

Multi-omics data analysis and visualisation, #1

HUST Bioinformatics course series

Wei-Hua Chen (CC BY-NC 4.0)

30 August, 2022

section 1: TOC

Course contents

- ① 开发平台相关软件安装
- ② R 基础知识
- ③ 数据处理
- ④ 做图
- ⑤ 常见组学数据和分析、可视化方法
- ⑥ 机器学习在组学分析当中的应用

机器学习（重点新增内容）

内容

- 基础知识
- 应用示例

现有工作介绍

- 宁康：人工智能赋能菌群大数据挖掘
- 郭安源：表达数据分析
- 薛宇：机器学习在新冠标志物和图像识别当中的应用
- 陈卫华：机器学习在肠道菌群为基础的疾病标志物挖掘当中的应用

宁康



Figure 1: 宁康教授在热心肠先生的主题报告

SOHU 页面

ImmCellAI: A Unique Method for Comprehensive T-Cell Subsets Abundance Prediction and its Application in Cancer Immunotherapy

Ya-Ru Miao, Qiong Zhang, Qian Lei, Mei Luo, Gui-Yan Xie, Hongxiang Wang,
and An-Yuan Guo*

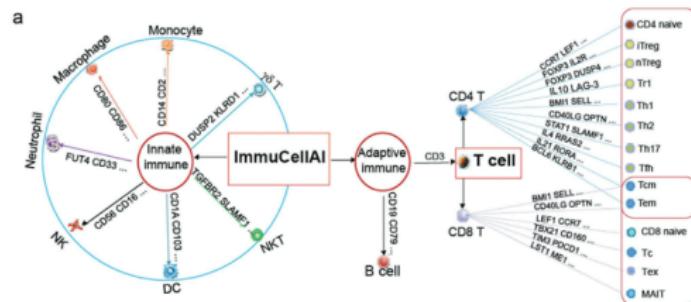


Figure 2: Advanced Science (2019 IF: 15.84)

截止 2022 年 8 月 30 日，已被引用 321 次 (Google Scholar)

薛宇

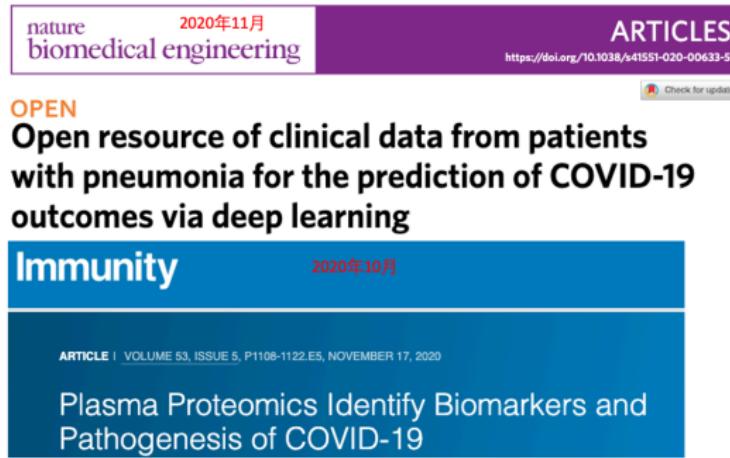


Figure 3: Nature BME & Immunity (IF=29, 43)

机器学习在新冠标志物和图像识别当中的应用

陈卫华

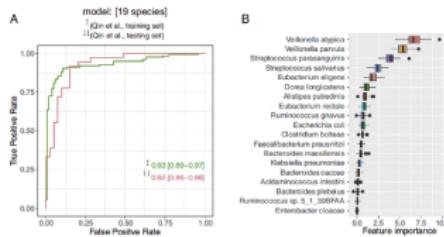
Cell Metabolism

2021年3月

CellPress

Letter

Treatment regimens may compromise gut-microbiome-derived signatures for liver cirrhosis

Sicheng Wu,^{1,6} Puzi Jiang,^{1,6} Xing-Ming Zhao,^{2,3,4,*} and Wei-Hua Chen^{1,5,*}**Figure 4:** Cell Metabolism (IF: 31)

机器学习在肠道菌群为基础的疾病标志物挖掘当中的应用

用肠道菌群 profile 一次诊断多种疾病

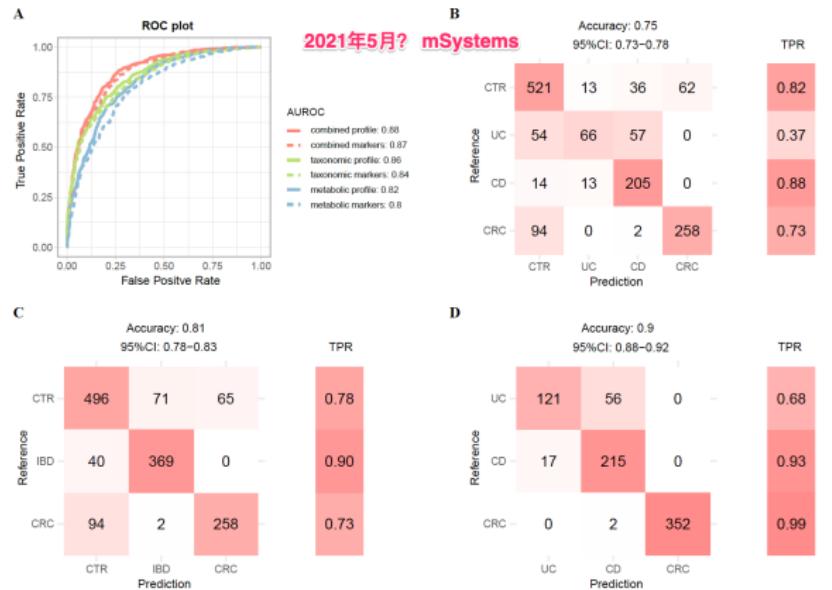


Figure 5: mSystems (IF: 7.3)

诊断多种常见肠病的机器学习模型

身体各部位菌群与疾病关系数据库

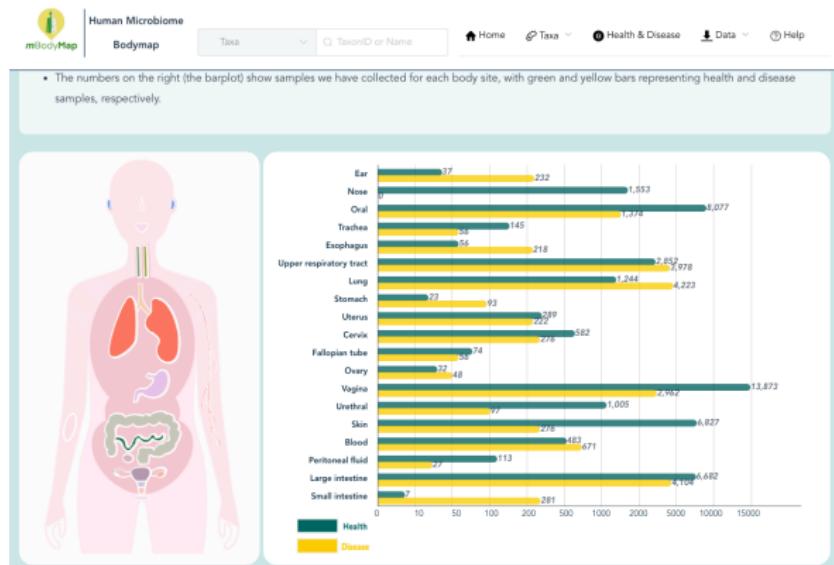


Figure 6: NAR (IF: 19.1)

