FALSE FALSE FALSE FALSE FALSE
## [25] FALSE FALSE FALSE FALSE FALSE FALSE FALSE FALSE FALSE FALSE FALSE FALSE
## [37] FALSE FALSE FALSE FALSE FALSE FALSE FALSE  TRUE FALSE FALSE FALSE FALSE
## [49] FALSE FALSE
```

Indices des lignes correspondant aux IDs des gènes d'intérêt

```
which(exprs$id %in% my_genes)
```

```
## [1]  4 44
```

Afficher les lignes correspondantes

```
exprs[which(exprs$id %in% my_genes), ]
```

```
##           id WT1 WT2 K01 K02
## 4  ENSG00000099958 450 655 301 472
## 44 ENSG00000253991  77  78 134  92
```

## 7.3 formulation plus intuitive

```
subset(x = exprs, id %in% my_genes)
```

```
##           id WT1 WT2 K01 K02
## 4  ENSG00000099958 450 655 301 472
## 44 ENSG00000253991  77  78 134  92
```

Approche plus moderne, avec le package dplyr

```
## charger la librairie dplyr
library(dplyr)
```

```
##
## Attaching package: 'dplyr'
```

```
## The following objects are masked from 'package:stats':
##
##   filter, lag
```

```
## The following objects are masked from 'package:base':
##
##   intersect, setdiff, setequal, union
```

```
## envoyer le tableau exprs à la commande filter()
exprs %>% filter(id %in% my_genes)
```

```
##           id WT1 WT2 K01 K02
## 1 ENSG00000099958 450 655 301 472
## 2 ENSG00000253991  77  78 134  92
```

```
## plus avancé : enchaîner plusieurs commandes
exprs %>%
  filter(id %in% my_genes) %>%
  mutate(mean_KO = (K01 + K02)/2)
```

```
##           id WT1 WT2 K01 K02 mean_KO
## 1 ENSG00000099958 450 655 301 472   386.5
## 2 ENSG00000253991  77  78 134  92   113.0
```



## Chapter 8

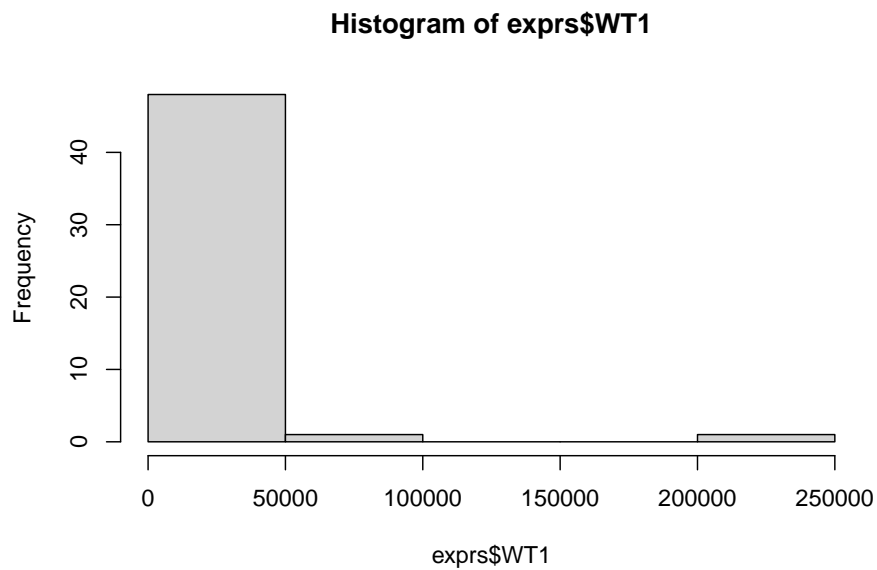
# Visualisation des données

### 8.1 Histogrammes

#### 8.1.1 Avec R de base

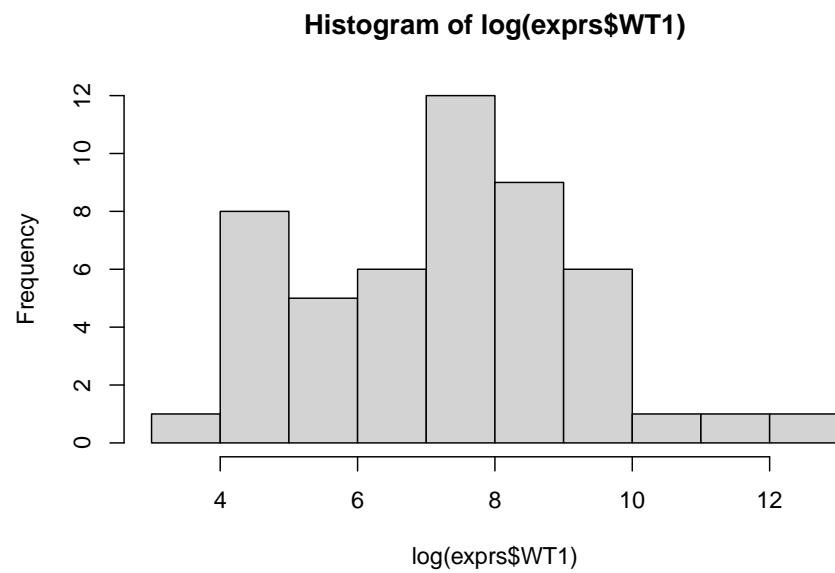
Histogramme des valeurs d'expression pour l'échantillon WT1

```
hist(exprs$WT1)
```

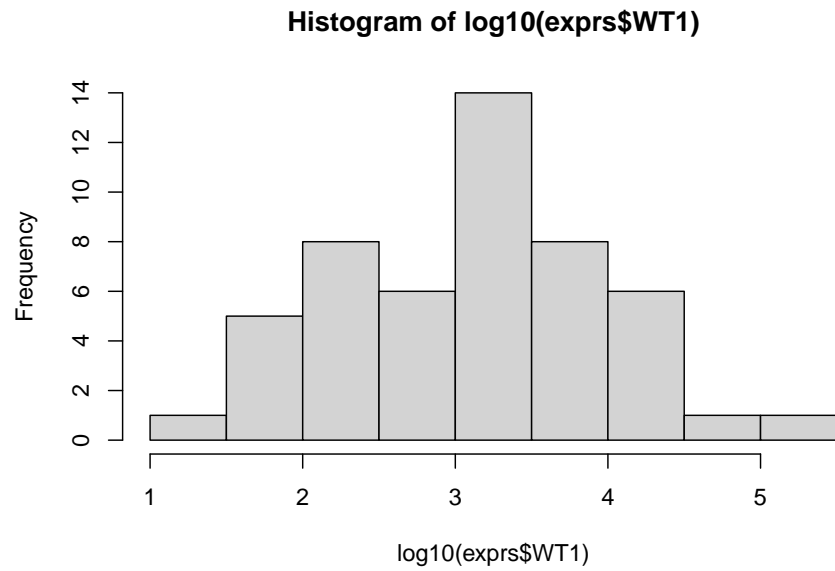


Histogramme du logarithme de ces valeurs

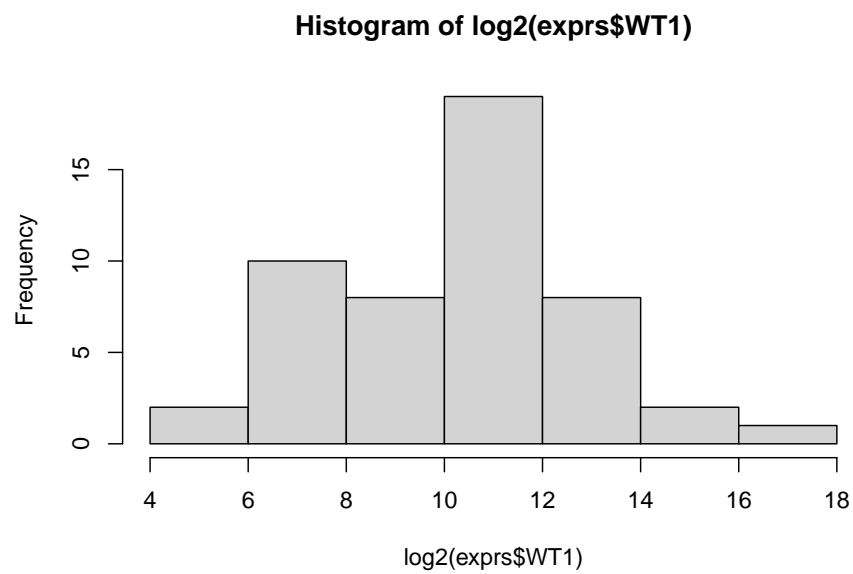
```
hist(log(exprs$WT1))
```



