

2021 연구데이터 분석과정

생명정보학을 위한 R프로그래밍(중급과정)

한국생명공학연구원 김하성

2021-07-01

Contents

1 강의 개요	5
1.1 참고 교재	5
1.2 참고 자료	5
1.3 강의 계획	5
2 R/Rstudio basics	7
2.1 What is R / Rstudio	7
2.2 R / Rstudio Installation	7
2.3 Rstudio interface	8
2.4 R programming	9
2.5 Terminology	11
2.6 Supports	11
2.7 R packages and Dataset	12
3 Tidyverse for Data science	15
3.1 Tibble object type	15
3.2 Tidy data structure	16
3.3 Pivoting	17
3.4 Separating and uniting	18
3.5 dplyr and pipe operator	19
3.6 dplyr - Important functions	20
3.7 Airquality example	22
4 ggplot2 for data visualization	25
4.1 Basics	25
4.2 Bar graph	26
4.3 Line graph	27
4.4 Smoothing	28
4.5 Statistics and positions	29
4.6 Facets	30
4.7 Themes, Labels, and Scales	31
4.8 ggplot examples	34
5 Day1 강의 정리	45
5.1 Class 1 - 기초, 사용법, 프로그래밍	45
5.2 Class 2 - 데이터의 이해	46
5.3 class 3 - 데이터 형변환의 이해	47

6 Bioconductor	51
6.1 Packages	51
6.2 Learning and support	52
6.3 Class, Object and Method	53
6.4 Bioconductor의 OOP	54
7 Working with DNA sequences	55
7.1 Biostrings	55
7.2 Sequences from NCBI	61
7.3 Sequence statistics	62
7.4 Align two sequences	64
8 Day2 강의 정리	65
8.1 Class 1 - ggplot 활용 1	65
8.2 Class 2 - ggplot 활용 2	67
8.3 class 3 - S3 클래스 학습	68
8.4 class 4 - Biostrings 활용	69
9 Working with DNA sequences II	71
9.1 Sequences from NCBI	71
9.2 Pattern matching	72
9.3 Align two sequences	72
9.4 Multiple sequence alignment	73
9.5 Phylogenetic trees with clustering	73
10 Genomic data analysis	75
10.1 IRanges	75
10.2 Genomic ranges	76
10.3 ORFinder with Docker	77
11 Day3 강의 정리	79
11.1 Class 1 - NCBI 서열 download	79
11.2 class 2 - sequence alignment	80
11.3 class 3 - genomic data with ranges	82
11.4 class 4 - ORFinder with docker	84
12 References	87

Chapter 1

강의 개요

- 장소: 코빅 3층 전산교육장(1304호)
- 강사: 한국생명공학연구원 바이오합성연구센터 김하성
- 연락처: 042-860-4372, haseong@kribb.re.kr (생명연 연구동 1143)
- 강의자료: <https://greendaygh.github.io/kribbr2021/>

1.1 참고 교제

- Using R for Introductory Statistics by John Verzani
 - Free version of 1st Edition
 - Second edition
- R for Data Science
- Bioinformatics Data Skills by Vince Buffalo
- Introductory Statistics with R by Dalgaard
- 일반통계학 (영지문화사, 김우철 외)

1.2 참고 자료

- R 홈페이지
- Rstudio 홈페이지
- Bioconductor
- R 기본 문서들
- R ebooks
- Cheat Sheets
- RStudio Webinars
- Shiny
- Hadley github

1.3 강의 계획

- Day1 - R, Rstudio Basics, Tindyverse
- Day2 - Bioconductor, Sequence data analysis
- Day3 - High-throughput sequence data
- Day4 - Annotation

Chapter 2

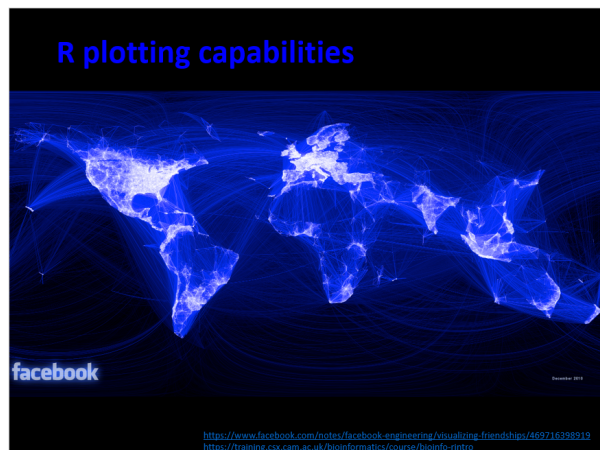
R/Rstudio basics

2.1 What is R / Rstudio

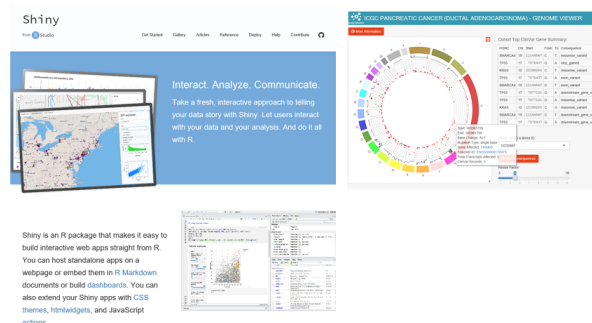


R은 통계나 생물통계, 유전학을 연구하는 사람들 사이에서 널리 사용되는 오픈소스 프로그래밍 언어입니다. Bell Lab에서 개발한 S 언어에서 유래했으며 많은 패키지가 (다른 사람들이 만들어 놓은 코드) 있어서 쉽게 가져다 사용할 수 있습니다. R은 복잡한 수식이나 통계 알고리즘을 간단히 구현하고 사용할 수 있으며 C, C++, Python 등 다른 언어들과의 병행 사용도 가능합니다.

R은 통계분석에 널리 사용되는데 이는 데이터 가시화를 위한 그래픽 기능이나 벡터 연산 등의 편리함 때문에 점점 더 많은 사람들이 사용하고 있습니다. 기존에는 느린 속도나 부족한 확장성이 다른 언어들에 비해 단점으로 지적되었으나 R 언어의 지속적인 개발과 업데이트로 이러한 단점들이 빠르게 극복되고 있습니다. R 사용을 위해서는 R 언어의 코어 프로그램을 먼저 설치하고 그 다음 R 언어용 IDE인 RStudio 설치가 필요합니다.



Interactive web applications



2.2 R / Rstudio Installation

2.2.1 R 설치

- R 사이트에 접속 후 (<https://www.r-project.org/>) 좌측 메뉴 상단에 위치한 CRAN 클릭.
- 미러 사이트 목록에서 Korea의 아무 사이트나 들어감
- Download R for Windows를 클릭 후 base 링크 들어가서
- Download R x.x.x for Windows 링크 클릭으로 실행 프로그램 다운로드 - 로컬 컴퓨터에 Download 된 R-x.x.x-win.exe 를 실행
- 설치 가이드에 따라 R 언어 소프트웨어 설치 완료

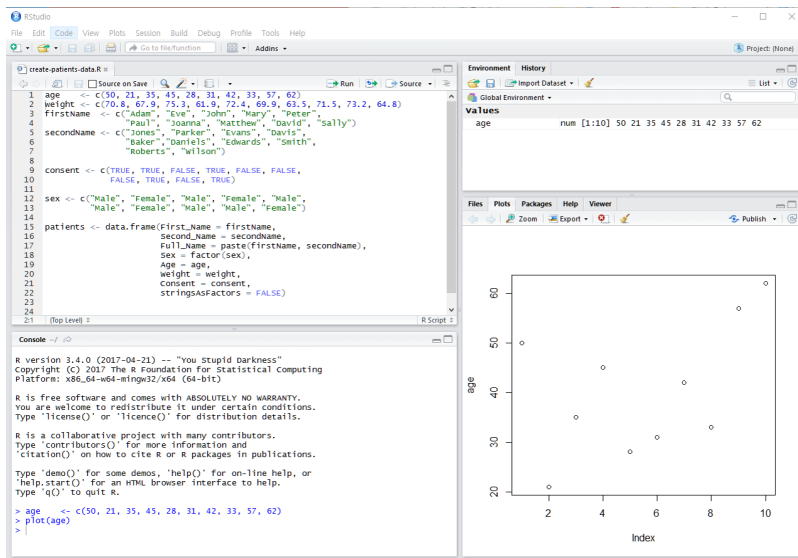
2.2.2 Rstudio 설치

Rstudio는 R 언어를 위한 오픈소스 기반 통합개발환경(IDE)으로 R 프로그래밍을 위한 편리한 기능들을 제공해 줍니다.

- 사이트에 접속 (<https://www.rstudio.com/>), 상단의 Products > RStudio 클릭
- RStudio Desktop 선택
- Download RStudio Desktop 클릭
- RStudio Desktop Free 버전의 Download를 선택하고
- Download RStudio for Windows 클릭, 다운로드
- 로컬 컴퓨터에 다운로드된 RStudio-x.x.x.exe 실행
- 설치 가이드에 따라 설치 완료

2.3 Rstudio interface

- 좌측 상단의 공간은 코드편집창, 좌측 하단은 콘솔창 이며 각 위치를 기호에 따라서 바꿀 수 있습니다.

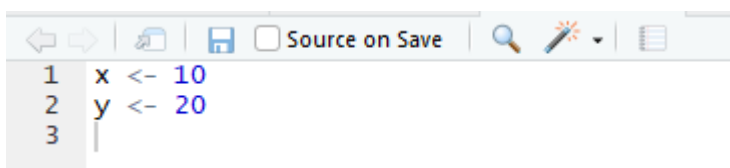


2.3.1 Keyboard shortcuts

- 참고사이트
 - <https://support.rstudio.com/hc/en-us/articles/200711853-Keybaord-Shortcuts>
 - Tools -> Keyboard shortcut Quick Reference (Alt + Shift + K)
- 코드편집창 이동 (Ctrl+1) 콘솔창 이동(Ctrl+2)
- 한 줄 실행 (Ctrl+Enter)
- 주석처리 (Ctrl + Shift + C)
 - 또는 #으로 시작하는 라인

2.3.2 Exercise

1. 코드편집창에서 다음 입력하시오



- 단축키 Ctrl + enter로 코드 실행
- 단축키 Ctrl + 2로 커서 콘솔창으로 이동
- x값 x+y값 확인
- 단축키 Ctrl + 1로 코드편집창 이동
- 단축키 Ctrl + Shift + C 사용


```
# x <- 10
# y <- 20
```

2.3.3 Set a project

- 프로젝트를 만들어서 사용할 경우 파일이나 디렉토리, 내용 등을 쉽게 구분하여 사용 가능합니다. 아래와 같이 원하는 위치에 원하는 이름의 프로젝트를 생성하고 프로젝트를 시작할 때는 해당 디렉토리의 xxx.Rproj 파일을 클릭합니다.
- File > New Project > New Directory > New Project > “kribb-R” > Create Project
- File > New File > R Script > “day1.R”