重点关注（面部）皮肤。与刘智老师合作课题

其它动物的肠道菌群

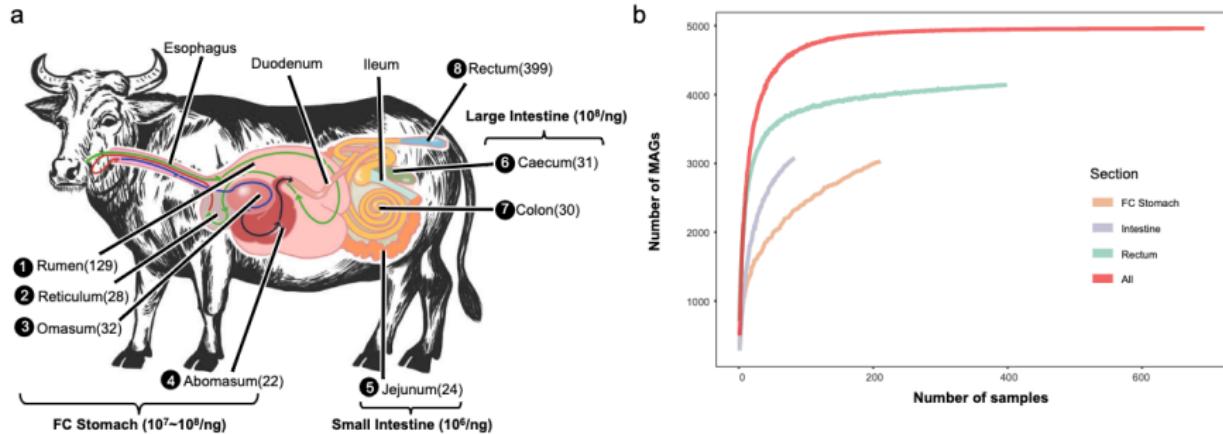


Figure 7: NC (IF: 17.7)

噬菌体研究

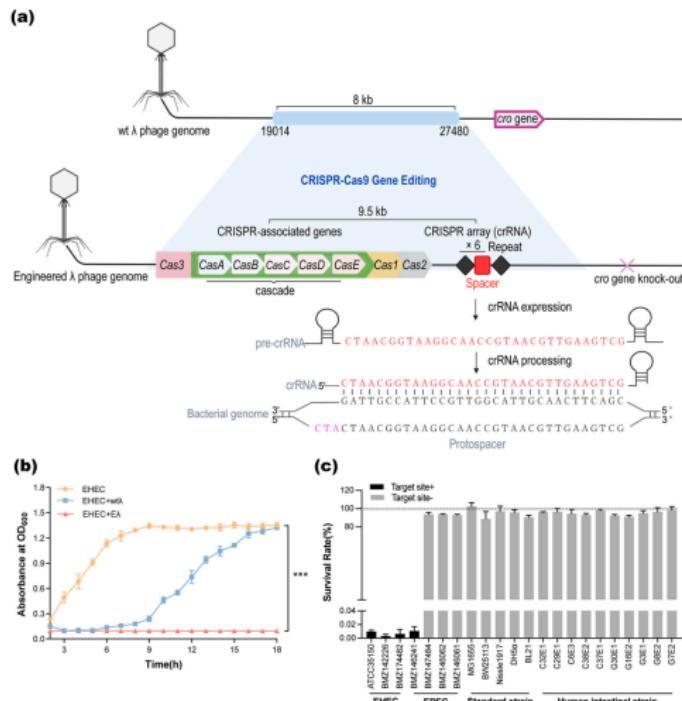


Figure 8: Microbiology Spectrum (IF: 9)

Class rules

- ① 每次随机点名
- ② 课堂随机提问
- ③ 每人有 1 次无理由缺课机会
- ④ 考试、平时成绩各占总成绩的 50%

注：严格按以上进行，如多次表现不好，可能会不及格

作业和扣分规则

- ① (几乎) 每次课后都有作业;
- ② 直接从平时成绩 50 分中扣除;
- ③ 作业迟交三天以内每次扣 3 分; 七天以内每次 5 分; 七天及以上每次 10 分;
- ④ 每人有一次迟交机会 (3 天以内), 不扣分。
- ⑤ 老师有最终解释权

考试

- ① 开卷；允许带资料、书籍，不允许带手机电脑 pad 等电子设备
- ② 内容都在 ppt 上或作业里，不会超纲
- ③ 考试时允许零星英文，但不允许大段英文（抄 ppt）
- ④ 老师有最终解释权

section 2: why choose R?

R 语言简史

1993 到 2000 这段时间 R 只在小范围内流传。2000 年之后开始大爆发，用户数量直线上升。除去 R 本身的优秀之外，这种爆发与多个因素有关，比如自由软件的兴起，Linux 的成熟等等；经济危机也促进大家采用免费的自由软件替代统计领域的传统强者如 SPSS、SAS 和 Matlab 等（注：均为收费软件）。

首先，越来越多的学术文章使用 R 作为分析工具。根据来自著名学术搜索引擎 Google Scholar（谷歌学术）的数据，R 的流行趋势有以下两个特点：1) 在学术领域的市场份额逐年增加，且增势迅猛，2) R 是为数不多市场份额增加的统计软件之一。

接下来我们就用 R 把这个趋势画出来！如下面代码所示，所需代码包括 4 个部分：装入所需要的包，读取数据，处理数据和作图。运行这段代码，既专业又美观的图片就生成了！