```
hist(log10(exprs$WT1))
```



```
hist(log2(exprs$WT1))
```



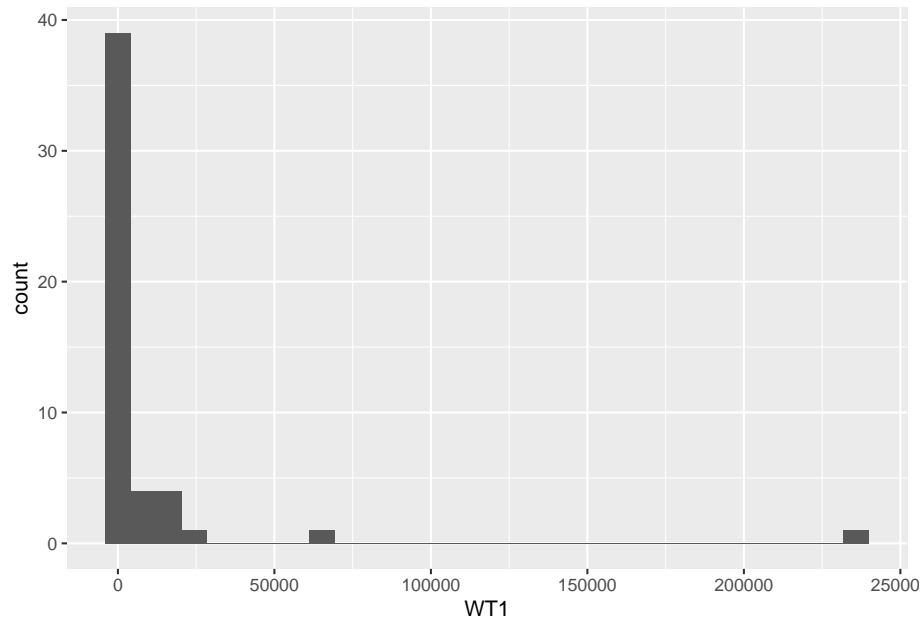
### 8.1.2 Avec ggplot2

```
library(ggplot2)
```

```
## Warning: package 'ggplot2' was built under R version 4.1.3
```

```
ggplot(exprs, aes(x=WT1)) + geom_histogram()
```

```
## `stat_bin()` using `bins = 30`. Pick better value with `binwidth`.
```

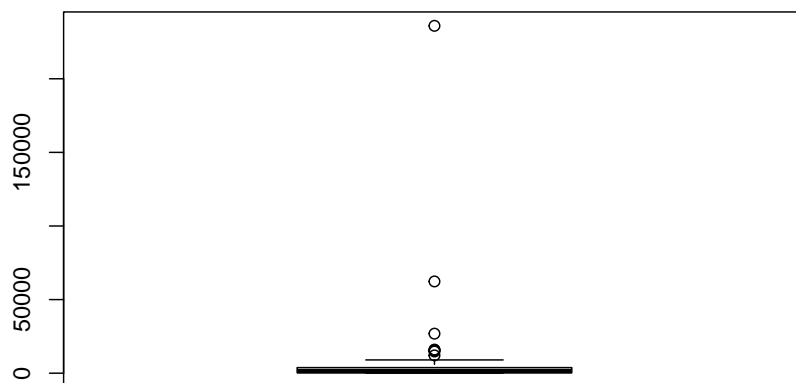


## 8.2 Boîtes à moustaches (boxplots)

### 8.2.1 Avec R de base

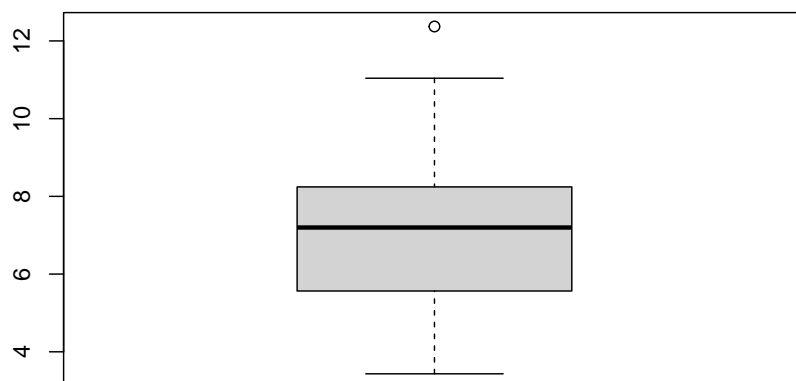
Boite à moustache des valeurs d'expression pour l'échantillon WT1

```
boxplot(exprs$WT1)
```

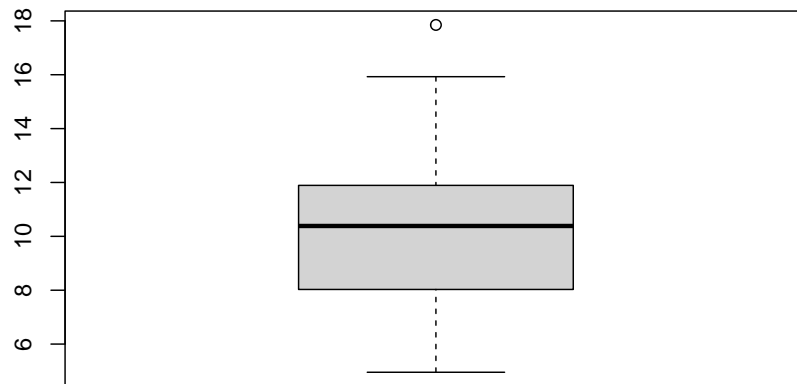


Boite à moustache du logarithme de ces valeurs

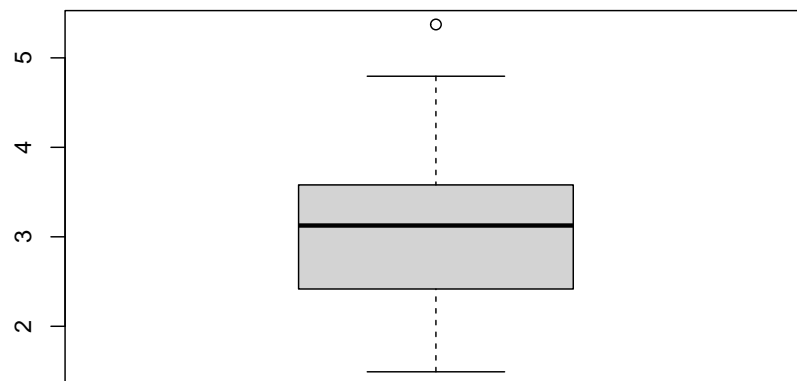
```
boxplot(log(exprs$WT1))
```