2.4 R programming

2.4.1 Console calculator

```
2 + 2
((2 - 1)^2 + (1 - 3)^2)^(1/2)
2 + 2; 2 - 2
```

2.4.2 Exercise

다음 공식들을 계산하는 R 코드를 작성하시오

$$\sqrt{(4+3)(2+1)}$$

$$2^3 + 3^2$$

$$\frac{0.25 - 0.2}{\sqrt{0.2(1 - 0.2)/100}}$$

2.4.3 Variables and values

- 프로그래밍 언어의 공통적 개념 , , , ,
- Assignment operator (<- OR =)
 - Valid object name <- value
 - 단축키: Alt + - (the minus sign)

```
x <- 2
y <- x^2 - 2*x + 1
y
x <- "two"
some_data <- 9.8
```

- 내장 변수 Built-in variables

```
pi
```

- 변수이름 작명법
 - 문자, 숫자, “_”, “.” 등으로 구성
 - 대소문자 구분
 - 가독성, 의미있는 변수 이름
 - 길이 제한 없음

```
i_use_snake_case <- 1
otherPeopleUseCamelCase <- 2
some.people.use.periods <- 3
And_aFew.People.RENOUNCEconvention <- 4
```

- 자동 완성 기능 (Tab completion) in RStudio
- 이전 명령은 콘솔에서 위 아래 화살표

2.4.4 Exercise

1. 변수 x에 1, 3, 5, 7, 9를, 변수 y에 2, 4, 6, 8, 10을 저장하는 코드를 작성하시오
2. 앞서 변수 x와 y를 더한 값을 z에 저장하는 코드를 작성하시오
3. 변수 x에 “hello world!” 를 저장하고 x의 값을 출력하는 코드를 작성하시오

2.4.5 Functions

함수(Function)란 사용자가 원하는 기능을 수행하는 코드의 모음으로서 반복적으로 쉽게 사용할 수 있도록 만들어 놓은 코드입니다. 특정 데이터를 입력으로 받아 원하는 기능을 수행한 후 결과 데이터를 반환하는 구조를 가집니다. 함수는 일반적으로 다음과 같은 포맷으로 구현할 수 있습니다.

```
my_function_name <- function(parameter1, parameter2, ... ){
  ##any statements
  return(object)
}
```

예를 들어 다음과 같은 my_sine 함수를 만들 수 있으며 parameter (매개변수)는 x이고 y는 반환값을 저장하는 지역변수입니다.

```
my_sine <- function(x){
  y <- sin(x)
  return(y)
}
```

- 내장 함수 (Built-in functions)

```
x <- pi
sin(x)
sqrt(x)
log(x)
log(x, 10)
x <- c(10, 20, 30)
x + x
mean(x)
sum(x)/length(x)
```

2.4.6 Exercise

1. 변수 x에 1, 3, 5, 7, 9를, 변수 y에 2, 4, 6, 8, 10을 저장하는 코드를 작성하시오
2. x와 y를 더한 값을 z에 저장하는 코드를 작성하시오
3. mysum 이라는 이름의 함수를 작성하되 두 변수를 입력으로 받아 더한 후 결과를 반환하는 코드를 작성하시오
4. mymean 이라는 이름의 함수를 작성하되 두 변수를 입력으로 받아 평균을 구한 후 결과를 반환하는 코드를 작성하시오

2.5 Terminology

- Session: R 언어 실행 환경
- Console: 명령어 입력하는 창
- Code: R 프로그래밍 변수/제어문 모음
- Object types:
 - vector: 값들의 모임 combine function c() EX: c(6, 11, 13, 31, 90, 92)
 - matrix: 2D 형태 값들의 모임
 - array: 1D, 2D, 3D, ... 형태 값들의 모임
 - factor: 범주형 데이터
 - data frame: 2D 형태 값들의 모임 (다른 타입 값 가능)
 - list:
 - function: 특정 기능 수행, [함수이름, 입력값 (arguments), 출력값 (return)] 으로 구성
- Data (value) types:
 - Integers
 - doubles/numerics
 - logicals
 - characters.
- Conditionals (조건, 제어):
 - if, ==, & (AND), | (OR) Ex: (2 + 1 == 3) & (2 + 1 == 4)
 - for, while: 반복 수

2.6 Supports

2.6.1 Help

R은 방대한 양의 도움말 데이터터를 제공하며 다음과 같은 명령어로 찾아볼 수 있습니다.

```
help("mean")
?mean
example("mean")
help.search("mean")
??mean
help(package="MASS")
```

2.6.2 Cheatsheet

<https://rstudio.com/resources/cheatsheets/>

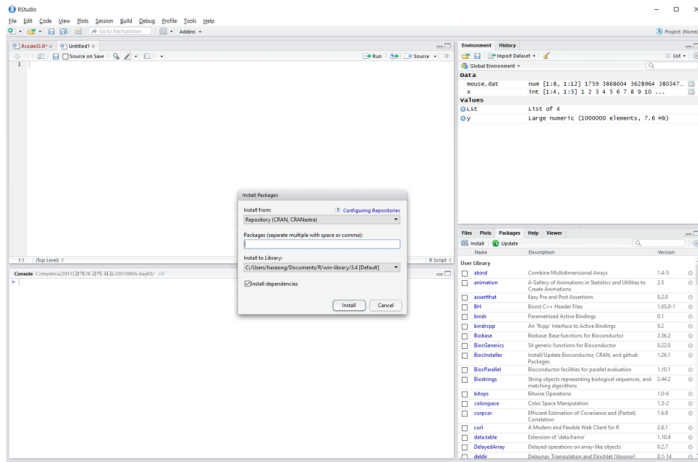
The image displays a comprehensive set of R programming cheat sheets organized into a grid. The sheets are color-coded and cover a wide range of R topics, from basic syntax to advanced statistical analysis and data manipulation. Key sections include:

- Base R Cheat Sheet:** Covers getting help, using packages, and working directory.
- Vectors:** Details creating vectors, vector functions, and selecting elements.
- Programming:** Explains for loops, while loops, if statements, and functions.
- Reading and Writing Data:** Provides code for loading and saving data files.
- Types:** Lists various R data types (logical, numeric, character, factor) and their associated functions.
- Maths Functions:** Includes functions for logarithms, exponentials, maximum/minimum, rounding, significance, correlation, variance, and standard deviation.
- Matrices:** Covers matrix creation, lists, data frames, and matrix subsetting.
- Variable Assignment:** Shows how to assign values to variables.
- The Environment:** Explains the R environment and how to view it.
- Strings:** Details string manipulation functions like paste, grep, and str.
- Factors:** Explains how to create and manipulate factors.
- Statistics:** Includes cheat sheets for linear models, hypothesis testing, proportions, and analysis of variance.
- Distributions:** Lists functions for generating random numbers from various distributions.
- Plotting:** Provides code for creating various types of plots.
- Dates:** Includes the lubridate package for date and time manipulation.

2.7 R packages and Dataset

2.7.1 R packages

- R 패키지는 함수들의 모음으로 다른 사람들이 만들어 놓은 함수를 가져와서 사용할 수 있음
- 예) `sum()` 은 base package에 있고 `sd()` 함수는 stats package에서 제공
- 패키지를 구할 수 있는 가장 대표적인 사이트
- The Comprehensive R Archive Network (CRAN) - <http://cran.r-project.org/web/views/>
- Bioconductor - <http://www.bioconductor.org/packages/release/bioc/>



- UsingR package installation

Packages → Install

Install Packages

Install from: **Repository (CRAN, CRANextra)**

Packages (separate multiple with space or comma): **UsingR**

Install to Library: **C:/Users/haesung/Documents/R/win-library/3.4 [Default]**

☒ Install dependencies

Install **Cancel**

```
> install.packages("UsingR")
Installing package into 'C:/Users/user/Documents/R/win-library/3.4'
(as 'lib' is unspecified)
also installing the dependency 'HISTdata'

trying URL 'https://cran.rstudio.com/bin/windows/contrib/3.4/HISTdata_0.8-4.zip'
Content type 'application/zip' length 359785 bytes (351 kB)
downloaded 351 kB

trying URL 'https://cran.rstudio.com/bin/windows/contrib/3.4/UsingR_2.0-6.zip'
Content type 'application/zip' length 2081603 bytes (2.0 MB)
downloaded 2.0 MB

package 'HISTdata' successfully unpacked and MD5 sums checked
package 'UsingR' successfully unpacked and MD5 sums checked

The downloaded binary packages are in
C:/Users/user/AppData/Local/Temp/RtmpwxdxQ7/downloaded_packages
> |
```

Files Plots Packages Help Viewer

Install **Update**

Name	Description
<input type="checkbox"/> UsingR	Data Sets, Etc. for the Text "Using R for Introductory Statistics", Second Edition
<input type="checkbox"/> ggplot2	Create Elegant Data Visualisations Using the Grammar of Graphics
<input type="checkbox"/> munzell	Utilities for Using Munzell Colours
<input type="checkbox"/> rdbml	R support for SBML, using libsbml
<input type="checkbox"/> stats4	Statistical Functions using S4 Classes

```
> library("UsingR", lib.loc="~/R/win-library/3.4")
필요한 패키지를 로드중입니다: MASS
필요한 패키지를 로드중입니다: HISTdata
필요한 패키지를 로드중입니다: Hmisc
필요한 패키지를 로드중입니다: lattice
필요한 패키지를 로드중입니다: survival
필요한 패키지를 로드중입니다: Formula
필요한 패키지를 로드중입니다: ggplot2

다음의 패키지를 부하합니다: 'Hmisc'

The following objects are masked from 'package:base':
  format.pval, units

다음의 패키지를 부하합니다: 'UsingR'
```

```
install.packages("UsingR")
```

- UsingR package loading

```
library(UsingR)
help(package="UsingR")
```

2.7.2 Data sets

- 일반적으로 패키지 안에 관련된 데이터도 같이 저장
- `data()` function를 이용해서 패키지 데이터를 사용자 작업공간에 복사해서 사용 가능

```
head(rivers)
length(rivers)
class(rivers)
data(rivers)
data(package="UsingR")
```

```
library(HistData)
head(Cavendish)
str(Cavendish)
head(Cavendish$density2)
```

이 저작물은 크리에이티브 커먼즈 저작자표시-비영리-변경금지 4.0 국제 라이선스에 따라 이용할 수 있습니다.

Chapter 3

Tidyverse for Data science

tidyverse (<https://www.tidyverse.org/>)는 데이터 사이언스를 위한 R 기반의 독창적인 패키지들의 모음입니다. Rstudio의 핵심 전문가인 해들리위컴이 (Hadley Wickham) 중심이 되어 만들어 졌으며 기존의 툴보다 쉽고 효율적으로 데이터 분석을 수행할 수 있습니다.



R packages for data science

The tidyverse is an opinionated **collection of R packages** designed for data science. All packages share an underlying design philosophy, grammar, and data structures.