R 的流行性调查

代码

```
library("ggplot2"); library("reshape2");

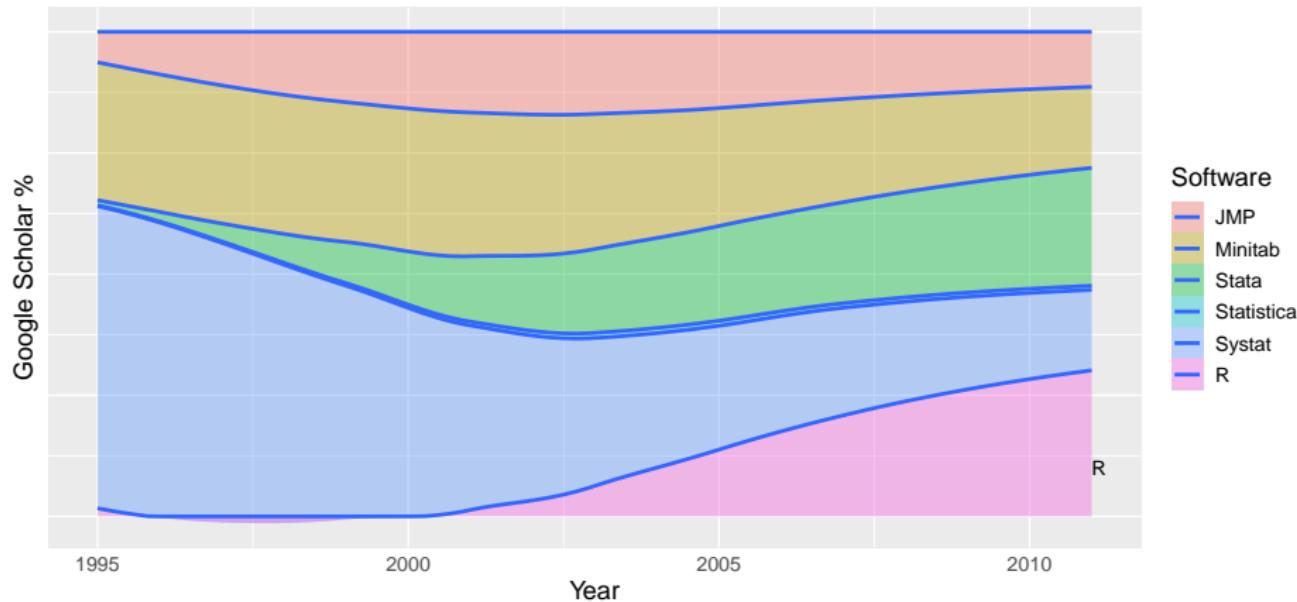
dat <- read.csv(file = "data/talk01/chaper01_preface_scholarly_impact_2012.4.9.csv");

cols.subset <- c("Year", "JMP", "Minitab", "Stata", "Statistica", "Systat", "R");
Subset <- dat[, cols.subset];
ScholarLong <- melt(Subset, id.vars = "Year");
names(ScholarLong) <- c("Year", "Software", "Hits");

plot1 <-
  ggplot(ScholarLong, aes(Year, Hits, group=Software)) + # 准备
  geom_smooth(aes(fill=Software), position="fill", method="loess") + # 画图
  ggtitle("Market share") + # 设置图标题
  scale_x_continuous("Year") + # 改变 X 轴标题
  scale_y_continuous("Google Scholar %", labels = NULL) +
  theme(axis.ticks = element_blank(), text = element_text(size=14)) +
  guides(fill=guide_legend(title = "Software", reverse = F)) +
  geom_text(data = data.frame(Year = 2011, Software = "R", Hits = 0.10),
            aes(label = Software), hjust = 0, vjust = 0.5);
```

Market share, result

Market share



注：这里移除了市场占有率较大的 SAS 和 SPSS

R 的招聘趋势

其次，统计分析相关工作的招聘信息中要求申请者会用 R 的也越来越多了。根据美国招聘搜索引擎 indeed.com 的数据，自 2005 年（此搜索引擎提供的最早数据）起，需要用到 R 的招聘信息占总体招聘的比例逐年上升，目前仅排在 SAS 和 Matlab 之后，处于第 3 位。而且，除了 Stata 之外，R 是唯一一个占比上升。

同样的，我们用 R 把这个趋势画出来！

R job trends

代码

```

library("ggplot2"); ## 主作图包

##2. -- 读取数据 --
dat <- read.table(file ="data/talk01/chaper01_preface_indeed_com_stats_2015.txt",
                  header = T, as.is = T);

##3. 处理数据
dat$date <- as.Date(dat$date); ## 把第一列改为日期

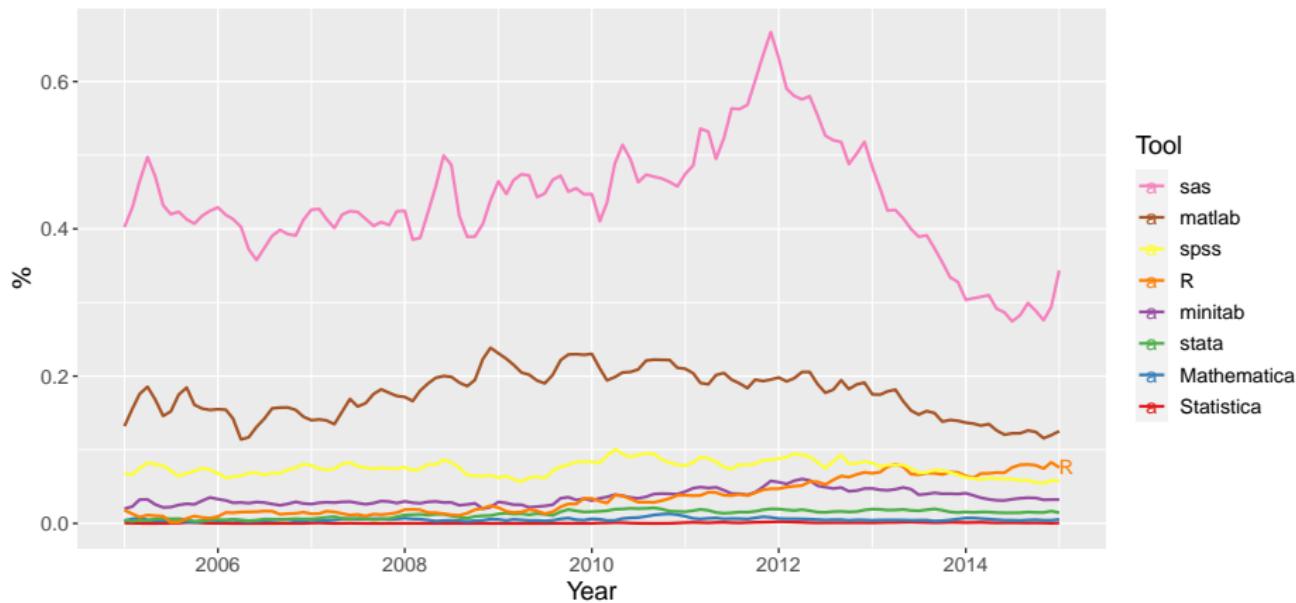
# 根据 job 对 software 进行调整
dat <- transform(dat, software = reorder(software, job));

plot2 <-
  ggplot( dat, aes( date, job, group = software, colour = software) ) +
  geom_line( size = 0.8 ) +
  ggtitle("Job trends (data from indeed.com)") + # 设置图标题
  xlab("Year") + ylab("%") +
  # 改变字体大小; 要放在 theme_grey() 后面
  theme( text = element_text(size=14) ) +
  guides(colour=guide_legend( title = "Tool", reverse = TRUE )) +
  scale_colour_brewer(palette="Set1") + # 改变默认颜色
  geom_text(data = dat[dat$date == "2015-01-01" & dat$software %in% c("R"), ],
            aes(label = software), hjust = 0, vjust = 0.5);