```
boxplot(log2(exprs$WT1))
```



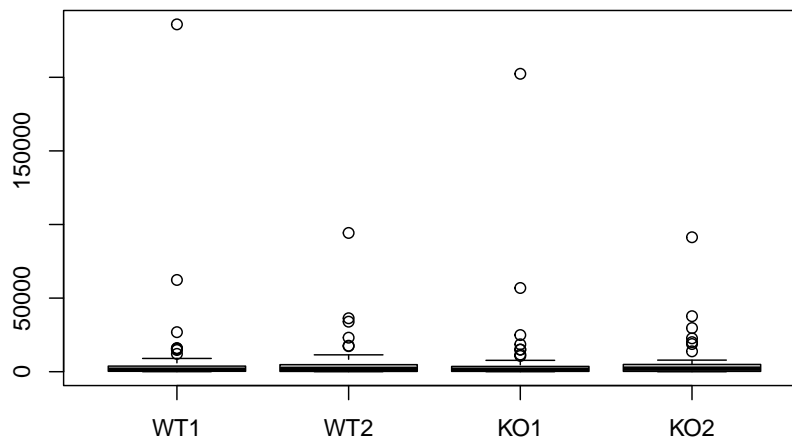
```
boxplot(log10(exprs$WT1))
```



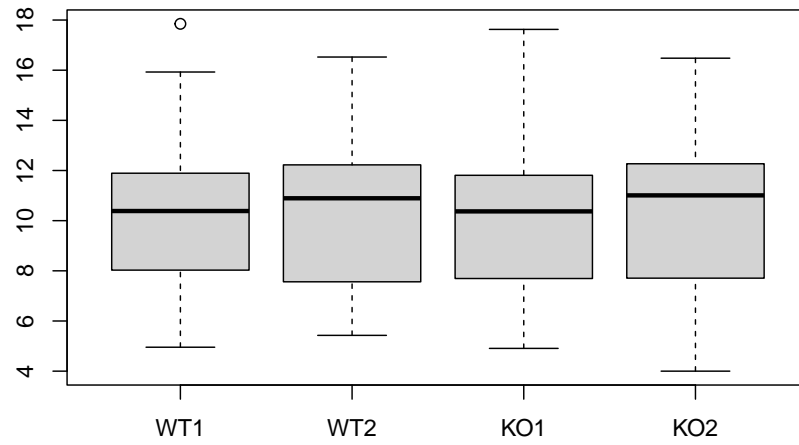
Boite à moustache des valeurs d'expression pour les 4 échantillons

```
boxplot(exprs)
```

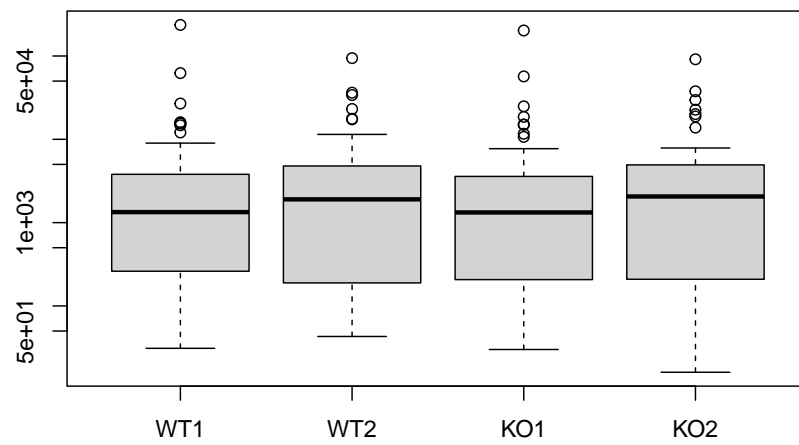
```
## ignorer la première colonne  
boxplot(exprs[, -1])
```



```
boxplot(log2(exprs[, -1]))
```

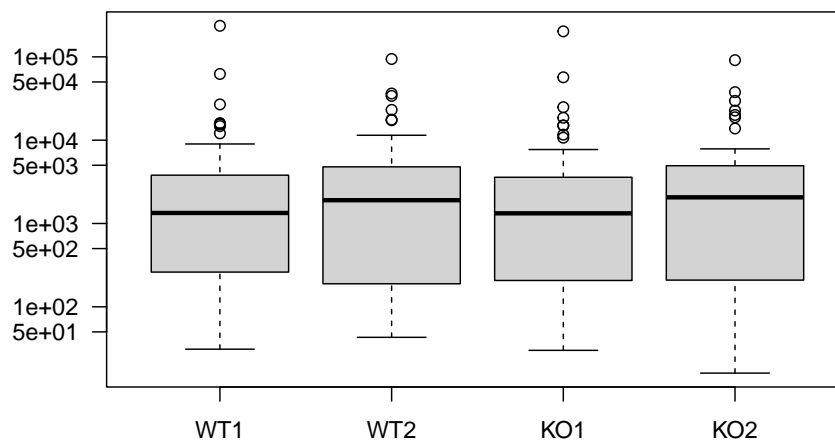


```
boxplot(exprs[, -1], log = "y")
```

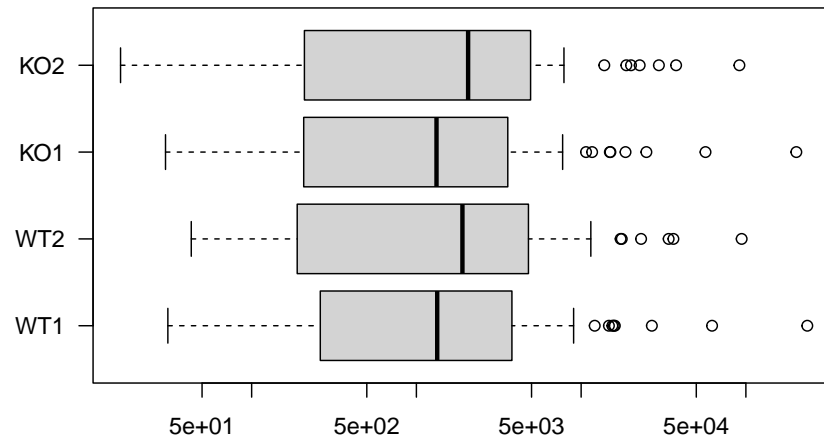