Install the complete tidyverse with:

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

데이터사이언스는 넓은 범위의 개념과 방법적인 정도가 있는 것은 아닙니다. 그러나 위 tidyverse의 목적은 데이터 분석을 위한 핵심이되는 고효율의 툴을 제공하는 것이며 그 철학은 다음과 같은 그림으로 요약할 수 있습니다.

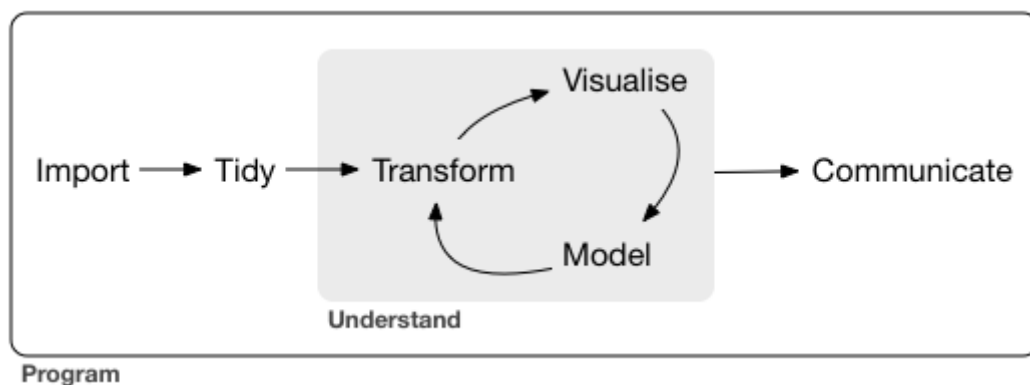


Figure 3.1: from <https://r4ds.had.co.nz/>

3.1 Tibble object type

R은 20년 이상된 비교적 오랜 역사를 가진 언어로서 `data.frame` 형태의 데이터 타입이 가장 많이 사용되고 있습니다. 그러나 당시에는 유용했던 기능이 시간이 흐르면서 몇몇 단점들이 드러나는 문제로 기존 코드를 그대로 유지한채 package 형태로 단점을 보완한 새로운 형태의 tibble 오브젝트 형식을 만들어 냈습니다. 대부분의 R 코드는 여전히 `data.frame` 형태의 데이터 타입을 사용하고 있으나 tidyverse에서는 tibble이 사용되는 것을 참고하시기 바랍니다.

```
library(tidyverse)

tb <- tibble(
  x = 1:5,
  y = 1,
  z = x ^ 2 + y
)

as_tibble(iris)
head(iris)
```

Tibble은 data.frame과 다음 몇 가지 점이 다릅니다. data.frame의 경우 타입을 변환할 때 강제로 값의 타입을 바꾸거나 내부 변수의 이름을 바꾸는 경우가 있었으나 tibble은 이를 허용하지 않습니다. 샘플들 (row) 이름을 바꿀수도 없습니다. 또한 프린팅할 때 출력물에 나오는 정보가 다르며 마지막으로 data.frame은 subset에 대한 타입이 바뀔 경우가 있었지만 tibble은 바뀌지 않습니다.

```
x <- 1:3
y <- list(1:5, 1:10, 1:20)

data.frame(x, y)
tibble(x, y)
```

```
names(data.frame(`crazy name` = 1))
names(tibble(`crazy name` = 1))
```

```
data.frame(x = 1:5, y = x ^ 2)
tibble(x = 1:5, y = x ^ 2)
```

```
df1 <- data.frame(x = 1:3, y = 3:1)
class(df1[, 1:2])
class(df1[, 1])

df2 <- tibble(x = 1:3, y = 3:1)
class(df2[, 1:2])
class(df2[, 1])
class(df2$x)
```

3.2 Tidy data structure

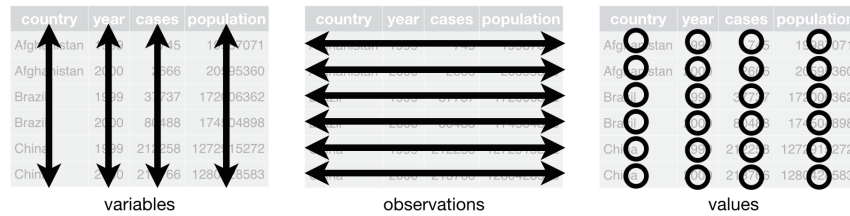
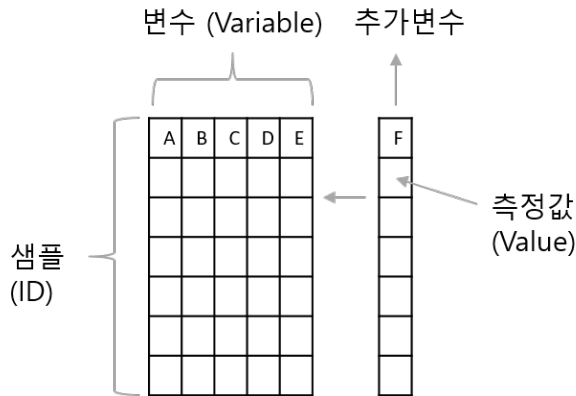
데이터의 변수와 값을 구분하는 일은 적절한 데이터 분석을 위해 필수적인 과정입니다. 특히 복잡하고 사이즈가 큰 데이터일 경우는 더욱 중요할 수 있으나 경험에 의존해서 구분하는 것이 대부분 입니다. Tidy data는 이러한 변수와 값의 명확한 구분과 활용을 위한 데이터 구조중 하나 입니다 (Hadley Wickham. Tidy data. The Journal of Statistical Software, vol. 59, 2014).

country	1999	2000
A	0.7K	2K
B	37K	80K
C	212K	213K

tidy data는 다음과 같은 특징이 있습니다.

- 각 변수는 해당하는 유일한 하나의 column을 가짐
- 각 샘플은 해당하는 유일한 하나의 row를 가짐
- 각 관측값은 해당하는 유일한 하나의 cell을 가짐

Tidy 데이터는 Long형 데이터로 알려져 있기도 합니다. 참고로 Wide형 데이터의 경우 샘플 데이터가 늘어날수록 row에 쌓이고 새로운 변수는 column에 쌓이는 방식으로 데이터가 확장되는 형태 입니다. 엑셀에서 볼 수 있는 일반적인 형식으로 다음 그림과 같습니다.

Figure 3.2: from <https://r4ds.had.co.nz/>

Long형 데이터의 경우 ID, variable, value 세가지 변수만 기억하면 되겠습니다. 위 wide형 데이터 경우를 보면 ID, variable, 그리고 value 이 세가지 요인이 주요 구성 요소임을 알 수 있습니다. Long형으로 변환할 경우 샘플을 참조할 수 있는 어떤 변수 (variable)도 ID가 될 수 있으며 2개 이상의 변수가 ID로 지정될 수 있습니다. 참고로 ID를 지정할 경우 해당 ID는 가능하면 중복되지 않는 값들을 갖는 변수를 사용해야 식별자로서 기능을 적절히 수행할 수 있습니다. Long형을 사용할 경우 데이터의 변수가 늘어나도 행의 수만 늘어나므로 코딩의 일관성과 변수들의 그룹을 만들어서 분석하는 등의 장점이 있습니다. 아래는 새로운 변수 F가 추가될 때 long 형 데이터에 데이터가 추가되는 경우를 나타낸 그림입니다.

ID	variable	values
1	B	
1	C	
...	...	
2	B	
2	C	
...	...	

+

1	F	
2	F	
3	F	
4	F	
...	...	

추가변수

3.3 Pivoting

일반적으로 얻어지는 데이터의 형태는 wide형이며 이를 Long형으로 변환하기 위해서는 tidyverse 패키지에 속한 tidyr 패키지의 `pivot_longer`와 `pivot_wider`를 사용합니다. 또한 reshape2 패키지의 `melt` 함수와 그 반대의 경우 `dcast` 함수를 사용할 수도 있습니다. 본 강의에서는 tidyr 패키지를 사용합니다. wide형 데이터를 long형으로 변환하거나 long형을 wide형으로 변환하는 작업을 pivoting 이라고 합니다.

country	1999	2000	→	country	year	cases
A	0.7K	2K		A	1999	0.7K
B	37K	80K		B	1999	37K
C	212K	213K		C	1999	212K
				A	2000	2K
				B	2000	80K
				C	2000	213K

name value

airquality 데이터는 전형적인 wide형 데이터로 특정 날짜에 네 개의 변수에 해당하는 값들을 측정했습니다. 이 데이터를 long형으로 바꿀 경우 ID를 날짜로 하면 데이터들을 식별 할 수 있습니다. 그런데 날짜는 변수가 Month와 Day 두 개로 나누어져 있으므로 다음과 같이 두 변수를 식별 변수로 (ID로) 사용 합니다. 확인을 위해 상위 5개의 데이터만 가지고 형 변환을 진행해 보겠습니다.

```
airquality

myair <- airquality[1:5,]
myair_long <- pivot_longer(myair, c("Ozone", "Solar.R", "Wind", "Temp"))
myair_long
myair_long2 <- pivot_longer(myair, c(Ozone, Solar.R, Wind, Temp))
myair_long2
myair_long3 <- pivot_longer(myair, !c(Month, Day))
myair_long3
```

생성되는 long형 데이터의 변수 이름인 name과 value는 다음 파라미터를 지정하여 바꿀 수 있습니다.

```
myair_long <- pivot_longer(myair,
                           c(Ozone, Solar.R, Wind, Temp),
                           names_to = "Type",
                           values_to = "Observation")
myair_long
```

long형 데이터를 wide형 데이터로 변환 할 수도 있습니다.

```
pivot_wider(myair_long, names_from = Type, values_from = Observation)
```

3.3.1 Exercise

- 1) 다음 데이터가 long형인지 wide형인지 판단하시오
- 2) long형이면 wide형으로 wide형이면 long형으로 변환하시오

```
stocks <- tibble(
  year   = c(2015, 2015, 2016, 2016),
  month  = c( 1,    2,    1,    2),
  profit = c(1.88, 0.59, 0.92, 0.17)
)
```

ggplot을 이용한 그래프 작성에는 위와 같은 long형 데이터가 주로 사용됩니다. R을 이용한 데이터 가시화는 dplyr 패키지로 wide형 데이터를 편집하고 pivot_longer 함수로 long형 데이터로 변환 후 ggplot을 이용하는 방식으로 수행합니다. 두 데이터 포맷에 대한 좀 더 구체적인 내용은 다음 링크를 참고하시기 바랍니다. <https://www.theanalysisfactor.com/wide-and-long-data/>

3.4 Separating and uniting

데이터를 분석할 때 하나의 컬럼에 두 개 이상의 변수값이 저장되어 있거나 두 개의 변수를 하나의 컬럼으로 합해야 하는 경우가 종종 있습니다. 전자의 경우 separate() 함수를 사용해서 두 변수(컬럼)으로 나누어 줄 수 있으며 후자의 경우

`unite()` 함수를 사용하여 두 변수를 하나의 값으로 병합할 수 있습니다. 다음은 `airquality` 데이터에서 `Month`와 `Day` 변수를 하나의 컬럼으로 병합하여 `Date`라는 변수로 만들어 주는 경우의 예입니다.

```
newairquality <- unite(airquality, Date, Month, Day, sep=".")
newairquality
```

`separate()` 함수를 사용하면 다음과 같이 해당 변수의 값을 나누어 다시 두 개의 변수(컬럼)으로 나누어 줄 수 있습니다.

```
separate(newairquality, col=Date, into = c("Month", "Day"), sep = "\\.")
```

3.5 dplyr and pipe operator

`dplyr` (<https://dplyr.tidyverse.org/>)은 `ggplot2`를 개발한 해들리위컴이 (Hadley Wickham) 중심이 되어 만들어 졌으며 `ggplot2`와 함께 `tidyverse`의 (<https://www.tidyverse.org/>) 핵심 패키지입니다. `dplyr`은 데이터를 다루는 크기나 분석의 속도, 편의성을 향상시켜 새롭게 만들어놓은 패키지입니다. 기존 `apply`와 같은 행렬 연산 기능과 `subset`, `split`, `group` 와 같은 행렬 편집 기능을 더하여 만들어진 도구라고 할 수 있습니다.