```

R job trends, plot

Job trends (data from indeed.com)



Popularity of Programming language 2020

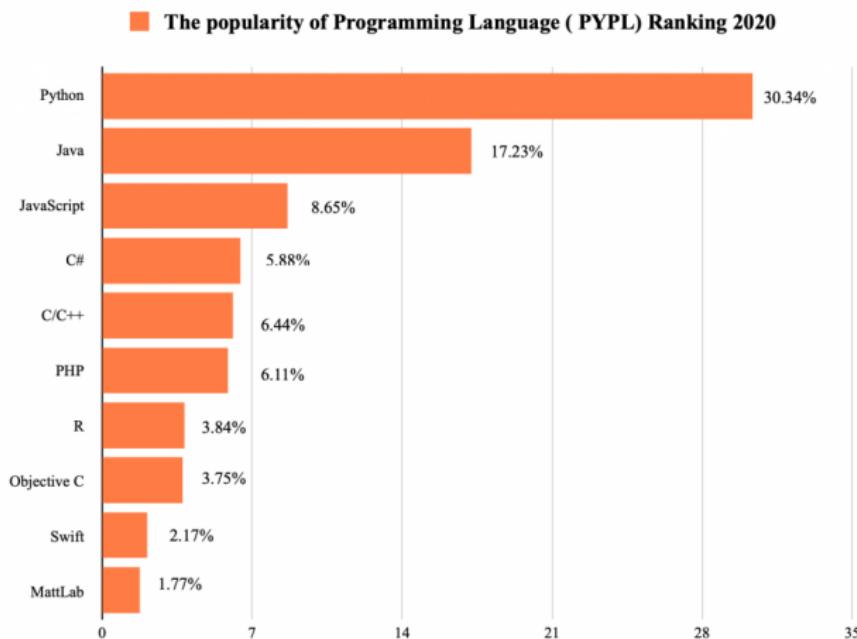


Figure 9: PYPL ranking (<https://pypl.github.io/>)

Programming languages for bioinformatics

Perl 或 Python

- 强大的文本处理能力（包括序列）
- 不错的运行速度（尤其是 Python）
- 强大的生信和统计学扩展包（尤其是 Python）
- 方便的并行计算

R

- 强大的格式数据处理能力（二维表格, dplyr）
- 无以伦比的统计学专业性
- 专业而好看的数据可视化软件（ggplot2）
- 专业的生信扩展包（Bioconductor）
- 超级好用的整合开发环境 IDE（RStudio）

我用过的 programming languages

- - C
- - Perl
- - R
- - PHP
- - Java
- - MySQL
- - HTML
- - Javascript

Evolview ver3.0

cited 225 times in 2021 (ver2+3),
166 so far (as of Aug 30, 2022)

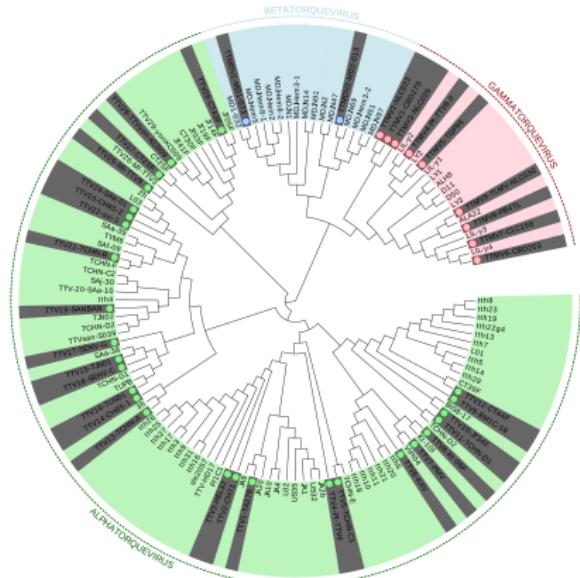


Figure 10: .Evolview showcase 3

网站链接、参考文献和扩展阅读

综上所述，R 已经是最流行的免费统计分析软件，排名仅在几个传统的分析软件之后，而且大有赶超它们的趋势。学好 R，不仅有助于在学术研究领域的发展，对找工作也有不少的帮助。

- R 的官方网站: <http://www.r-project.org>
- R 档案综合网络，即 CRAN(Comprehensive R Archive Network):
<http://cran.r-project.org/>
- ggplot2: <http://ggplot2.org/>
- RStudio: <http://www.rstudio.com/>
- 如何从 Google Scholar 抓取引用数据:
<http://librestats.com/2012/04/12/statistical-software-popularity-on-google-scholar/>
- indeed 招聘趋势: www.indeed.com/jobtrends
- R for data science: <https://r4ds.had.co.nz> (必读!!)

Section 3: setting up working environment

Install R

Go to <https://mirrors.tuna.tsinghua.edu.cn/CRAN/> (清华镜像), R supports mainstream operating systems including Linux, Windows and MacOS, please download the corresponding installation files according to the operating system. As shown in the figure below:

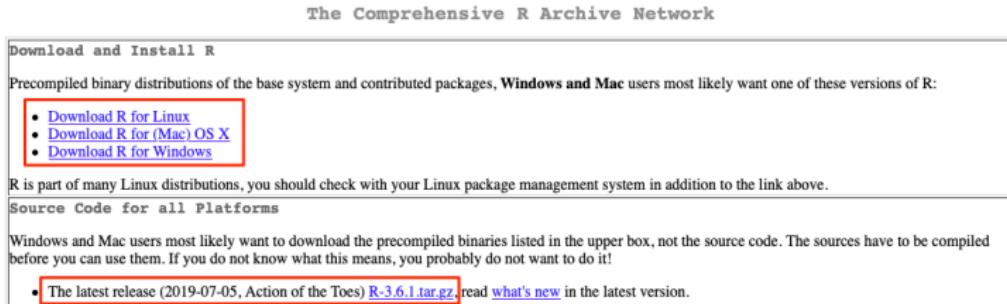


Figure 11: Select the appropriate installation package

New version of Mac OS X needs to be installed

XQuartz (<http://xquartz.macosforge.org/landing/>)。某些还需要用到 Xcode, 可以从 App Store 免费安装。

Install R on Linux

目前大多 Linux 发行版都带有 R，因此可直接使用。从 CRAN 下载文件进行安装稍嫌复杂，要求用户对 Linux 系统有一定的了解，而且需要有管理员权限。建议初级用户在 Linux 高手指导下安装。点击上图中的"Download R for Linux" 后，发行版为 Redhat（红帽）或 Suse 的用户要先阅读网站上提供的 readme 或 readme.html 文件，然后其中的指示进行安装。这里就不再累述了。

r-base-core_3.1.3-1lucid_amd64.deb 或 r-base-core_3.1.2-1lucid0_i386.deb
----- ----- ----- ----- -----
1 2 3 4 5 1 2 3 4 5