```
## afficher les étiquettes des axes horizontalement  
boxplot(exprs[,-1], log = "y", las = 1)
```



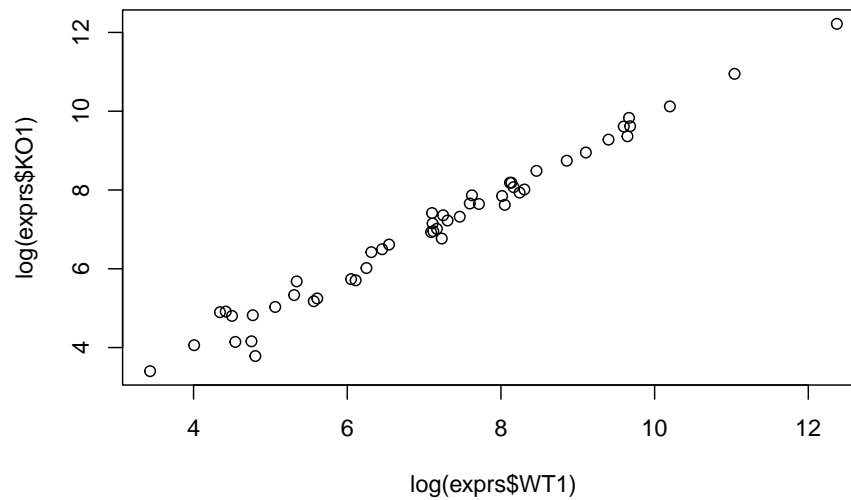
```
## Encore plus beau  
boxplot(exprs[,-1], log = "x", las = 1, horizontal = TRUE)
```



### 8.3 Nuage de points

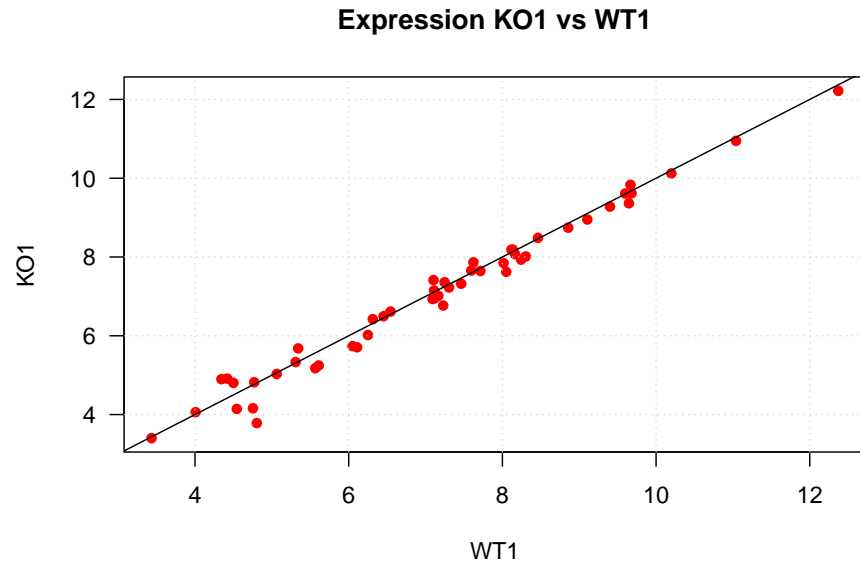
Expressions KO1 vs WT1

```
plot(x = log(exprs$WT1), y = log(exprs$KO1))
```



Personnalisation des paramètres graphiques

```
plot(x = log(exprs$WT1),          ## données pour l'abscisse
     y = log(exprs$KO1),          ## données pour l'ordonnée
     main = "Expression KO1 vs WT1", ## Titre principal
     xlab = "WT1",                ## légende de l'axe X
     ylab = "KO1",                ## légende de l'axe Y
     pch = 16,                   ## caractère pour marquer les points
     las = 1,                    ## écrire les échelles horizontalement
     col = "red")                ## couleur des points
grid()                           ## ajout d'une grille
abline(a = 0, b = 1)             ## ajouter la droite X = Y (intercept a = 0, pente b = 1)
```



## Chapter 9

# Analyse d'expression différentielle : MA-plot

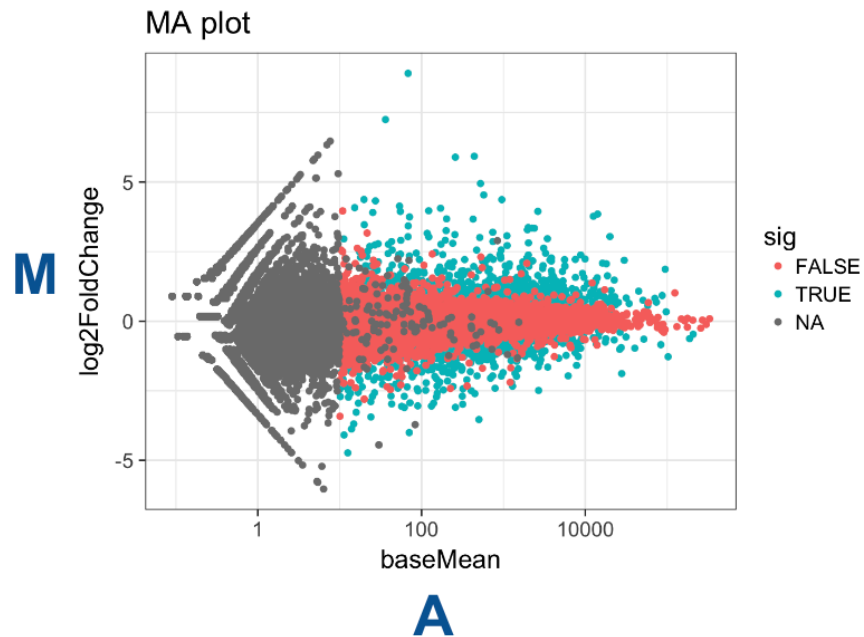
### 9.1 C'est quoi un MA plot

#### 9.1.1 Nos data

```
head(exprs, 10)
```

##		id	WT1	WT2	K01	K02
## 1		ENSG000000034510	235960	94264	202381	91336
## 2		ENSG000000064201	116	71	64	56
## 3		ENSG000000065717	118	174	124	182
## 4		ENSG000000099958	450	655	301	472
## 5		ENSG00000104164	4736	5019	4845	4934
## 6		ENSG00000104783	9002	8623	7720	7142
## 7		ENSG00000105229	1295	2744	1113	2887
## 8		ENSG00000105723	3353	7449	3589	7202
## 9		ENSG00000116199	2044	4525	2604	4902
## 10		ENSG00000118939	7022	2526	6269	3068

### 9.1.2 La théorie



Le MA plot représente le lien entre différence d'expression et intensité moyenne.  
 - M (magnitude) est le logarithme en base 2 du rapport d'expression ("log2 fold-change")  
 - A (average intensity) est la moyenne des logarithmes des valeurs d'expression.

log2 fold change, "magnitude"

$$M = \log_2(KO/WT) = \log_2(KO) - \log_2(WT)$$

average log2 value

$$A = \frac{1}{2} \log_2(KO \times WT) = \frac{1}{2} (\log_2(KO) + \log_2(WT))$$

## 9.2 Calculs sur les colonnes

1. Calcul de moyennes par ligne (`rowMeans`) pour un sous-ensemble donné des colonnes (WT1 et WT2).

```
rowMeans(exprs[, c("WT1", "WT2")])
```

```
## [1] 165112.0    93.5    146.0    552.5    4877.5    8812.5    2019.5    5401.0
## [9]   3284.5   4774.0  16571.0   2954.0   2229.5   10023.5   1995.5     94.0
## [17]    531.0    164.5  16827.5    807.0  48148.5   1350.0   1117.5    409.5
## [25]   1260.0  24988.5    192.5    191.5   2748.0   3388.0   1606.0   1699.5
## [33]   2559.0   199.0  25525.0   2880.5   3309.5   4770.0    126.0    66.5
## [41]    618.0    212.0   104.0     77.5   3366.0  13460.0   3133.0   1287.0
## [49]    293.0     65.5
```

2. Ajout de colonnes avec les expressions moyennes des WT et des KO

```
exprs$meanWT <- rowMeans(exprs[, c("WT1", "WT2")])
exprs$meanKO <- rowMeans(exprs[, c("K01", "K02")])
```

3. Vérification des résultats

```
head(exprs)
```

```
##           id    WT1    WT2    K01    K02    meanWT    meanKO
## 1 ENSG00000034510 235960 94264 202381 91336 165112.0 146858.5
## 2 ENSG00000064201    116    71     64    56     93.5     60.0
## 3 ENSG00000065717    118   174    124   182    146.0    153.0
## 4 ENSG00000099958    450   655    301   472    552.5    386.5
## 5 ENSG00000104164   4736  5019   4845  4934   4877.5   4889.5
## 6 ENSG00000104783   9002  8623   7720  7142   8812.5   7431.0
```

4. Fold-change KO vs WT