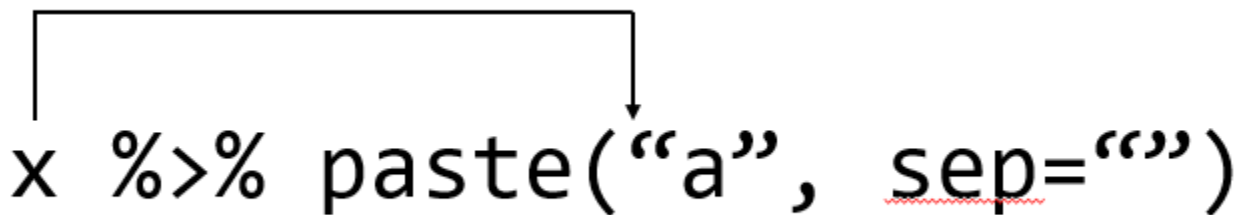
`dplyr`의 전신이라 할 수 있는 `plyr` 패키지는 다음과 같이 설명이 되어 있습니다. A set of tools for a common set of problems: you need to split up a big data structure into homogeneous pieces, apply a function to each piece and then combine all the results back together. 즉 `split-apply-combine` 세 가지 동작을 쉽게 할 수 있도록 만들어 놓은 툴입니다. R이 다른 언어에 비해 데이터 분석에서 주목을 받는 이유로 `split`, `apply` 등의 행렬 연산 함수가 발달한 것을 내세우는데 `dplyr`은 이들을 보다 더 편리하게 사용할 수 있도록 만들어 놓은 것 입니다.

`dplyr`의 사용을 위해서는 여러 명령을 연속적으로 수행하도록 해주는 `%>%` 파이프 오퍼레이터의 이해가 필요합니다. 파이프 오퍼레이터의 작동법은 간단히 `%>%`의 왼쪽 코드의 결과를 출력으로 받아 오른쪽 코드의 입력 (첫번째 파라미터의 값)으로 받아들이는 작동을 합니다 (단축키: **Shift+Ctrl+m**). 다음 예에서 보면 `sin(pi)` 와 같은 함수의 일반적인 사용법 대신 `pi %>% sin` 처럼 사용해도 똑같은 결과를 보여줍니다. `cos(sin(pi))`와 같이 여러 함수를 중첩하여 사용할 경우와 비교해서 코드의 가독성이나 효율 측면에서 크게 향상된 방법을 제공해 줍니다.

```
library(dplyr)

pi %>% sin
sin(pi)
pi %>% sin %>% cos
cos(sin(pi))
```

특히 `%>%`는 이후 설명할 `dplyr`의 `group_by`, `split`, `filter`, `summary` 등의 행렬 편집/연산 함수를 빈번히 다양한 조합으로 쓰게되는 상황에서 더 큰 효과를 발휘할 수 있습니다.



The diagram illustrates the pipe operator `%>%`. A horizontal line connects the variable `x` to the first argument of the `paste` function, which is `"a"`. An arrow points from the pipe operator to this argument, indicating that the value of `x` is passed to `paste` as its first parameter. The full expression shown is `x %>% paste("a", sep="")`.

pipe operator의 왼쪽 구문의 결과가 오른쪽 구문의 첫 번째 파라미터의 입력 값으로 처리된다고 말씀 드렸습니다. 즉, 함수에서 사용되는 파라미터가 여러개일 경우가 있으므로 기본적으로 `%>%`의 왼쪽 구문의 출력 값은 오른쪽 구문 (함수)의 첫 번째 인자의 입력값으로 들어가는 것 입니다. 이는 다음 예들을 통해서 명확히 알 수 있습니다. 먼저 `paste` 함수는 그 파라미터로 ,로 구분되는 여러개의 입력 값을 가질 수 있습니다. 따라서 다음 코드는 `x`가 `paste`의 첫 번째 파라미터로 들어가게 되어 `"1a"`, `"2a"`, `"3a"`, `"4a"`, `"5a"`로 `a` 앞에 `x` 값들이 붙어서 출력된 것을 알 수 있습니다.

```
x <- 1:5
x %>% paste("a", sep="")
```

특정 데이터셋의 컬럼별 평균을 구하고 각 평균의 합을 구할 경우를 생각해 봅시다. R에서는 `colMeans`라는 특별한 함수를 제공하여 컬럼별로 평균을 계산해 줍니다. 그 후 `sum` 함수를 사용하여 최종 원하는 값을 얻을 수 있습니다. 이러한 코드를 `%>%` 오퍼레이터를 사용한 경우의 코드와 비교해 볼 수 있습니다.

```
x <- data.frame(x=c(1:100), y=c(201:300))
sum(colMeans(x))

x <- data.frame(x=c(1:100), y=c(201:300))
x %>% colMeans %>% sum
```

그럼 만약 두 번째 파라미터에 입력으로 왼쪽 구문의 출력을 받아들이고 싶을 경우는 place holder . 을 사용하면 되겠습니다. round 함수는 두 개의 파라미터를 설정할 수 있으며 digits 라는 두 번째 파라미터에 값을 pipe operator로 넘겨주고 싶을 경우 아래와 같이 표현할 수 있습니다.

```
6 %>% round(pi, digits=.)
round(pi, digits=6)
```

3.5.1 Exercise

- 1) pipe operator를 사용해서 airquality데이터를 long형으로 변환하는 코드를 작성하시오 (단 col 파라미터에는 Ozone, Solar.R, Wind, Temp 변수를 넣음)
- 2) pipe operator를 사용해서 airquality데이터의 Month와 Day 변수(컬럼)을 Date 변수로 병합하는 코드를 작성하시오

3.6 dplyr - Important functions

이제 dplyr 패키지에서 제공하는 함수를 사용해 보겠습니다. dplyr을 구성하는 중요한 함수는 다음과 같습니다.

- filter() - 샘플 (rows) 선택
- arrange() - 샘플들의 정렬 순서 변경
- select() - 변수 (columns) 선택
- mutate() - 새로운 변수 만들기
- summarise() - 대표값 만들기
- group_by() - 그룹별로 계산 수행
- join() - 두 tibble 또는 data.frame을 병합할 때 사용

이 함수들은 %>%와 함께 쓰이면서 강력한 성능을 발휘합니다. summarise 함수는 특정 값들의 통계 값을 계산해 주는 함수이며 그 외 함수들은 행렬 편집을 위한 함수들로 보시면 되겠습니다. 간단한 예제를 수행하면서 각각의 기능을 살펴보고 왜 dplyr이 널리 사용되고 그 장점이 무엇인지 파악해 보도록 하겠습니다.

iris 데이터는 세 종류의 iris 품종에 대한 꽃잎과 꽃받침의 length와 width를 측정해 놓은 데이터 입니다. head와 str 명령어를 %>%를 이용해서 데이터를 살펴 봅니다.

```
library(tidyverse)

iris %>% head(10)
iris %>% str
```

3.6.1 filter

먼저 아래와 같이 filter 함수를 사용해서 원하는 조건의 데이터 (샘플)을 골라낼 수 있습니다.

```
library(dplyr)

head(iris)
iris %>% filter(Species=="setosa")
iris %>% filter(Species=="setosa" | Species=="versicolor")
iris %>% filter(Species=="setosa" & Species=="versicolor")
iris %>%
  filter(Species=="setosa" | Species=="versicolor") %>%
  dim
```

`filter()`의 ,로 구분되는 매개변수는 `and` 로직으로 묶인 조건입니다. 지난 강좌에서 보셨듯 R에서 `and`는 `&`, `or`는 `|`, 그리고 `not`은 `!` 으로 사용하면 되며 `filter`에서 ,로 구분된 조건은 `and`와 같다고 보시면 되겠습니다.

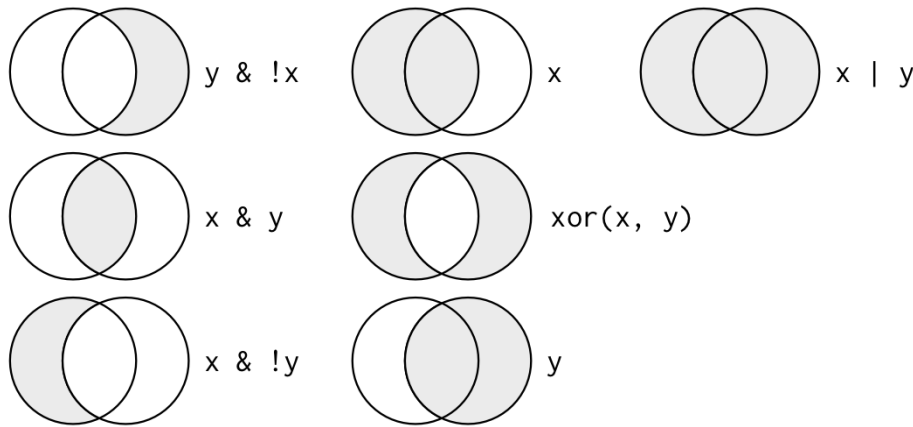


Image from (<https://r4ds.had.co.nz/>)

3.6.2 arrange

`arrange()`는 지정된 변수를 기준으로 값의 크기순서로 샘플들의 배열 순서 즉, row의 순서를 바꾸는 기능을 수행합니다. 기본으로 크기가 커지는 순서로 정렬이 진행되며 작아지는 순서를 원할 경우 `desc` 함수를 사용할 수 있습니다.

```
iris %>% arrange(Sepal.Length)
iris %>% arrange(desc(Sepal.Length))
iris %>% arrange(Sepal.Length, Sepal.Width)
```

3.6.3 select

`select()` 는 주어진 데이터셋으로부터 관심있는 변수를 (column) 선택하여 보여줍니다. 다음 helper 함수들은 `select` 함수와 같이 유용하게 쓰일 수 있습니다.