Figure 12: R 安装包文件名

R studio

RStudio 可以从 <http://www.rstudio.com/products/rstudio/download/> 下载，支持等主流的操作系统。

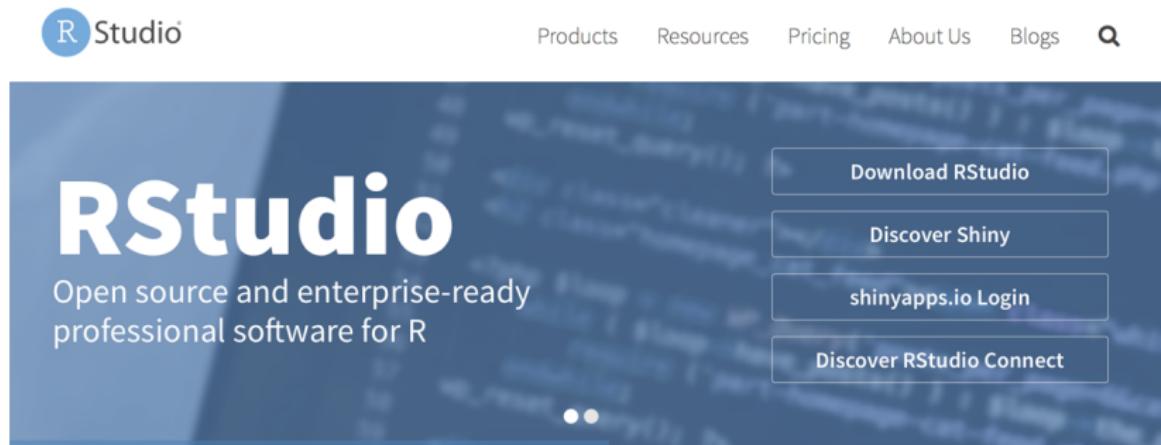


Figure 13: RStudio website main page

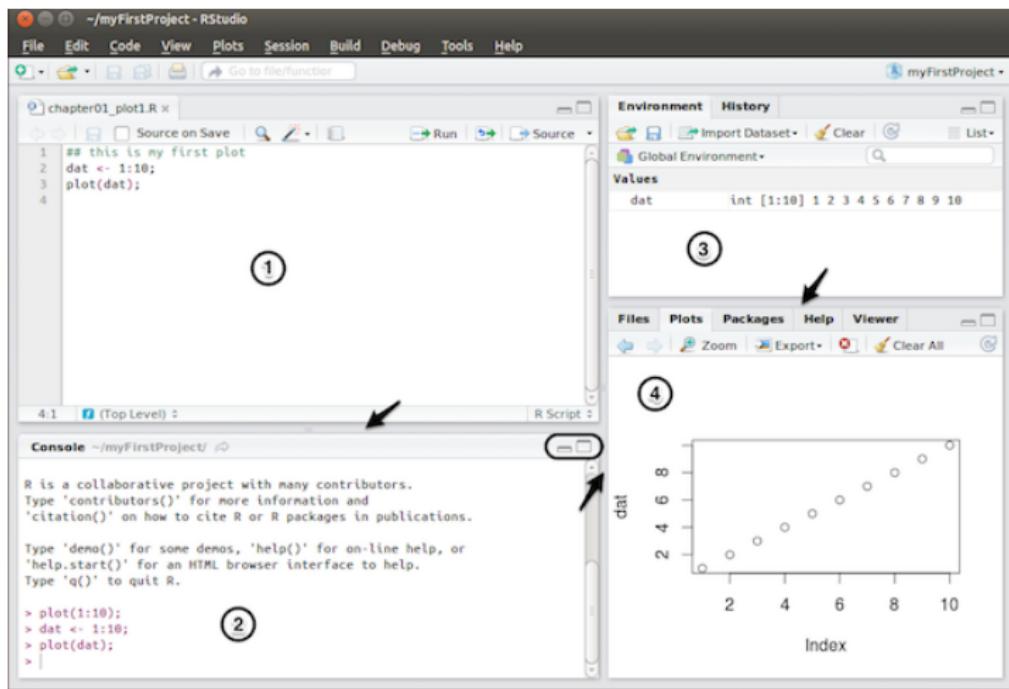
R studio versions

RStudio 有商业和免费版本；也有 server 版

	RStudio Desktop Open Source License	RStudio Desktop Commercial License	RStudio Server Open Source License	RStudio Server Pro Commercial License	RStudio Server Pro + RStudio Connect Commercial License
	FREE DOWNLOAD Learn More	\$995 per year BUY Learn More	FREE DOWNLOAD Learn More	\$9,995 per year DOWNLOAD Learn More	\$29,995 per year TALK Learn More
Integrated Tools for R	●	●	●	●	●
Priority Support		●		●	●
Access via Web Browser			●	●	●
Enterprise Security				●	●
Project Sharing				●	●

R studio, cont.

RStudio 运行时的界面如下图所示，除了顶部的菜单栏工具栏之外，主界面还包括 4 个子窗口：



R studio, cont.

1. 代码编辑器

- 具有代码编辑、语法高亮、代码和变量提示、代码错误检查等功能
- 选中并向 R 控制台（窗口 2）发送并运行代码。用快捷键 Ctrl+Enter (MacOS 下是 Cmd+Enter) 进行代码发送。没有代码选中时，发送光标所在行的代码
- 可同时打开编辑多个文件
- 除 R 代码外，还支持 C++、R MarkDown、HTML 等其它文件的编辑
- 也可用于显示数据

2. R console

- 可在此直接输入各种命令并查看运行结果。支持代码提示

3. 变量列表及代码运行的历史记录

R studio, cont.

4. 其它窗口

- 当前工作目录下的文件列表
- 作图结果
- 可用和已安装的扩展包：在这里可以直接安装新的和升级已有的扩展包
- 帮助

注意，子窗口之间可以通过快捷键 $\text{Ctrl} +$ 子窗口编号进行切换。如 $\text{Ctrl} + 1$ 可以切换到代码编辑子窗口， $\text{Ctrl} + 2$ 则切换到 R 控制台。

其它特点

- 创建、管理 projects

R studio 特点详解

代码提示/自动完成

子窗口 1 和 2 都提供有代码提示功能，即：用户输入 3 个字母时，RStudio 会列出所有前 3 个字母相同的变量或函数名供用户选择；用户可通过键盘的上下键选择，然后用 Enter（回车）选定，非常方便。变量或函数名前面的小图标表示了它们的类型；如果当前高亮的是函数，RStudio 还会显示其部分帮助内容。

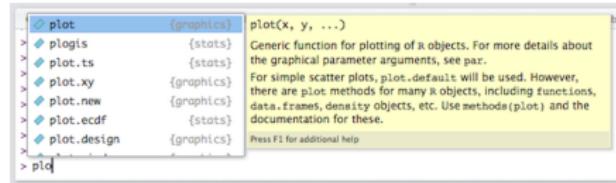


Figure 15: R studio code autocomplete

R studio 特点详解, cont.