```
exprs$FC <- exprs$meanKO / exprs$meanWT
```

5. Vérification des résultats

```
head(exprs)
```

```
##           id    WT1    WT2    K01    K02    meanWT    meanKO      FC
## 1 ENSG00000034510 235960 94264 202381 91336 165112.0 146858.5 0.8894478
## 2 ENSG00000064201    116    71     64    56     93.5     60.0 0.6417112
## 3 ENSG00000065717    118   174    124   182    146.0    153.0 1.0479452
## 4 ENSG00000099958    450   655    301   472    552.5    386.5 0.6995475
## 5 ENSG00000104164   4736  5019   4845  4934   4877.5   4889.5 1.0024603
## 6 ENSG00000104783   9002  8623   7720  7142   8812.5   7431.0 0.8432340
```

6. Moyenne de tous les échantillons

```
exprs$mean <- rowMeans(exprs[, c("WT1", "WT2", "K01", "K02")])
```

7. Vérification des résultats

```
head(exprs)
```

```
##           id    WT1   WT2   K01   K02   meanWT   meanK0      FC
## 1 ENSG00000034510 235960 94264 202381 91336 165112.0 146858.5 0.8894478
## 2 ENSG00000064201   116    71    64    56    93.5    60.0 0.6417112
## 3 ENSG00000065717   118   174   124   182   146.0   153.0 1.0479452
## 4 ENSG00000099958   450   655   301   472   552.5   386.5 0.6995475
## 5 ENSG00000104164  4736  5019  4845  4934  4877.5  4889.5 1.0024603
## 6 ENSG00000104783  9002  8623  7720  7142  8812.5  7431.0 0.8432340
##           mean
## 1 155985.25
## 2   76.75
## 3  149.50
## 4  469.50
## 5 4883.50
## 6 8121.75
```

## 9.3 MA-plot : log2FC vs intensité

### 9.3.1 Calcul de M et A

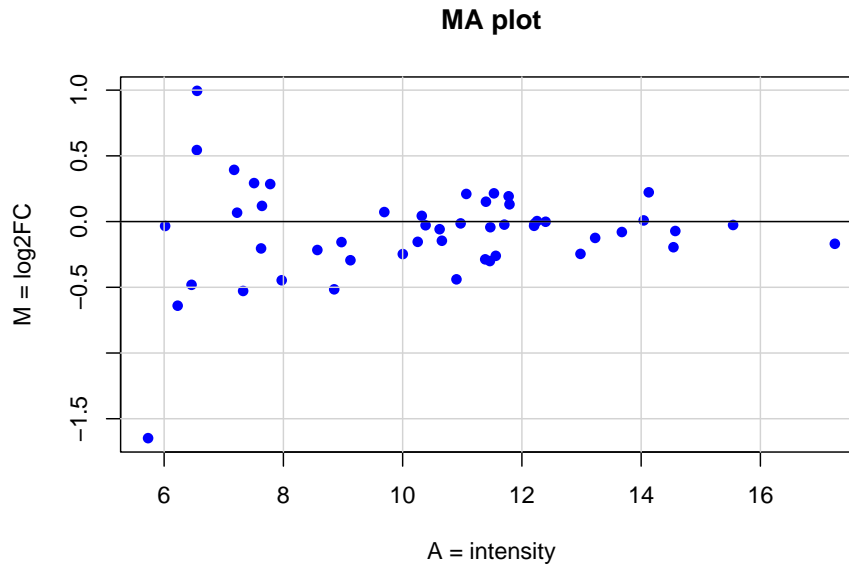
```
exprs$M <- log2(exprs$FC)
exprs$A <- (log2(exprs$meanK0) + log2(exprs$meanWT)) / 2
```

### 9.3.2 Visualisation

On peut ensuite dessiner un nuage de points (en l'agrémentant un peu)

```
plot(x = exprs$A, y = exprs$M, main = "MA plot",
     col = "blue", pch = 16, xlab = "A = intensity", ylab = "M = log2FC")
grid(lty = "solid", col = "lightgray")
abline(h = 0)
```





## 9.4 Appliquer une fonction sur les lignes/colonnes

### 9.4.1 Appliquer une fonction (moyenne, variance, ...) sur chaque ligne d'un tableau

```
mean_per_row <- apply(exprs[ , c("WT1", "WT2", "KO1", "KO2")], 1, mean)

mean_per_row <- apply(exprs[ , c(2, 3, 4, 5)], 1, mean)

mean_per_row <- apply(exprs[ , -1 ], 1, mean)

mean_per_row <- apply(exprs[ , which(sapply(exprs, class) != "factor")], 1, mean)

## Warning in mean.default(newX[, i], ...): argument is not numeric or logical:
## returning NA

## Warning in mean.default(newX[, i], ...): argument is not numeric or logical:
## returning NA

## Warning in mean.default(newX[, i], ...): argument is not numeric or logical:
## returning NA
```

[illegible]





```
## Warning in mean.default(newX[, i], ...): argument is not numeric or logical:  
## returning NA
```

```
var_per_row <- apply(exprs[ , c("WT1", "WT2", "KO1", "KO2")], 1, var)
```

#### 9.4.2 Appliquer une fonction (moyenne, variance, ...) sur chaque colonne d'un tableau

```
mean_per_col <- apply(exprs[ , c("WT1", "WT2", "KO1", "KO2")], 2, mean)  
var_per_col <- apply(exprs[ , c("WT1", "WT2", "KO1", "KO2")], 2, var)
```



## Chapter 10

# Intégration des données

### 10.1 Charger les annotations des gènes

```
read.table(file = "annotation.csv")
```

```
##                                     V1
## 1                                id;name;chr;start;stop;strand
## 2          ENSG00000225630;MTND2P28;1;629640;630683;+
## 3    ENSG00000134198;TSPAN2;1;115048011;115089500;-
## 4    ENSG00000116199;FAM20B;1;179025804;179076562;+
## 5    ENSG00000119285;HEATR1;1;236549005;236604504;-
## 6    ENSG00000034510;TMSB10;2;84905625;84906675;+
## 7    ENSG00000198586;TLK1;2;170990823;171231314;-
## 8    ENSG00000157036;EXOG;3;38496127;38542161;+
## 9    ENSG00000157869;RAB28;4;13361354;13484365;-
## 10   ENSG00000250202;RP11-397E7.2;4;86876338;86876652;+
## 11   ENSG00000169570;DTWD2;5;118837322;118988545;-
## 12   ENSG00000269293;ZSCAN16-AS1;6;28121795;28137293;-
## 13   ENSG00000197081;IGF2R;6;159969099;160113507;+
## 14   ENSG00000147274;RBMX;X;136848004;136880764;-
## 15   ENSG00000253991;KB-1562D12.2;8;101528723;101529569;-
## 16   ENSG00000214121;TDPX2;9;12972843;12973438;-
## 17   ENSG00000148090;AUH;9;91213815;91361913;-
## 18   ENSG00000148248;SURF4;9;133361449;133376166;-
## 19   ENSG00000064201;TSPAN32;11;2301997;2318200;+
## 20   ENSG00000183161;FANCF;11;22622519;22626787;-
## 21   ENSG00000121680;PEX16;11;45909669;45918812;-
## 22   ENSG00000254470;AP5B1;11;65775893;65780802;-
```