`starts_with("abc")` - "abc" 로 시작하는 문자열을 갖는 변수 이름 `ends_with("xyz")` - "xyz"으로 끝나는 문자열을 갖는 변수 이름 `contains("ijk")` - "ijk" 문자열을 포함하는 변수 이름 `matches("(.)\\1")` - 정규식, 반복되는 문자

```
head(iris)
iris %>% select(Species, everything()) %>% head(5)
iris %>% select(Species, everything())
iris %>% select(-Species)
iris %>% select(starts_with('S'))
iris %>% select(obs = starts_with('S'))
```

아래는 `matches` 함수를 사용한 방법입니다. 좀 더 복잡한 패턴을 적용하여 변수들을 선택할 수 있으며 `grep` 함수를 사용할 경우도 정규식 패턴을 적용할 수 있습니다.

```
iris2 <- rename(iris, aavar = Petal.Length)
select(iris2, matches("(.)\\1"))
tmp <- iris[,3:5]
colnames(iris)[grep("^S", colnames(iris))]
iris[,grep("^S", colnames(iris))]
tmp
```

아래 `(.)\\1`은 하나의 문자 .가 (어떤 문자든) 한 번 더 `\\1` 사용된 변수 이름을 말하며 이는 `aavar`의 `aa`밖에 없으므로 `aavar`가 선택됩니다. `grep`에서 `^` 표시는 맨 처음을 나타내므로 `^S`는 S로 시작하는 문자가 되겠습니다. 따라서 `grep("^S", colnames(iris))`의 경우 컬럼 이름 중 S로 시작하는 이름은 `True`로 그렇지 않으면 `False` 값을 리턴합니다.

3.6.4 mutate

`mutate()` 함수는 새로운 변수를 추가할 수 있는 기능을 제공하며 앞에서 배웠던 `within()`과 비슷하다고 볼 수 있습니다. 아래와 같이 `mutate`함수는 `sepal_ratio`라는 변수를 새로 만들어서 기존 `iris` 데이터들과 함께 반환해 줍니다.

```
iris2 <- iris %>% mutate(sepal_ratio = Sepal.Length/Sepal.Width)
head(iris2)
```

3.6.5 summarise

`summarise()`는 `data.frame`내 특정 변수의 값들로 하나의 요약값/대푯값을 만들어 줍니다. `summarise` 함수는 단독으로 쓰이기 보다는 `group_by()` 기능과 병행해서 쓰이는 경우에 유용하게 쓰입니다. `summarise_all()` 함수를 사용하면 모든 변수에 대해서 지정된 함수를 실행합니다.

```
iris %>% summarise(mean(Sepal.Length), m=mean(Sepal.Width))
iris %>%
  group_by(Species) %>%
  summarise(mean(Sepal.Width))

iris %>%
  group_by(Species) %>%
  summarise_all(mean)

iris %>%
  group_by(Species) %>%
  summarise(across(everything(), mean))

iris %>%
  group_by(Species) %>%
  summarise_all(sd)

iris %>%
  group_by(Species) %>%
  summarise(across(everything(), sd))
```

3.6.6 join

`join` 함수는 데이터를 병합해주는 기능을 수행하는 함수 입니다. 네 가지 종류의 함수가 있으며 (`left_join()`, `'right_join()`, `'inner_join()`, `'full_join()`) (key) .by'에서 지정해준 파라미터의 값을 기준으로 기능이 수행 됩니다.

```
df1 <- data.frame(id=c(1,2,3,4,5,6), age=c(30, 41, 33, 56, 20, 17))
df2 <- data.frame(id=c(4,5,6,7,8,9), gender=c("f", "f", "m", "m", "f", "m"))

inner_join(df1, df2, by="id")
left_join(df1, df2, "id")
right_join(df1, df2, "id")
full_join(df1, df2, "id")

# vs.
cbind(df1, df2)
```

3.7 Airquality example

`airquality` 데이터는 뉴욕주의 몇몇 지점에서의 공기질을 측정한 데이터입니다. 데이터에서 NA를 제거하고 각 월별로 평균 오존, 자외선, 풍속, 및 온도에 대한 평균과 표준편차를 구해봅니다.

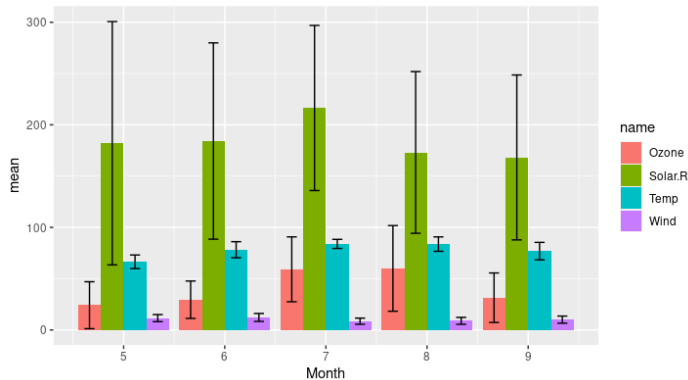
```
airmean <- airquality %>%
  filter(complete.cases(.)) %>%
  select(-Day) %>%
  group_by(Month) %>%
  summarise(across(everything(), mean)) %>%
  pivot_longer(-Month, values_to = "mean")
```

```
airsd <- airquality %>%
  filter(complete.cases(.)) %>%
  select(-Day) %>%
  group_by(Month) %>%
  summarise(across(everything(), sd)) %>%
  pivot_longer(-Month, values_to = "sd")
```

errorbar가 있는 막대그래프를 그려보겠습니다. 이를 위해서 먼저 두 테이블을 병합합니다.

```
airdata <- left_join(airmean, airds, by=c("Month", "name"))

ggplot(airdata, aes(x=Month, y=mean, fill=name)) +
  geom_bar(stat="identity", position="dodge") +
  geom_errorbar(aes(ymin=mean-sd, ymax=mean+sd), position=position_dodge(width=0.9), width=0.4)
```



ggplot2를 이용한 그래프 그리기는 다음 시간에 학습하겠습니다.

3.7.1 Exercise

1. InsectSprays 데이터는 살충제 6종에 대한 살충력을 (죽은 벌래의 마릿수) 나타내는 데이터이다. 각 살충제별로 평균과 표준편차를 구하시오
2. dplyr 패키지의 starwars 는 스타워즈 영화에 나오는 등장인물들을 분석한 데이터셋 이다. 종족에 따른 키의 평균과 표준편차를 구하시오. (NA 데이터는 제외하고 분석)

이 저작물은 크리에이티브 커먼즈 저작자표시-비영리-변경금지 4.0 국제 라이선스에 따라 이용할 수 있습니다.

Chapter 4

ggplot2 for data visualization

본 장에서는 ggplot2(<https://ggplot2.tidyverse.org/>)를 이용한 시각화에 대해서 알아봅니다. 데이터를 분석할 때 실제 데이터를 눈으로 확인하는 것은 중요합니다. 가능하면 raw 데이터를 보면서 크기 비교나 분포를 대략적으로 예측한다면 tool을 사용해서 나오는 결과를 가늠하는 척도가 될 수도 있습니다. ggplot2 는 Rstudio 개발팀의 해들리위컴이 (Hadley Wickham) 중심이 되어 만든 데이터 시각화 패키지입니다. 몇 가지 새로운 규칙을 학습해야 하지만 그 활용성이나 성능을 고려한다면 꼭 배워야할 패키지 중 하나입니다.

4.1 Basics

iris 데이터를 이용해서 간단하게 barplot을 그려봅니다. iris 데이터는 3가지 품종별 꽃잎과 꽃받침의 길이와 넓이를 측정한 데이터 입니다. 다음은 꽃잎의 길이와 넓이의 관계를 볼 수 있는 산점도 입니다.

```
library(ggplot2)
head(iris)
ggplot(data=iris) +
  geom_point(mapping=aes(x=Petal.Length, y=Petal.Width))
```

눈에 띄이는 부분은 +를 이용한 레이어들의 연결입니다. ggplot() 함수 뒤에 다양한 레이어들을 연결할 수 있고 geom_point() 함수는 지정한 위치에 산점도 레이어를 추가하는 기능을 합니다. 각 레이어들은 다음과 같은 다양한 기능을 갖는 함수들로 구성될 수 있습니다.

- 데이터 지정 (ggplot)
- 색상, 크기, x축의 값, y축의 값 등 심미적 요소 지정 (aes)
- 점, 선, 면 등 기하학적 요소 지정 (geoms)
- 그릴 통계량 지정 (stats)
- 테마, 스케일 지정 (theme)

일반적으로 ggplot을 이용하여 그래프를 그리는 순서는 다음과 같습니다.

- 어떤 그래프를 그릴지 결정
- ggplot의 데이터셋과 aesthetic 설정
- geometric 요소와 적절한 statistics를 설정한 레이어 추가
- 스케일과 테마를 설정한 레이어 추가

ggplot만을 실행할 경우 데이터와 x, y 축만 지정한 상태로 어떤 그래프 (히스토그램인지, 산포도인지 등)를 그릴지 명시되어 있지 않아서 아무것도 그리지 않은 상태의 빈 캔버스만 그려지게 되며 geom_point() 함수를 즉, 점을 그릴지 선을 그릴지 어떤 통계량을 그릴지 아니면 값 자체를 그릴지 등을 지정해 주고 나서야 비로소 그래프가 그려집니다.

```
ggplot(data=iris, mapping=aes(x=Petal.Length, y=Petal.Width))
?ggplot
ggplot(iris, aes(x=Petal.Length, y=Petal.Width))
ggplot(iris, aes(x=Petal.Length, y=Petal.Width)) + geom_point()
```

geom_point()의 도움말을 보면 다음과 같이 data, mapping, stat 등의 파라미터들이 있습니다. 이는 ggplot함수에서 설정한 data나 mapping 정보를 geom_point에서 설정 하거나 완전히 다른 데이터를 x축과 y축에 그릴 수 있다는 뜻 이기도 합니다.

```
ggplot() +
  geom_point(data=iris, mapping=aes(x=Petal.Length, y=Petal.Width))
```

그런데 위 꽃잎의 길이와 넓이는 세 가지 다른 종류의 붓꽃에 대한 정보입니다. 따라서 각 종에 따라 다른 색이나 기호를 할당하는 것도 mapping에서 설정할 수 있습니다.

```
ggplot(iris, aes(x=Petal.Length,
                 y=Petal.Width,
                 color=Species,
                 shape=Species)) +
  geom_point()

ggplot(iris, aes(x=Petal.Length, y=Petal.Width)) +
  geom_point(aes(color=Species, shape=Species))
```

위 산점도들의 stat은 identity 입니다. 즉, 따로 통계량을 계산할 필요 없이 값 그 자체를 사용하겠다는 것 입니다. 히스토그램의 경우 geom_bar() 함수로 막대그래프를 그릴 수 있습니다. geom_bar의 help페이지를 보면 stat="count"로 설정되어 있는 것을 알 수 있습니다. 꽃잎의 넓이에 대한 분포를 예로 구해봅시다. 히스토그램을 그릴 경우 변수 한 개의 데이터만 필요하고 y축에는 자동으로 빈도수가 들어가게 되므로 aes에서 x만 mapping 해 주면 됩니다.

```
ggplot(iris, aes(x=Petal.Width)) +
  geom_bar()
```

