

Przeanalizujemy teraz dane pochodzące z: [GEO Accession viewer \(nih.gov\)](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/). W tym badaniu zbadano profile ekspresji dwóch typów komórek: basal stem-cell enriched cells (B) i committed luminal cells (L) w gruczole sutkowym myszy dziewiczych, ciężarnych i karmiących. Dostępnych jest sześć grup. Każda grupa zawiera dwa replikanty biologiczne.

1. Za pomocą metody **read.delim** otwórz plik *GSE60450_Lactation-GenewiseCounts.txt*
2. Pierwsze dwie kolumny zawierają odpowiednio informacje o ID kolejnych genów oraz ich długości. Stwórz ramkę danych zawierającą jedynie zliczenia (bez tych dwóch kolumn), nazwij wiersze wg pierwszej kolumny oryginalnego pliku.
3. Zmień nazwy kolumn tak aby zawierały tylko 7 pierwszych znaków (metoda **substr**).
4. Wyznacz CPM dla danych (metoda **cpm**).
5. Pozostaw tylko te rekordy w których CPM jest większe niż 0.5 przynajmniej w dwóch kolumnach. Ile wierszy było na początku a ile jest teraz?
6. Narysuj wykres zależności między liczbą zliczeń a CPM dla pierwszej próbki (pierwszej kolumny). Ilu zliczeniom odpowiada wartość progowa CPM = 0.5?
7. Zapisz aktualne zliczenia pod obiektem typu DGEList → pod nazwą dgeObj.
8. Zastosuj metodę **plotMDS** do dgeObj. Skomentuj wykres.
9. Zastosuj normalizację TMM; nadpisz obiekt dgeObj.
10. Narysuj wykres MD dla próbki nr 7.
11. Stwórz macierz eksperymentu. Przeanalizuj poniższy kod i końcową macierz

```
sampleinfo <- read.delim("data/SampleInfo_Corrected.txt")
```

```
group <- paste(sampleinfo$CellType,sampleinfo$Status,sep=".")
```

```
group <- as.character(group)
```

```
type <- sapply(strsplit(group, ".", fixed=T), function(x) x[1])
```

```
status <- sapply(strsplit(group, ".", fixed=T), function(x) x[2])
```

```
design <- model.matrix(~ type + status)
```

```
design
```

12. Wyznacz dyspersję i narysuj wykres.
13. Zbuduj model liniowy (w oparciu o utworzoną macierz eksperymentu)
14. Porównaj luminal vs basal. Wskaż top10 genów różnicujących.
15. Porównaj virgin vs lactate. Wskaż top10 genów różnicujących.