```

## 23      ENSG00000135452;TSPAN31;12;57738013;57750211;+
## 24      ENSG00000251106;FAM206BP;13;46270077;46270617;+
## 25      ENSG00000118939;UCHL3;13;75549480;75606020;+
## 26      ENSG00000238241;CCR12P;13;99407781;99409062;-
## 27      ENSG00000129562;DAD1;14;22564905;22589269;-
## 28      ENSG00000125384;PTGER2;14;52314305;52328606;+
## 29      ENSG00000159433;STARD9;15;42575659;42720981;+
## 30      ENSG00000104164;BLOC1S6;15;45587123;45615999;+
## 31      ENSG00000140416;TPM1;15;63042632;63071915;+
## 32      ENSG00000167005;NUDT21;16;56429133;56452199;-
## 33      ENSG00000185324;CDK10;16;89680737;89696364;+
## 34      ENSG00000161692;DBF4B;17;44708608;44752264;+
## 35      ENSG00000168517;HEXIM2;17;45160700;45170040;+
## 36      ENSG00000262814;MRPL12;17;81703357;81707526;+
## 37      ENSG00000188985;DHFRP1;18;26170726;26171284;-
## 38      ENSG00000267228;IER3IP1;18;47134656;47176281;-
## 39      ENSG00000267699;RP11-729L2.2;18;50968019;51058144;+
## 40      ENSG00000226742;HSBP1L1;18;79964561;79970822;+
## 41      ENSG00000172216;CEBPB;20;50190734;50192689;+
## 42      ENSG00000175221;MED16;19;867630;893218;-
## 43      ENSG00000065717;TLE2;19;2997638;3047635;-
## 44      ENSG00000129932;DOHH;19;3490821;3500940;-
## 45      ENSG00000105229;PIAS4;19;4007646;4039386;+
## 46      ENSG00000279329;CTD-2553L13.9;19;34675717;34677581;-
## 47      ENSG00000105723;GSK3A;19;42230186;42242625;-
## 48      ENSG00000104783;KCNN4;19;43766533;43781257;-
## 49      ENSG00000196867;ZFP28;19;56538948;56556810;+
## 50      ENSG00000099958;DERL3;22;23834503;23839128;-
## 51      ENSG00000248751;RP1-130H16.18;22;30285238;30299482;-

```

Pas cool...

```
read.table(file = "annotation.csv", sep = ";")
```

##	V1	V2	V3	V4	V5	V6
## 1	id	name	chr	start	stop	strand
## 2	ENSG00000225630	MTND2P28	1	629640	630683	+
## 3	ENSG00000134198	TSPAN2	1	115048011	115089500	-
## 4	ENSG00000116199	FAM20B	1	179025804	179076562	+
## 5	ENSG00000119285	HEATR1	1	236549005	236604504	-
## 6	ENSG00000034510	TMSB10	2	84905625	84906675	+
## 7	ENSG00000198586	TLK1	2	170990823	171231314	-
## 8	ENSG00000157036	EXOG	3	38496127	38542161	+
## 9	ENSG00000157869	RAB28	4	13361354	13484365	-
## 10	ENSG00000250202	RP11-397E7.2	4	86876338	86876652	+



## 11	ENSG00000169570	DTWD2	5	118837322	118988545	-
## 12	ENSG00000269293	ZSCAN16-AS1	6	28121795	28137293	-
## 13	ENSG00000197081	IGF2R	6	159969099	160113507	+
## 14	ENSG00000147274	RBMX	X	136848004	136880764	-
## 15	ENSG00000253991	KB-1562D12.2	8	101528723	101529569	-
## 16	ENSG00000214121	TDPX2	9	12972843	12973438	-
## 17	ENSG00000148090	AUH	9	91213815	91361913	-
## 18	ENSG00000148248	SURF4	9	133361449	133376166	-
## 19	ENSG00000064201	TSPAN32	11	2301997	2318200	+
## 20	ENSG00000183161	FANCF	11	22622519	22626787	-
## 21	ENSG00000121680	PEX16	11	45909669	45918812	-
## 22	ENSG00000254470	AP5B1	11	65775893	65780802	-
## 23	ENSG00000135452	TSPAN31	12	57738013	57750211	+
## 24	ENSG00000251106	FAM206BP	13	46270077	46270617	+
## 25	ENSG00000118939	UCHL3	13	75549480	75606020	+
## 26	ENSG00000238241	CCR12P	13	99407781	99409062	-
## 27	ENSG00000129562	DAD1	14	22564905	22589269	-
## 28	ENSG00000125384	PTGER2	14	52314305	52328606	+
## 29	ENSG00000159433	STARD9	15	42575659	42720981	+
## 30	ENSG00000104164	BLOC1S6	15	45587123	45615999	+
## 31	ENSG00000140416	TPM1	15	63042632	63071915	+
## 32	ENSG00000167005	NUDT21	16	56429133	56452199	-
## 33	ENSG00000185324	CDK10	16	89680737	89696364	+
## 34	ENSG00000161692	DBF4B	17	44708608	44752264	+
## 35	ENSG00000168517	HEXIM2	17	45160700	45170040	+
## 36	ENSG00000262814	MRPL12	17	81703357	81707526	+
## 37	ENSG00000188985	DHFRP1	18	26170726	26171284	-
## 38	ENSG00000267228	IER3IP1	18	47134656	47176281	-
## 39	ENSG00000267699	RP11-729L2.2	18	50968019	51058144	+
## 40	ENSG00000226742	HSBP1L1	18	79964561	79970822	+
## 41	ENSG00000172216	CEBPB	20	50190734	50192689	+
## 42	ENSG00000175221	MED16	19	867630	893218	-
## 43	ENSG00000065717	TLE2	19	2997638	3047635	-
## 44	ENSG00000129932	DOHH	19	3490821	3500940	-
## 45	ENSG00000105229	PIAS4	19	4007646	4039386	+
## 46	ENSG00000279329	CTD-2553L13.9	19	34675717	34677581	-
## 47	ENSG00000105723	GSK3A	19	42230186	42242625	-
## 48	ENSG00000104783	KCNN4	19	43766533	43781257	-
## 49	ENSG00000196867	ZFP28	19	56538948	56556810	+
## 50	ENSG00000099958	DERL3	22	23834503	23839128	-
## 51	ENSG00000248751	RP1-130H16.18	22	30285238	30299482	-

Pas encore parfait.