4.2 Bar graph

ggplot을 이용한 막대그래프 그리는 방법에 대해서 좀 더 알아보겠습니다. 앞서와 같이 ggplot 함수로 먼저 데이터와 aes로 x축 y축 등을 명시하고 + 오퍼레이터를 사용하여 필요한 레이어를 차례로 추가하면서 그래프를 그릴 수 있습니다. geom_bar() 함수의 경우 x가 연속형일 경우는 아래와 같이 히스토그램을 그려주기 어렵습니다 (위 iris 예제에서 geom_bar() 그래프에서는 실제 꽃받침의 width 값은 연속형이 맞으나 관측된 iris 데이터들이 같은 값들이 많은 범주형처럼 되어 있어 히스토그램 그림이 그려졌습니다) 이럴 경우 stat을 bin으로 바꿔주면 해당 범위 안에 있는 값들의 빈도수를 계산하여 히스토그램을 그릴 수 있습니다.

```
dat <- data.frame(x1=rnorm(100))
ggplot(dat, aes(x=x1)) +
  geom_bar()

ggplot(dat, aes(x=x1)) +
  geom_bar(stat="bin", bins=30)
```

x가 이산형인 경우는 stat을 디폴트 값인 count로 설정하여 해당 값들의 빈도수를 그려줄 수 있습니다. 이는 앞서 iris에서 배운 예제와 같습니다.

```
x1 <- sample(1:4, 100, replace = T)
dat <- data.frame(x=x1)
ggplot(dat, aes(x=x)) +
  geom_bar(stat="count")
```

이제 두 개의 변수가 있는 경우를 생각해 봅시다. 두 변수에 대해서 막대그래프를 그릴 경우 다음과 같이 Error: stat_count() must not be used with a y aesthetic. 에러가 발생할 수 있습니다.

```
x1 <- rnorm(10)
x2 <- rnorm(10)
dat <- data.frame(x1, x2)
ggplot(dat, aes(x=x1, y=x2)) +
  geom_bar()
```

이는 geom_bar()의 stat이 기본적으로 count로 설정되어 있으므로 생기는 에러 입니다. stat을 identity로 설정하면 x1값에 해당하는 x2값을 그려주는 막대 그래프를 그릴 수 있습니다. 참고로 이 그래프는 geom_point와 비슷한 정보를 보여 주게 됩니다.

```
x1 <- rnorm(10)
x2 <- rnorm(10)
dat <- data.frame(x1, x2)
ggplot(dat, aes(x=x1, y=x2)) +
  geom_bar(stat="identity")

ggplot(dat, aes(x=x1, y=x2)) +
  geom_point()
```

다음과 같이 레이어를 추가하여 두 그래프를 같은 화면에 그릴 수도 있습니다. 여기서 `col`과 `size`는 `aes` 함수 안에서 쓰이지 않았음을 주의하시기 바랍니다. `aes`에서는 데이터와 특정 모양, 색깔을 mapping 해주는 역할을 하고 아래와 같이 지정해 줄 경우 데이터와 상관 없이 해당 레이어의 모든 그래프에 대해서 일괄적으로 적용되게 됩니다.

```
ggplot(dat, aes(x=x1, y=x2)) +
  geom_bar(stat="identity") +
  geom_point(col="red", size=5)
```

또한 다음과 같이 다양한 레이어를 추가하여 필요한 기능을 사용할 수 있습니다. `fill=x1` 이라는 코드는 막대그래프의 색을 채울 때 `x1`에 따라서 다른 값들을 채우는 역할을 한다고 보면 되겠습니다.

```
x1 <- as.factor(1:3)
y1 <- tabulate(sample(x1, 100, replace=T))
dat <- data.frame(x1, y1)
ggplot(dat, aes(x=x1, y=y1, fill=x1)) +
  geom_bar(stat="identity") +
  guides(fill=FALSE) +
  xlab("Discrete cases") +
  ylab("Value") +
  ylim(c(0,50))+
  ggtitle("Bar graph for x:discrete and y:value")
```

4.3 Line graph

다음으로 ggplot을 이용한 line graph를 그리는 방법을 알아 봅니다. Line graph는 `geom_line`이라는 함수를 사용해서 그릴 수 있으며 `stat`의 사용법은 앞서 bar graph와 같습니다.

```
x1 <- c(12, 21, 40)
x2 <- c(33, 10, 82)
dat <- data.frame(x1, x2)
ggplot(dat, aes(x1, x2)) +
  geom_line()
```

아래와 같이 그려지는 선의 두께를 조절하거나 레이어를 추가하는 방법으로 점을 추가로 그려볼 수 있습니다. `fill`의 경우 특정 도형에 채워지는 색을 의미합니다. 도형에 대한 자세한 종류는 `?pch` 라는 도움말로 살펴보실 수 있습니다.

```
ggplot(dat, aes(x=x1, y=x2)) +
  geom_line(size=2) +
  geom_point(size=4, pch=21, fill="white") +
  guides(fill=FALSE) +
  ylim(c(0, 100)) +
  xlab("Continuous cases") + ylab("Value") +
  ggtitle("Line graph for x:continuous and y:continuous")
```

위 경우는 `x`와 `y`가 모두 연속형 데이터일 경우입니다. `x`는 이산형, `y`가 연속형일 경우 앞서와 같이 bar graph를 이용하여 그래프를 그리게 됩니다. 그런데 이런 bar의 높이에 해당하는 값들을 서로 선으로 연결하고 싶은 경우가 있습니다. 이 때는 다음과 같이 `aes`의 `group`이라는 파라미터를 설정하여 두 점 이상을 연결할 수 있습니다. 만약 `group`으로 나타낼 수 있는 변수가 없을 경우 `group=1`이라고 명시해 주고 선을 그릴 수 있으며 이 경우 모든 값들이 같은 1 그룹에 있는 것으로 간주됩니다. 1이라는 것은 하나의 예이며 어떤 숫자나 문자가 와도 괜찮습니다.

```
x1 <- as.factor(c(1:3))
y1 <- c(33, 10, 82)
dat <- data.frame(x1, y1)
str(dat)
ggplot(dat, aes(x=x1, y=y1, group=1)) +
  geom_line(stat="identity") +
  guides(fill=FALSE) +
  xlab("Discrete cases") + ylab("Value") +
  ylim(c(0,100))+
  ggtitle("Line plot for x:discrete and y:continuous")
```

위에서와 같은 방법으로 point와 bar 등을 같이 그려줄 수 있습니다.

```
ggplot(dat, aes(x=x1, y=y1, group=1)) +
  geom_bar(stat="identity", fill=x1) +
  geom_line(size=2) +
  geom_point(size=4, pch=21, fill="white") +
  guides(fill=FALSE) +
  xlab("Discrete cases") + ylab("Value") +
  ylim(c(0,100))+
  ggtitle("Line for x:discrete and y:value")
```

여기서는 fill 옵션이 geom_bar에 하나 geom_point에 하나씩 쓰였는데 geom_bar에서 사용된 fill은 bar에 채워지는 색을 x1의 값에 따라 바꾸겠다는 것을 의미하고 geom_point의 fill은 데이터에 상관 없이 모두 white로 채우라는 명령입니다. 각 geometry에 따라서 필요한 옵션이 다르므로 각각의 geom_xxx를 사용할 때 상황에 맞게 사용하시면 되겠습니다.

4.4 Smoothing

산포도는 앞서와 같이 데이터를 점으로 표현한 그래프입니다. Smoothing은 관측된 데이터를 이용하여 모형을 추정하는데 사용되는 통계적 방법이며 이를 그래프로 표현하여 추세선을 그릴 수 있습니다. 예를 들어 몸무게와 키라는 두 변수의 관계를 알아보고자 할 때 산포도를 그리고 Smoothing을 통해 점들의 평균값을 이어주는 방법으로 모형을 추정하고 추세선을 그릴 수 있습니다.

mtcars 데이터는 1974년 미국 자동차 잡지에서 추출한 데이터로서 당시 다양한 모델의 자동차에대한 성능을 저장하고 있습니다 (?mtcars로 자세한 정보를 볼 수 있음). 이 데이터를 이용해서 연비와 마력 (horsepower) 두 변수의 관계를 그래프로 그려보겠습니다. 직관적으로 생각하면 두 변수는 반비례 할 것으로 기대됩니다. ggplot을 활용해서 두 변수의 산포도를 그리고 smoothing을 수행해 보도록 하겠습니다.

```
ggplot(mtcars, aes(x=mpg, y=hp)) +
  geom_point()
```

위와 같이 mtcars는 data.frame이므로 ggplot으로 바로 받아서 x축과 y축 mapping에 필요한 변수들 이름을 직접 할당하고 geom_point함수를 이용해서 간단히 산포도를 그릴 수 있습니다. 이 산포도만으로도 mpg와 hp 두 변수간의 관계가 역함수 관계임을 알 수 있고 또한 선형이 아닌 것도 알 수 있습니다. 이제 위 그림에 geom_smooth()함수를 이용해서 (모형) 적합 곡선 (또는 추세선)을 그려봅니다.

```
ggplot(mtcars, aes(x=mpg, y=hp)) +
  geom_point() +
  geom_smooth()
```

간단히 geom_smooth() 한 줄을 추가하여 추세선을 그렸으며 경고 메시지에서 볼 수 있듯이 알고리즘은 loess 모형을 사용했고 공식은 (formula는) y~x로, 즉, y축 변수를 반응변수로 x축 변수를 설명변수로 설정하여 그려졌습니다. 직선의 공식 $y=ax+b$ 를 생각해 보시면 무슨 의미인지 이해가 더 쉬울듯 합니다. ?geom_smooth로 보면 알 수 있듯이 모형을 적합하는 알고리즘 옵션을 lm, glm, loess 등 다양하게 설정할 수 있으며 auto로 하게 되면 데이터의 크기나 형식에 맞춰서 방법을 자동으로 선택해서 그려주게 됩니다. se 옵션은 기본적으로 TRUE 값을 가지며 위 그림에서 볼 수 있는 선분 주위의 회색 구간으로 신뢰구간을 그려주는 옵션입니다. span 옵션은 loess 모형의 smoothing 정도를 조절할 수 있는데 이는 직접 바꿔가면서 실습을 해보면 이해에 도움이 되겠습니다.

```
ggplot(mtcars, aes(x=mpg, y=hp)) +
  geom_point() +
  geom_smooth(se=FALSE, span=0.2)
```

위와 같이 `span` 옵션을 작게 설정할 수록 관측된 데이터(점)에 선분(모형)이 가까이 붙게 됩니다. 이를 과대적합 (overfitting)이라고 하며 간단히 설명하면 관측된 데이터에만 너무 잘맞는 모형을 만드는 경우를 말합니다. 이럴 경우 새롭게 관측된 데이터는 모형의 예측값과 잘 맞지 않게 됩니다.