查看变量内容

子窗口 3 内会列出所有当前使用的变量、变量的类型以及大小，如下图：

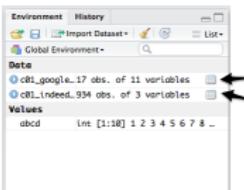


Figure 16: loaded variables

有些简单变量，如数组，RStudio 会直接显示其部分值；对于复杂一些的变量，比如 `data.frame`（类似于二维表格），则可以点击变量名前边的小三角标识展开其内容。当变量的最右侧出现小网格状图标时（如上图箭头所指位置），点击它们后可以在子窗口 2 内察看。

R studio 特点详解, cont.

导出作图并选择导出格式

RStudio 的第 4 子窗口里集中了许多有用的功能，组织在不同的'Tab'（标签）内。比如作图（plots），不仅可以察看画图的结果，还可以导出当前图像至硬盘，或拷贝至剪贴板；如下图所示。支持导出格式有 png 和 pdf。

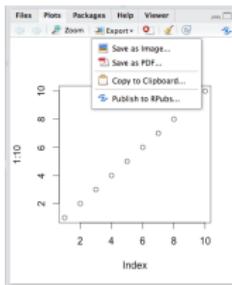


Figure 17: export active plot to various graphical formats

R studio 特点详解, cont.

查看已安装的包

通过第 4 子窗口的“包”(Packages)标签内的工具，用户可以很方便的查看已安装的包：

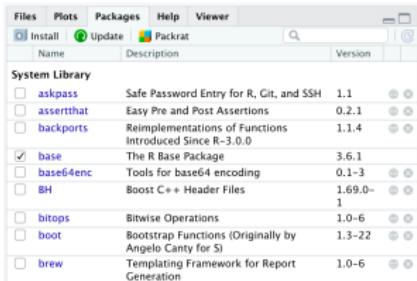


Figure 18: Check installed packages

install new package(s)

同样通过第 4 子窗口的“包”(Packages)标签内的工具，安装新的包：

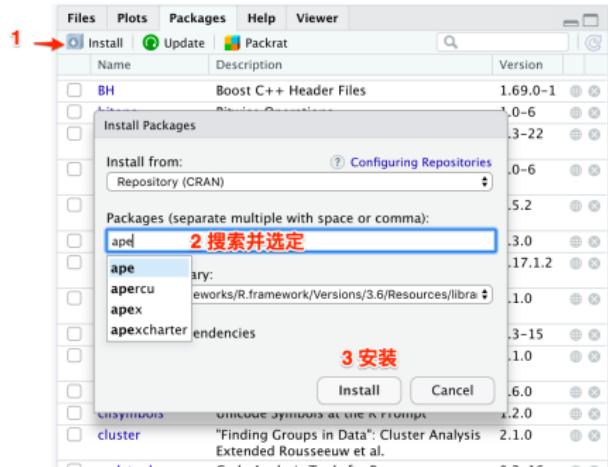


Figure 19: install new package

Packages needed for this study

大部分包都由 RStudio 公司提供；包括：ggplot2, tidyverse, readr, stringr 等。可以用以下命令一次性安装。不过，为方便读者直接从后面章节阅读，在每一次使用新包时，我们会再次进行提示安装方法。

```
install.packages( c("ggplot2", "tidyverse", "readr", "stringr") );
```

也可以单独安装：

```
install.packages( "ggplot2" ); # 安装作图用的 ggplot2  
install.packages( "tidyverse" ); # 数据处理用等
```

第一次运行命令 `install.packages()` 时，系统会提示选择镜像网站；请选择地理位置上距你最近的镜像（比如中国）。

install packages, cont.

You can also choose your CRAN mirror manually (recommended when installing takes a long time):

```
chooseCRANmirror();
```

```
> chooseCRANmirror()
Secure CRAN mirrors

 1: 0-Cloud [https]          2: Algeria [https]          3: Australia (Canberra) [https]
 4: Australia (Melbourne 1) [https] 5: Australia (Melbourne 2) [https] 6: Australia (Perth) [https]
 7: Austria [https]          8: Belgium (Ghent) [https]        9: Brazil (PR) [https]
10: Brazil (RJ) [https]        11: Brazil (SP 1) [https]       12: Brazil (SP 2) [https]
13: Bulgaria [https]          14: Chile 1 [https]           15: Chile 2 [https]
16: China (Hong Kong) [https] 17: China (Guangzhou) [https] 18: China (Lanzhou) [https]
19: China (Shanghai 1) [https] 20: China (Shanghai 2) [https] 21: Colombia (Cali) [https]
```

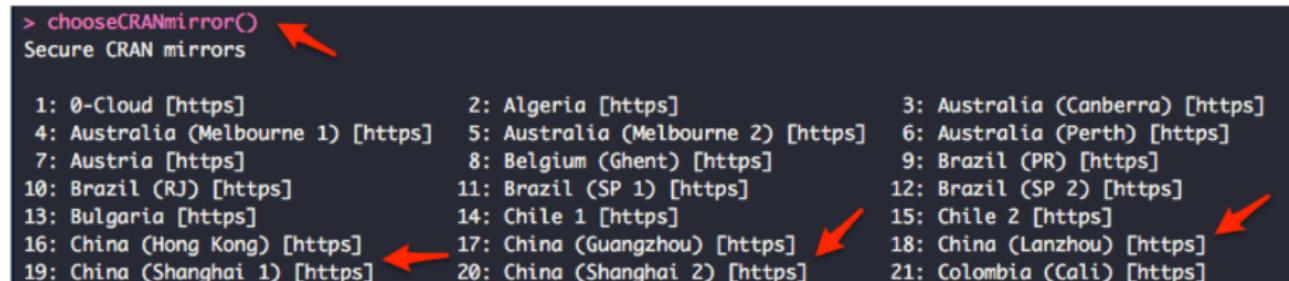


Figure 20: Choose CRAN mirror

You can also use `chooseBioCmirror()`; to choose mirror for BioConductor packages.

Packages needed for this study, cont.