```
read.table(file = "annotation.csv", sep = ";", header = TRUE)
```

##		id	name	chr	start	stop	strand
## 1	ENSG00000225630	MTND2P28	1	629640	630683	+	
## 2	ENSG00000134198	TSPAN2	1	115048011	115089500	-	
## 3	ENSG00000116199	FAM20B	1	179025804	179076562	+	
## 4	ENSG00000119285	HEATR1	1	236549005	236604504	-	
## 5	ENSG00000034510	TMSB10	2	84905625	84906675	+	
## 6	ENSG00000198586	TLK1	2	170990823	171231314	-	
## 7	ENSG00000157036	EXOG	3	38496127	38542161	+	
## 8	ENSG00000157869	RAB28	4	13361354	13484365	-	
## 9	ENSG00000250202	RP11-397E7.2	4	86876338	86876652	+	
## 10	ENSG00000169570	DTWD2	5	118837322	118988545	-	
## 11	ENSG00000269293	ZSCAN16-AS1	6	28121795	28137293	-	
## 12	ENSG00000197081	IGF2R	6	159969099	160113507	+	
## 13	ENSG00000147274	RBMX	X	136848004	136880764	-	
## 14	ENSG00000253991	KB-1562D12.2	8	101528723	101529569	-	
## 15	ENSG00000214121	TDPX2	9	12972843	12973438	-	
## 16	ENSG00000148090	AUH	9	91213815	91361913	-	
## 17	ENSG00000148248	SURF4	9	133361449	133376166	-	
## 18	ENSG00000064201	TSPAN32	11	2301997	2318200	+	
## 19	ENSG00000183161	FANCF	11	22622519	22626787	-	
## 20	ENSG00000121680	PEX16	11	45909669	45918812	-	
## 21	ENSG00000254470	AP5B1	11	65775893	65780802	-	
## 22	ENSG00000135452	TSPAN31	12	57738013	57750211	+	
## 23	ENSG00000251106	FAM206BP	13	46270077	46270617	+	
## 24	ENSG00000118939	UCHL3	13	75549480	75606020	+	
## 25	ENSG00000238241	CCR12P	13	99407781	99409062	-	
## 26	ENSG00000129562	DAD1	14	22564905	22589269	-	
## 27	ENSG00000125384	PTGER2	14	52314305	52328606	+	
## 28	ENSG00000159433	STARD9	15	42575659	42720981	+	
## 29	ENSG00000104164	BLOC1S6	15	45587123	45615999	+	
## 30	ENSG00000140416	TPM1	15	63042632	63071915	+	
## 31	ENSG00000167005	NUDT21	16	56429133	56452199	-	
## 32	ENSG00000185324	CDK10	16	89680737	89696364	+	
## 33	ENSG00000161692	DBF4B	17	44708608	44752264	+	
## 34	ENSG00000168517	HEXIM2	17	45160700	45170040	+	
## 35	ENSG00000262814	MRPL12	17	81703357	81707526	+	
## 36	ENSG00000188985	DHFRP1	18	26170726	26171284	-	
## 37	ENSG00000267228	IER3IP1	18	47134656	47176281	-	
## 38	ENSG00000267699	RP11-729L2.2	18	50968019	51058144	+	
## 39	ENSG00000226742	HSBP1L1	18	79964561	79970822	+	
## 40	ENSG00000172216	CEBPB	20	50190734	50192689	+	
## 41	ENSG00000175221	MED16	19	867630	893218	-	
## 42	ENSG00000065717	TLE2	19	2997638	3047635	-	

```
## 43 ENSG00000129932      DOHH 19  3490821  3500940  -
## 44 ENSG00000105229      PIAS4 19  4007646  4039386  +
## 45 ENSG00000279329 CTD-2553L13.9 19  34675717  34677581  -
## 46 ENSG00000105723      GSK3A 19  42230186  42242625  -
## 47 ENSG00000104783      KCNN4 19  43766533  43781257  -
## 48 ENSG00000196867      ZFP28 19  56538948  56556810  +
## 49 ENSG00000099958      DERL3 22  23834503  23839128  -
## 50 ENSG00000248751 RP1-130H16.18 22  30285238  30299482  -
```

Parfait !

```
annot <- read.table(file = "annotation.csv", sep = ";", header = TRUE)
```

Vérifier les dimensions

```
dim(annot)
```

```
## [1] 50  6
```

Afficher quelques lignes

```
head(annot)
```

```
##           id      name chr      start      stop strand
## 1 ENSG00000225630 MTND2P28   1    629640    630683      +
## 2 ENSG00000134198  TSPAN2   1 115048011 115089500      -
## 3 ENSG00000116199  FAM20B   1 179025804 179076562      +
## 4 ENSG00000119285  HEATR1   1 236549005 236604504      -
## 5 ENSG00000034510  TMSB10   2  84905625  84906675      +
## 6 ENSG00000198586   TLK1    2 170990823 171231314      -
```

## 10.2 Combien ?

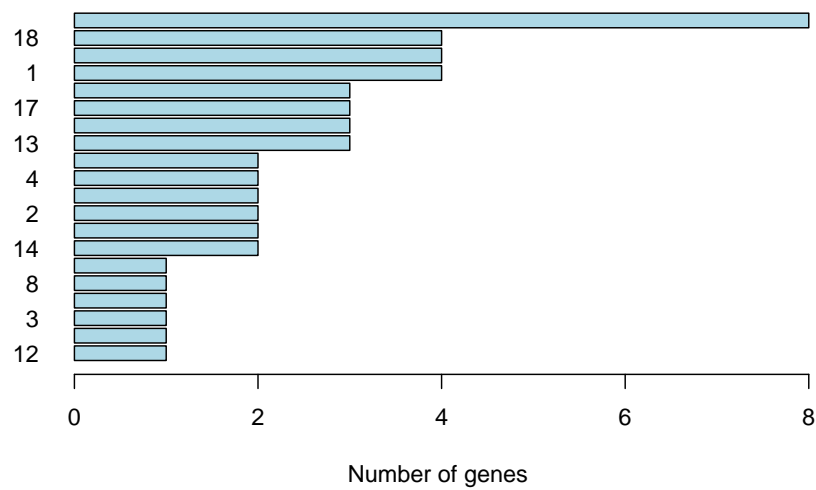
- Combien de gènes sur le chromosome 18 ?
- Combien de gènes sur le chromosome X ?

### 10.2.1 Solution pour y répondre

```
table(annot$chr)
```

```
##
##  1 11 12 13 14 15 16 17 18 19  2 20 22  3  4  5  6  8  9  X
##  4  4  1  3  2  3  2  3  4  8  2  1  2  1  2  1  2  1  3  1
```

```
barplot(sort(table(annot$chr)), horiz = TRUE, las = 1,
        col = "lightblue", xlab = "Number of genes")
```



## 10.3 Ma première bioinformatique intégrative

### 10.3.1 Étape 1 - Fusionner les tableaux d'expressions et d'annotations :

```
?merge
```

```
exprs_annot <- merge(exprs, annot, by = "id")
head(exprs_annot)
```

```
##           id    WT1  WT2    K01  K02  meanWT  meanKO      FC
## 1 ENSG00000034510 235960 94264 202381 91336 165112.0 146858.5 0.8894478
## 2 ENSG00000064201   116   71    64   56    93.5    60.0 0.6417112
```

```
## 3 ENSG000000065717    118    174    124    182    146.0    153.0 1.0479452
## 4 ENSG000000099958    450    655    301    472    552.5    386.5 0.6995475
## 5 ENSG000000104164   4736   5019   4845   4934   4877.5    4889.5 1.0024603
## 6 ENSG000000104783   9002   8623   7720   7142   8812.5    7431.0 0.8432340
##          mean          M          A      name chr      start      stop strand
## 1 155985.25 -0.16901821 17.248576  TMSB10  2  84905625 84906675      +
## 2    76.75 -0.64000386  6.226893  TSPAN32 11  2301997 2318200      +
## 3   149.50  0.06756328  7.223606   TLE2   19  2997638 3047635      -
## 4   469.50 -0.51550605  8.852078   DERL3  22 23834503 23839128      -
## 5  4883.50  0.00354507 12.253699  BLOC1S6 15 45587123 45615999      +
## 6   8121.75 -0.24599498 12.982338   KCNN4 19 43766533 43781257      -
```

### 10.3.2 Étape 2 - Sous-ensemble des lignes pour lesquelles chr vaut 8 :

```
exprs_chr8 <- exprs_annot[which(exprs_annot$chr == 8), ]
print(exprs_chr8)
```

```
##          id WT1 WT2 K01 K02 meanWT meanK0      FC mean      M
## 44 ENSG000000253991  77  78 134  92   77.5   113 1.458065 95.25 0.5440546
##          A      name chr      start      stop strand
## 44 6.548152 KB-1562D12.2   8 101528723 101529569      -
```

### 10.3.3 Exporter exprs\_chr8 dans un fichier