이번에는 모의 데이터를 생성해서 그래프를 그려보겠습니다. 네 개 학급에 있는 학생들의 키와 몸무게를 저장한 데이터를 만들어 봅시다. 이 경우 몇 개의 변수가 필요할지 생각해 보시기 바랍니다. 키와 몸무게 그리고 학급을 나타내는 변수 3개가 필요하며 키와 몸무게는 정수형, 그룹을 나타내는 변수는 문자형이나 factor형으로 나타내면 되겠습니다. 각 학급의 학생수는 50명으로 총 200명의 학생이 있는 것으로 하며 각 그룹별로 키나 몸무게의 차이는 없고 키가 큰 사람은 몸무게가 많이 나가는 것으로 합니다. 키와 몸무게 사이에는 다음과 같은 연관성을 만들어 줍니다. $height = weight + N(100, 10)$

```
weights <- rnorm(200, 75, 5)
heights <- weights + rnorm(200, 100, 5)
classes <- sample(c("A", "B", "C", "D"), size=length(heights), replace = T)
mydata <- data.frame(heights, weights, classes)
str(mydata)
```

이제 위 데이터를 이용해서 몸무게와 키의 산포도와 추세선을 그려보고 추가로 그룹별로 다른 색의 점으로 표현해 보겠습니다.

```
ggplot(mydata, aes(x=weights, y=heights, color=classes)) +
  geom_point() +
  geom_smooth()
```

그런데 위와 같은 코드를 실행하면 그룹마다 다른 점과 smooth 선분이 그려집니다. 우리가 원하는 그림은 단지 점만 그룹별로 다른 색으로 표현하고 추세선은 전체 학생들에 대해서 하나의 선분만 그려지길 원합니다. 이제 우리가 알아야 할 부분은 각 레이어마다 mapping을 지정할 수 있다는 것이고 이 원리를 이해한다면 다음과 같이 `geom_point`에서는 `color`를 mapping해 주고 `geom_smooth`에서는 지정해주지 않으면 됩니다.

```
ggplot(mydata) +
  geom_point(aes(x=weights, y=heights, color=classes)) +
  geom_smooth(aes(x=weights, y=heights))
```

그리고 중복되는 부분을 줄여줄 수도 있습니다. 즉, ggplot에서 지정하는 mapping은 하위 layer에 모두 적용이 되며 각 layer마다 다른 mapping 특성을 부여하고 싶을 경우 해당 layer의 mapping 함수 (aes)를 이용하여 설정할 수 있다는 점을 기억하시기 바랍니다.

```
ggplot(mydata, aes(x=weights, y=heights)) +
  geom_point(aes(color=classes)) +
  geom_smooth()
```

4.5 Statstics and positions

앞서 smoothing 곡선은 실제 데이터에서 관측된 값이 아닌 계산된 값을 그래프에 표현한 것 입니다. 막대그래프에서도 y축 count 값은 관측된 값이 아닌 빈도수를 계산한 값이고 boxplot의 경우도 중간값, 1,3사분위수 등 통계량을 표현해 주는 그래프 입니다. 이는 대부분 통계 분석용 소프트웨어에서 제공되는 기능으로 통계량을 가시화 해주는 역할을 합니다. ggplot2에서도 각 geom 레이어에 `stat`이라는 옵션을 통해 이러한 통계량을 그래프로 표현할 수 있습니다. 예를 들어 앞서 생성한 키, 몸무게 데이터에서 키의 분포를 보기 위한 히스토그램을 그리면 `geom_histogram`을 사용할 수 있고 이 레이어의 `stat` 옵션의 기본값은 "bin" 입니다 (?`geom_histogram` 참고).

```
library(tidyverse)

weights <- rnorm(200, 75, 5)
heights <- weights + rnorm(200, 100, 5)
classes <- sample(c("A", "B", "C", "D"), size=length(heights), replace = T)
mydata <- data.frame(heights, weights, classes)
str(mydata)

ggplot(mydata, aes(x=heights)) +
  geom_histogram()
```

경고 문구의 `bins=30`은 기본 `stat`옵션이 `bin`인데 `bins`옵션은 `null`로 되어 있기 때문에 경고가 발생한 것이고 30으로 강제 할당해서 그린다는 메시지 입니다. `bins` 옵션을 다르게 해서 테스트 해보시기 바랍니다. 또한 `stat="identity"`로 그래프를 그린 경우는 데이터 값을 그대로 그린다는 것도 다시 기억해 보시기 바랍니다.

```
ggplot(mydata, aes(x=heights)) +
  geom_histogram(stat="identity")

ggplot(mydata, aes(x=heights, y=weights)) +
  geom_histogram(stat="identity")
```

또 다른 예를 위해 앞서 키 몸무게 데이터에 혈액형 변수를 추가해 보겠습니다. 혈액형은 위 4개 학급에 관계 없이 A, B, O, AB 네 그룹으로 나눌 수 있으며 200명의 학생들에게 랜덤하게 할당하도록 합니다.

```
bloodtype <- sample(c("A", "B", "O", "AB"), nrow(mydata), replace=T)
mynewdata <- data.frame(mydata, bloodtype)
str(mynewdata)
```

위와 같이 새로운 변수 bloodtype 이 factor형으로 추가되어 새로운 data.frame을 생성하도록 했습니다. 이제 각 학급별로 몇 명의 혈액형 타입을 갖는 학생들이 있는지를 막대그래프로 표현해 보도록 하겠습니다. 혈액형의 타입별로 다른 색으로 막대를 칠하도록 해봅시다. 막대그래프의 색은 fill 옵션으로 채울수 있고 막대그래프는 geom_bar 그리고 이 레이어의 stat은 기본값이 count이므로 따로 명시하지 않은채로 다음과 같이 코드를 작성할 수 있습니다.

```
ggplot(mynewdata, aes(x=classes, fill=bloodtype)) +
  geom_bar()
```

그런데 위와같이 그래프가 위로 쌓여서 보입니다. 이는 geom_bar의 position 기본값이 stack으로 되어있어서 보이는 현상입니다 (?geom_bar참고). 옆으로 나란히 막대를 위치시킨 후 크기를 비교하기 위해서 position="dodge"를 사용합니다. 또한 막대그래프에 칠해지는 색의 투명도를 alpha 옵션을 사용해 변경할 수 있습니다.

```
ggplot(mynewdata, aes(x=classes, fill=bloodtype)) +
  geom_bar(alpha=0.5, position="dodge")
```

다음과 같이 간단히 한 줄만 추가하여 위 막대그래프의 위치를 가로로 전환하거나 Coxcomb chart로 그릴수도 있습니다.

```
ggplot(mynewdata, aes(x=classes, fill=bloodtype)) +
  geom_bar(position="dodge") +
  coord_flip()
```

```
ggplot(mynewdata, aes(x=classes, fill=bloodtype)) +
  geom_bar(position="dodge") +
  coord_polar()
```

참고로 위 Coxcomb 그래프의 경우는 해석이 어렵거나 x, y축의 라벨링에 혼돈이 올수 있으니 정보 전달이 명확하도록 그래프의 옵션들을 추가하거나 용도에 맞게 사용할 필요가 있습니다.

4.6 Facets

산점도의 예에서 위와 같이 다른 색이나 모양으로 그리기 보다는 종 별로 다른 캔버스에 별도의 산점도를 그려야 할 경우가 있습니다. 이럴때 사용하는 함수가 facet_wrap()이나 facet_grid() 입니다. 보통 범주형 자료에 대해서 적용할 수 있으며 facet_wrap()은 하나의 변수에 대해서 그림을 나눠그릴때 사용하고 facet_grid()는 두 개 변수의 조합에 의한 그래프들을 그릴 때 사용합니다. 위 붓꽃 예에서는 3가지 종을 나타내는 변수 Species를 이용하면 되겠습니다. facet_wrap()함수에는 ~를 이용한 formula를 사용합니다.

```
ggplot(iris, aes(x=Petal.Length, y=Petal.Width)) +
  geom_point(aes(color=Species, shape=Species)) +
  facet_wrap(~Species, nrow=2)
```

만약 두 개의 범주형 변수에 대해서 x, y축 각각으로 나누고 싶을 때는 facet_grid()를 사용할 수 있습니다. iris 데이터는 하나의 범주형 변수와 네 개의 숫자형 변수로 구성되어 있습니다 (str(iris) 확인). 여기에 랜덤하게 0과 1을 갖는 범주형 변수 하나를 추가해 보겠습니다.

```
str(iris)
mycate <- sample(c(0,1), nrow(iris), replace=T)
myiris <- data.frame(iris, mycate)
str(myiris)
```


이제 mycate와 Species 두 범주형 변수에 대해서 facet 그래프를 그려보면 다음과 같습니다. `facet_grid()` 함수를 사용하면 되며 x와 y축의 변수는 ~를 활용한 formula를 사용합니다. 즉 ~ 왼쪽의 변수는 y축 오른쪽의 변수는 x축으로 구성되어집니다. 새로운 myiris라는 데이터를 만들었으므로 iris 대신 myiris를 사용합니다.

```
ggplot(myiris, aes(x=Petal.Length, y=Petal.Width)) +
  geom_point(aes(color=Species, shape=Species)) +
  facet_grid(Species~mycate)
```

만약 하나의 변수에 대해서 x축이나 y축 하나에만 나열하고 싶은 경우 다음처럼 . 을 사용하면 됩니다.

```
ggplot(myiris, aes(x=Petal.Length, y=Petal.Width)) +
  geom_point(aes(color=Species, shape=Species)) +
  facet_grid(.~mycate)
```

```
ggplot(myiris, aes(x=Petal.Length, y=Petal.Width)) +
  geom_point(aes(color=Species, shape=Species)) +
  facet_grid(Species~.)
```

```
ggplot(myiris, aes(x=Petal.Length, y=Petal.Width)) +
  geom_point(aes(color=Species, shape=Species)) +
  facet_grid(.~Species)
```

4.6.1 Exercise

Orange 데이터셋은 다섯 그루의 오렌지 나무에 대한 시간에(age-days) 따른 성장을(circumference) 기록한 데이터임.