实际上，以上包属于一个 meta-package，我们只需要安装它就可以了：

```
install.packages("tidyverse")
```

它是以下包的集合，都由 <https://www.tidyverse.org> 开发：

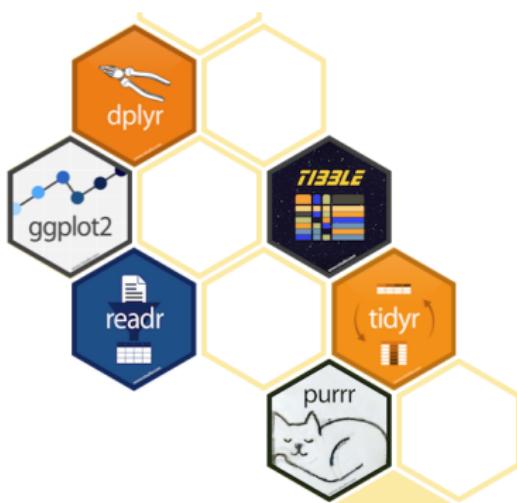


Figure 21: tidyverse: a mega package

R studio server

特点：

- 在服务器上安装，使用服务器的强大计算资源
- 通过网页登录，使用服务器帐号密码（方便，安全）
- 一直运行

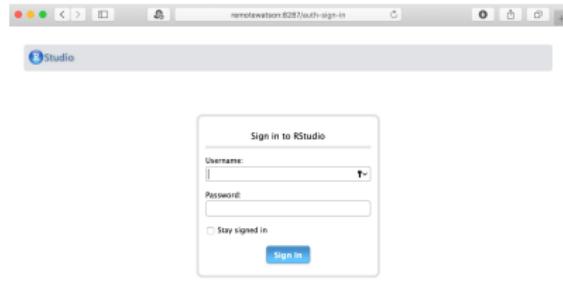


Figure 22: RStudio server web login form (w/ linux account)

R studio server, cont.

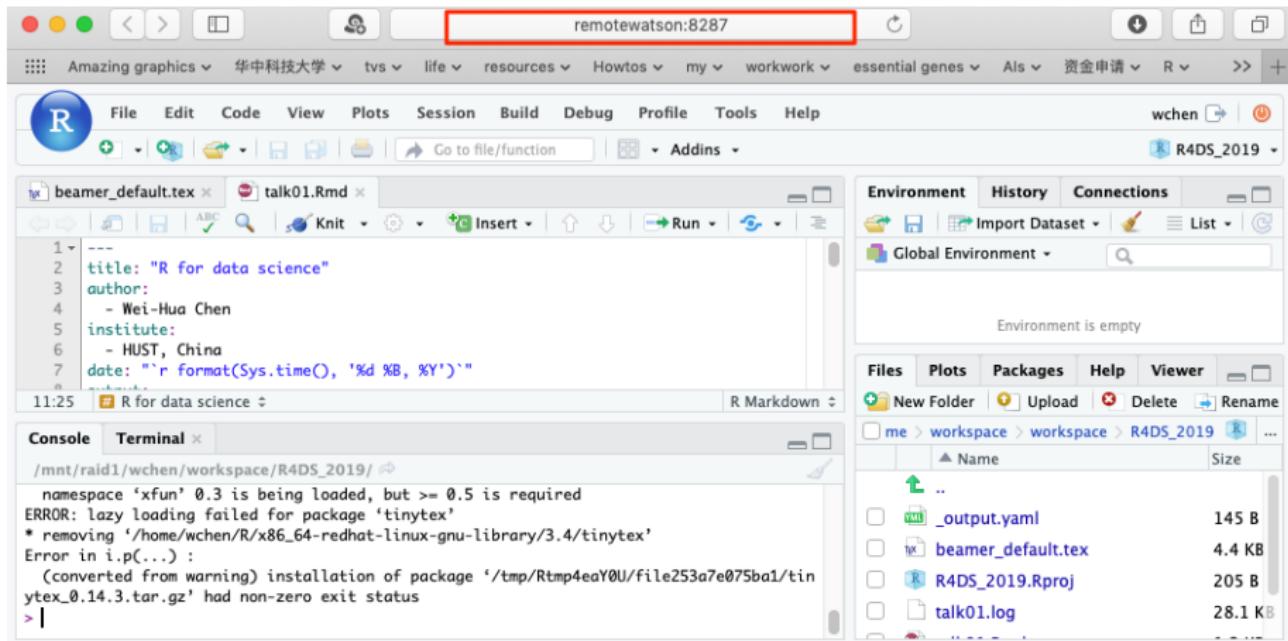


Figure 23: RStudio server 界面 (通过浏览器)

R studio packages for data science

all part of (业界良心) tidyverse

- dplyr: 强大且方便的数据处理
- tydvr: 数据转换工具
- readr: 方便的文件 IO
- stringr: 文本处理
- Tibble: 代替 data.frame 的下一代数据存储格式
- purr: (暂时还未用到的包 ~~)

R studio packages for data visualisation

tidyverse

- ggplot2: 专业好用（但学习曲线很陡）的画图工具
 - <http://ggplot2.tidyverse.org>
 - gallery: <http://www.ggplot2-exts.org/gallery/>

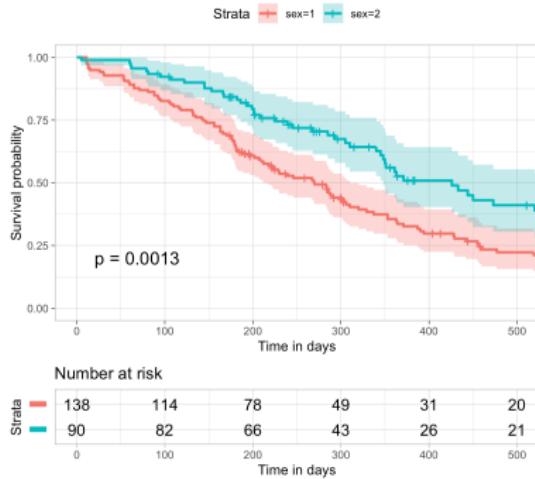


Figure 24: surminer <https://rpkgs.datanovia.com/survminer/index.html>

RStudio packages for data visualisation, cont.

ggvis (currently ver0.4): <http://ggvis.rstudio.com>

- from the **ggplot2** team
- create interactive graphics in RStudio and web browser
- top 50 ggplot2 visualisations

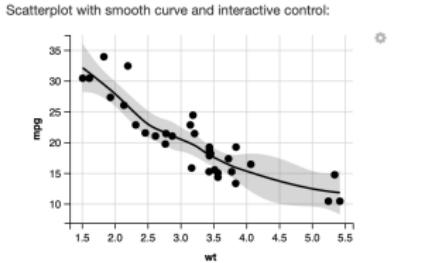
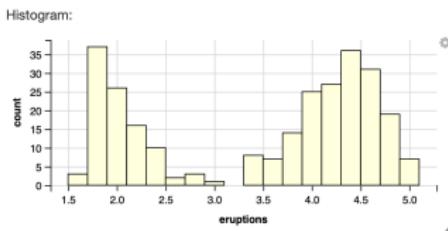


Figure 25: ggvis example plots

RStudio packages for data visualisation, cont.

Shiny: <http://shiny.rstudio.com/gallery/>

- build professional, interactive visualizations
- equipped with popular web widgets
- can be deployed as independent websites

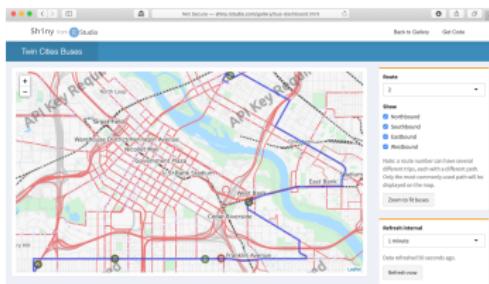


Figure 26: Shiny website example:

<http://shiny.rstudio.com/gallery/bus-dashboard.html>

RStudio packages for data visualisation, cont.

other packages

- rmarkdown : create professional documents
- knitr: convert rmarkdown to pdf, html and more ...