```
write.table(x = exprs_chr8, file = "exprs_chr8.txt",
  sep = "\t",
  row.names = FALSE,
  col.names = TRUE)
```

## 10.4 Visualisation

```
library(plotly)
```

```
##
## Attaching package: 'plotly'
```

```
## The following object is masked from 'package:ggplot2':
```

```
##
```

```
##      last_plot
```

```
## The following object is masked from 'package:stats':
```

```
##
```

```
##      filter
```

```
## The following object is masked from 'package:graphics':
```

```
##
```

```
##      layout
```

```
plot_ly(data = exprs_annot, x = ~A, y = ~M, text = paste("Gene name :", exprs_annot$na
```

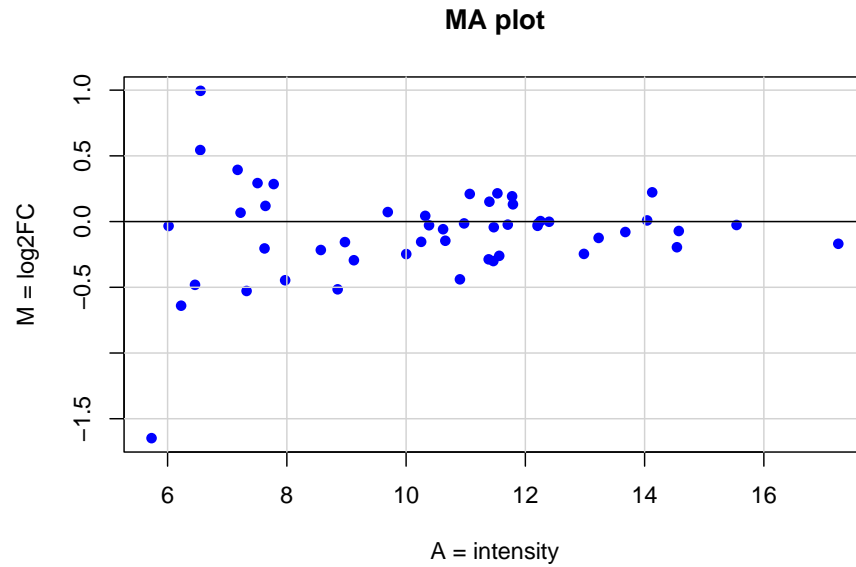
# Chapter 11

## Bonus

Dans cette partie, nous allons produire un même graphe avec différentes approches.

### 11.1 R de base

```
plot(x = exprs$A, y = exprs$M, main = "MA plot",  
     col = "blue", pch = 16, xlab = "A = intensity", ylab = "M = log2FC")  
grid(lty = "solid", col = "lightgray")  
abline(h = 0)
```

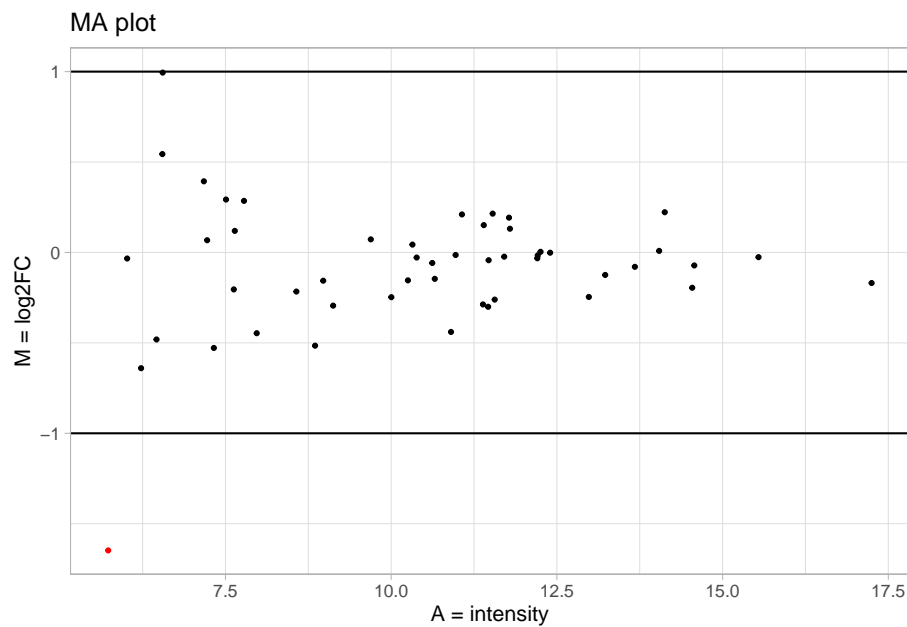


## 11.2 ggplot2

```
library(ggplot2)

g <- ggplot(data = exprs, aes(x = A, y = M)) +
  geom_point(aes(A, M, colour = factor(ifelse(abs(M) <= 1, 1, 2))), size = 0.8) +
  geom_hline(yintercept = c(-1, 1)) +
  scale_color_manual(values = c("black", "red")) +
  ggtitle("MA plot") +
  labs(y = "M = log2FC", x = "A = intensity") +
  theme_light() + theme(legend.position = "none")
g
```





## 11.3 Plotly

### 11.3.1 A partir de ggplot2

```
library(plotly)
ggplotly(g)
```

```
## Warning: `gather_()` was deprecated in tidyr 1.2.0.
## i Please use `gather()` instead.
## i The deprecated feature was likely used in the plotly package.
## Please report the issue at <https://github.com/plotly/plotly.R/issues>.
```

### 11.3.2 En plotly pur

```
plot_ly(data = exprs_annot, x = ~A, y = ~M, text = paste("Gene name :", exprs_annot$name), type =
```

## 11.4 echarts

```
library(echarts4r)
library(dplyr)

exprs %>%
  mutate(interst = ifelse(abs(M) <= 1, 1, 2))|>
  group_by(interst)|>
  e_charts(A) |>
  e_scatter(M, symbol_size=10) |>
  e_legend(FALSE) |>
  e_tooltip() |>
  e_color(
    c("black", "red")
  ) |>
  e_title("MA plot") |>
  e_axis_labels(y = "M = log2FC", x = "A = intensity") |>
  e_toolbox_feature(feature = "saveAsImage") |>
  e_toolbox_feature(feature = "dataZoom") |>
  e_toolbox_feature(feature = "dataView")
```

# Chapter 12

## Conclusion

### 12.1 Take home messages

- Tout est faisable avec R
- **Définir et comprendre l'opération mathématique/statistique** avant de chercher la fonction R correspondante
- R est un langage :
  - plusieurs types et structures de données (out of scope)
  - énormément de commandes à découvrir (out of scope)
  - Google est votre ami
- Une infinité de :
  - ressources en ligne
  - tutoriels pour des analyses spécifiques (e.g. DESeq2 pour le RNA-Seq)

Bonnes pratiques : <https://style.tidyverse.org/syntax.html>

### 12.2 Ressources IFB

- Serveur RStudio: <https://rstudio.cluster.france-bioinformatique.fr/>
- Jupyter lab (inclut un serveur RStudio et plein d'autres choses : <http://jupyterhub.cluster.france-bioinformatique.fr/>
- Une question ? Un besoin ? Un problème ? Contactez la communauté IFB : <https://community.france-bioinformatique.fr/>

## 12.3 Resource

- R : <https://www.r-project.org/>
- RStudio : <https://rstudio.com/>
- R bloggers : <https://www.r-bloggers.com/>
- Thinkr : <https://thinkr.fr/>
- Rstudio Cheatsheets (un tas de thèmes): <https://rstudio.com/resources/cheatsheets/>