Section 4: HOWTO do homework?

How to do homework and submit the results?

- R 4.0 or newer
- RStudio ver 1.4 or newer
- install packages and tools for converting TEX to PDF

```
install.packages("tinytex");
tinytex::install_tinytex(); ## 安装 tinytex
```

如果出现错误，可以先下载 TinyTex.zip 文件，在 R 中运行：

```
tinytex:::install_prebuilt("/path/to/TinyTex.zip");
```

How to do homework and submit the results? cont.

- Download the whole course from GITHUB (<https://github.com/evolgeniusteam/R-for-bioinformatics>); better to use **GitHub Desktop** app to fetch and sync with the course
- **When using Windows**
 - better to log into an English user name, without spaces or special letters in the user name
 - install **R** and **RStudio** to **default locations**

How to do homework and submit the results? cont.

- Open R for bioinformatics 讲义.Rproj in the downloaded folder using **RStudio**
- Go to Exercises and homework folder in your **RStudio**
- Open talk##-homework.Rmd file using **RStudio**
- Install required packages
 - **tidyverse**
- Do homework
- use Knit to generate PDF file, change its name to 姓名-学号-talk## 作业.pdf
- 通过钉钉，在规定的时间内提交
- 现场演示 ...

Section 5: other tools used in our group

Database tools

- MySQL
- phpmyadmin



Figure 27: phpmyadmin login page using web browser

Database tools, cont.

The screenshot shows the phpMyAdmin interface for a database named 'gmrepo2019_apr6_freeze'. The left sidebar lists various tables under the 'gmrepo2019_apr6_freeze' schema. The main area displays a table of database statistics. The columns include 表 (Table), 操作 (Operations), 行数 (Rows), 类型 (Type), 排序规则 (Collation), 大小 (Size), and 多重 (Multiple). The table shows numerous tables with their respective details.

表	操作	行数	类型	排序规则	大小	多重
data_selector_projects	浏览 结构 搜索 插入 清空 删除	391	InnoDB	latin1_swedish_ci	176 KB	-
data_selector_runs	浏览 结构 搜索 插入 清空 删除	66,110	InnoDB	latin1_swedish_ci	27.7 MB	-
mesh_data	浏览 结构 搜索 插入 清空 删除	237,219	InnoDB	latin1_swedish_ci	36.8 MB	-
projects	浏览 结构 搜索 插入 清空 删除	253	InnoDB	latin1_swedish_ci	272 kB	-
projects_summary	浏览 结构 搜索 插入 清空 删除	253	InnoDB	latin1_swedish_ci	266 kB	-
samples_loaded	浏览 结构 搜索 插入 清空 删除	52,633	InnoDB	latin1_swedish_ci	10.5 MB	-
sample_to_disease_info	浏览 结构 搜索 插入 清空 删除	66,110	InnoDB	latin1_swedish_ci	4.5 MB	-
sample_to_run_info	浏览 结构 搜索 插入 清空 删除	66,110	InnoDB	latin1_swedish_ci	18.0 MB	-
species_abundance	浏览 结构 搜索 插入 清空 删除	5,283,049	InnoDB	latin1_swedish_ci	695.8 MB	-
species_abundance_stats_density	浏览 结构 搜索 插入 清空 删除	121,787	InnoDB	latin1_swedish_ci	29.6 MB	-
species_abundance_summary	浏览 结构 搜索 插入 清空 删除	194,296	InnoDB	latin1_swedish_ci	60.1 MB	-
species_abundance_summary_selected_by_phenotype	浏览 结构 搜索 插入 清空 删除	29,744	InnoDB	latin1_swedish_ci	6.5 MB	-
species_cocurrence	浏览 结构 搜索 插入 清空 删除	2,243,020	InnoDB	latin1_swedish_ci	565.4 MB	-
species_cocurrence_selected	浏览 结构 搜索 插入 清空 删除	195,680	InnoDB	latin1_swedish_ci	23.6 MB	-
species_cocurrence_selected_lite	浏览 结构 搜索 插入 清空 删除	35,631	InnoDB	latin1_swedish_ci	8.5 MB	-
species_cocurrence_selected_lite_summary	浏览 结构 搜索 插入 清空 删除	96	InnoDB	latin1_swedish_ci	92 kB	-
species_cocurrence_selected_summary	浏览 结构 搜索 插入 清空 删除	8,730	InnoDB	latin1_swedish_ci	944 kB	-

Figure 28: phpmyadmin database view

other tools

programming languages

- R
- Python
- Perl

code depository

- Github
- Github desktop
- Atom (general-purpose text editor and more)

web development

- AngularJS
- Vue.js
- Bootstrap
- plot.ly (interactive visualisation)

An example: cross-talking among tools

Here I use the following to show how we process data in our lab:

```
library(RMySQL);
library(dplyr);

## Warning: package 'dplyr' was built under R version 4.1.2

mysql dbname = "r4ds_test";
dbCon <- dbConnect(MySQL(), user="r4ds", password="r4ds",
                   dbname=mysql dbname,
                   unix.socket="/Applications/XAMPP/xamppfiles/var/mysql/mysql.sock");

dat <- dbGetQuery(dbCon, "SELECT * FROM grades");

## -- 任务: 为每个人计算: 平均成绩、上课总数、及格门数、不及格门数
stats <- dat %>% group_by(name) %>%
  summarise( avg_grade = mean(grade), count = n(),
             passed = sum( grade >= 60 ), failed = sum( grade < 60 ) ) %>%
  arrange(-avg_grade);
```

Show the data

name	course	grade
Zhi Liu	Microbiology	100
Zhi Liu	English	50
Zhi Liu	Chinese	69
Weihua Chen	Microbiology	89
Weihua Chen	English	99
Weihua Chen	Bioinformatics	99
Kang Ning	Bioinformatics	100
Kang Ning	Chinese	20
Kang Ning	Chemistry	76

and show the results

name	avg_grade	count	passed	failed
Weihua Chen	95.66667	3	3	0
Zhi Liu	73.00000	3	2	1
Kang Ning	65.33333	3	2	1

section 6: Concluding remarks & 作业

Concluding remarks

本期回顾

- 生信分析必备编程语言
- 强大、专业又好用
- RStudio 及其众多扩展包
- To be continued

下期预告

- 数字和字符串
- 整数、小数、逻辑
- 数据类型之间转换；自动规则
- matrix

About the course

- all codes are available at Github:
<https://github.com/evolgeniusteam/R-for-bioinformatics>

作业

- Exercises and homework 目录下 talk01-homework.Rmd 文件；
- 完成时间：见钉群的要求