- 1) age와 circumference 를 각각 x와 y축으로 하는 산점도를 그리는 코드를 작성하시오 (ggplot 이용, 나무별로 다른 색 사용)
- 2) 나무별로 다른 캔버스에 age와 circumference를 x와 y축으로 하는 산점도를 그리는 코드를 작성하시오 (ggplot, facet_grid이용)
- 3) 2)에서 그려진 나무별 산점도에 다음과 같이 선분을 추가한 그래프를 그리는 코드를 작성 하시오

4.6.2 Exercise

InsectSprays는 제초제의 효능에 관한 데이터이다. 다음과 같은 plot을 그리는 코드를 작성 하시오

4.7 Themes, Labels, and Scales

Theme은 data관련 요소들 외의 것들에 대한 설정을 위해서 사용됩니다. 즉, 제목이나 라벨, 배경, 범례 등의 색, 위치, 크기, 모양 등을 설정하는데 사용합니다. 주의할 부분은 해당 텍스트 등 데이터를 변경하는 것이 아니고 보여지는 모습만을 바꿀 수 있다는 것 입니다. 텍스트 설정은 labs를 사용합니다. 예제를 가지고 몇 가지 실습을 해 보겠습니다. 먼저 labs라는 명령어로 x축, y축, Title 등을 설정할 수 있습니다. 참고로 xlab(), ylab() 등의 함수도 x축, y축 라벨을 설정하는데 사용될 수 있지만 여기서는 labs만을 사용하도록 합니다.

```
ggplot(mynewdata, aes(x=classes, fill=bloodtype)) +
  geom_bar(position="dodge") +
  labs(x='Four classes',
       y='Number of students',
       title='Blood type distribution',
       subtitle = 'Blood type distribution from the 200 students',
       fill='Blood Types')
```

위 코드에서 labs에서 설정할 수 있는 옵션은 title, subtitle과 x축, y축 라벨 그리고 범례의 title까지 가능합니다. 특히 ggplot 명령어에서 aes(fill=bloodtype)이 사용되었으므로 범례의 title은 fill="Blood types"로 설정해야 하며 만약 aes(color=bloodtype)으로 사용되었을 경우에는 color="Blood types"으로 설정합니다. 참고로 범례의 label을 설정하는 방법은 다음과 같이 scale_fill_discrete 함수의 labels 옵션을 사용하면 됩니다. element_blank()는 텍스트를 공백으로 설정할 때 사용합니다. 아래 나올 scale 관련 내용과 함께 이해하시면 좋습니다.

```
ggplot(mynewdata, aes(x=classes, fill=bloodtype)) +
  geom_bar(position="dodge") +
  scale_fill_discrete(name=element_blank(), labels=c("A type", "AB type", "B type", "O type"))
```

이제 본격적으로 Theme으로 그래프를 장식해 보도록 합니다. Theme 관련된 옵션들은 <https://ggplot2.tidyverse.org/reference/theme.html> 이곳을 참고하시기 바랍니다. 여기서 mapping은 그대로인채로 모양 등의 설정을 바꿔가면서 그래프의 형태를 확인하는 작업이 반복되므로 다음과 같이 myplot이라는 변수에 기본이 되는 ggplot 코드를 저장하고 이후 + 연산자를 사용해서 옵션을 바꿔가며 편리하게 코드를 재사용 할 수도 있습니다.

```
myplot <- ggplot(mynewdata, aes(x=classes, fill=bloodtype)) +
  geom_bar(position="dodge") +
  labs(x='Four classes',
       y='Number of students',
       title='Blood type distribution',
       subtitle = 'Blood type distribution from the 200 students',
       fill='Blood Types')
myplot + theme_bw()
```

위 theme_bw() 함수는 theme의 세부 사항 몇 가지를 미리 설정해 놓아서 (배경을 white 색, 눈금을 회색으로 바꾸는 등) theme 설정을 위한 일련의 과정을 한번에 수행하도록 만든 함수 입니다. theme을 이용한 설정은 plot, axis, legend, panel, facet 등에 적용할 수 있으며 따라서 다음 코드와 같이 해당하는 요소를 참고할 때 . 기호로 구분된 옵션 이름을 사용합니다. 값을 지정할 때에는 element_xxx의 패턴으로 이루어진 함수를 사용합니다. 다음은 각각 plot과 panel 배경색을 바꾸는 코드 입니다.

```
myplot + theme(plot.background = element_rect(fill="gray"))
```

```
myplot + theme(panel.background = element_rect(fill="gray"))
```

```
myplot +
  theme(
    panel.background = element_rect(fill="gray"),
    plot.background = element_rect(fill="gray")
  )
```

또한 축이나 라벨 텍스트의 모양도 바꿀 수 있습니다.

```
myplot +
  theme(
    axis.line = element_line(arrow = arrow(angle = 15, length = unit(.15,"inches"))),
    axis.text = element_text(face = "bold", size = 12, angle = 30),
    axis.text.x = element_text(color="blue", size=18)
  )
```

```
myplot +
  theme(
    plot.title=element_text(size=18, face = "bold", color="red", hjust=0.5),
    plot.subtitle = element_text(size=18, face = "bold", color="gray")
  )
```

위 예제 외에도 다양한 그래프를 그릴 수 있으며 모든 사용법을 외워서 사용하기 보다는 사용할 때 마다 필요한 함수와 옵션을 찾아서 사용하다 보면 점차 익숙해질 것 입니다. 가장 정확한 참고 자료는 공식 reference 페이지를 참고하면 좋으며 <https://ggplot2.tidyverse.org/reference/index.html> 이 외에도 다른 사람들이 만들어 놓은 그래프를 <https://exts.ggplot2.tidyverse.org/> 참고해서 원하는 목적에 맞는 코드를 가져다 사용할 수 있습니다.

본 장에서 마지막으로 소개할 내용은 Scale 입니다. 앞서 어떤 데이터를 x축, y축 또는 group이나 color로 맵핑할지를 결정하는 함수가 aes였다면 scale은 어떻게 (위치, 색상, 크기, 모양 등) 맵핑할 것인가를 설정하는 방법입니다. 함수 형태는 scale_<aesthetic>_<type> 이며 <aesthetic>과 <type>에 해당하는 (미리 지정된) 단어를 넣어주면 되겠습니다. 예를 들어 앞서 예제에서 fill=bloodtype로 혈액형 데이터를 막대그래프의 색을 칠하는데 사용했다면 scale_fill_manual 함수로 어떤 색을 칠할지를 정해주는 방식입니다. 다음 몇 가지 예를 실습해 보고 이해해 보니다.

```
myplot +
  scale_fill_manual(values = c("orange", "skyblue", "royalblue", "blue"))

myplot +
  scale_fill_brewer(palette="BrBG")
```


두 번째 `scale_fill_brewer`의 경우는 `brewer`라는 (<https://colorbrewer2.org/>) 미리 지정된 색의 조합을 가져와 사용하는 방식입니다. `?scale_fill_brewer`의 `Palettes` 섹션을 보시면 사용 가능한 팔레트의 이름이 나와 있으며 위 예제에서는 `BrBG`라는 이름의 팔레트를 사용했습니다. 아래는 `viridis` 라는 이름의 팔레트이며 (<https://bids.github.io/colormap/>) 이러한 팔레트는 R 뿐만 아니라 python, Matlab 등의 다른 프로그래밍 언어에서도 사용할 수 있도록 라이브러리를 제공하고 있습니다.

```
myplot +
  scale_fill_viridis_d()
```

참고로 앞서 설명한 바와 같이 `aes(fill=bloodtype)`이 사용되었으므로 `scale_fill_viridis_d`을 사용했으며 만약 `aes(color=bloodtype)`으로 사용되었을 경우에는 이에 맞는 `scale_fill_viridis_d`으로 설정해야 합니다. 맵핑된 데이터가 연속형일 경우에는 (위 학급 예제의 혈액형은 4개의 혈액형으로 나뉘는 범주형 데이터임) `scale_fill_gradient`, `scale_fill_distiller` 등의 연속형 데이터에 맞는 `scale` 함수를 사용해야 합니다. 또한 데이터의 스케일이 log나 지수 단위일 경우에도 일 때에도 `scale_x_log10()` 등의 함수를 이용해서 x축 또는 y축의 스케일을 변경해줄 수 있습니다. 다음은 간단한 형태의 로그 분포 데이터를 생성하고 히스토그램을 그리는 코드입니다.

```
mydf <- data.frame(x=rlnorm(1000, log(10), log(2.5)))
p <- ggplot(mydf, aes(x=x)) +
  geom_histogram()
p
```

위 히스토그램의 x축을 로그 스케일로 전환하고자 할 때 다음과 같이 `scale_x_log10()` 함수를 추가하면 됩니다.

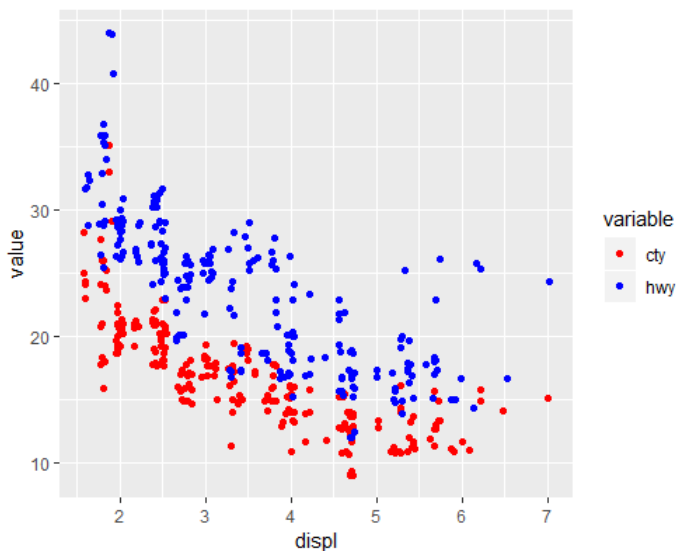
```
p + scale_x_log10()
```

4.7.1 Exercise

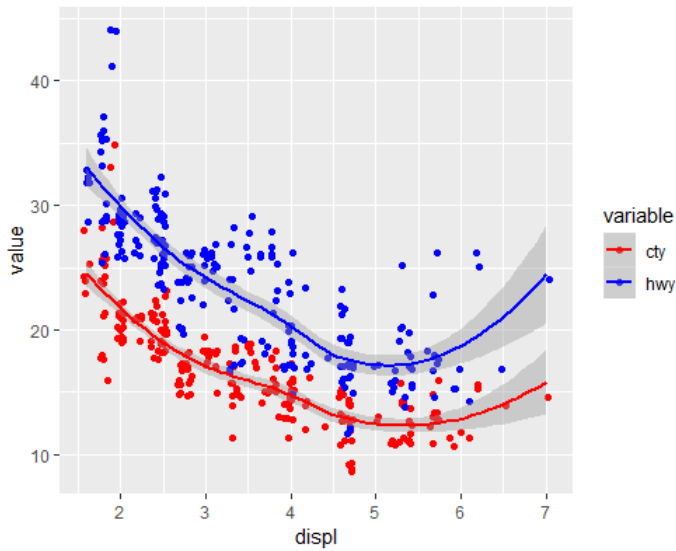
mpg 데이터셋은 38종 자동차의 연비 데이터임. 이 데이터셋을 이용하여 다음 그래프를 그리시오

- 1) 엔진 배기량과 (displ) 도심연비 (cty)를 비교하는 산포도를 그리고 어떤 연관성이 있는지 설명하시오
- 2) 위 산포도의 점들은 실제로는 한 개 이상의 데이터가 겹쳐서 표현된 경우가 많음. ggplot2에서는 이러한 문제를 극복하기 위해서 `position="jitter"` 라는 옵션을 사용할 수 있음. 이 옵션을 적용한 코드를 작성하시오.
- 3) 위 그래프에 배기량과 (displ) 고속도로연비 (hwy) 산포도를 추가하여 다음과 같이 `scale_color_manual()` 함수를 사용해서 "red"와 "blue"로 점들을 표현한 그래프를 그리시오.

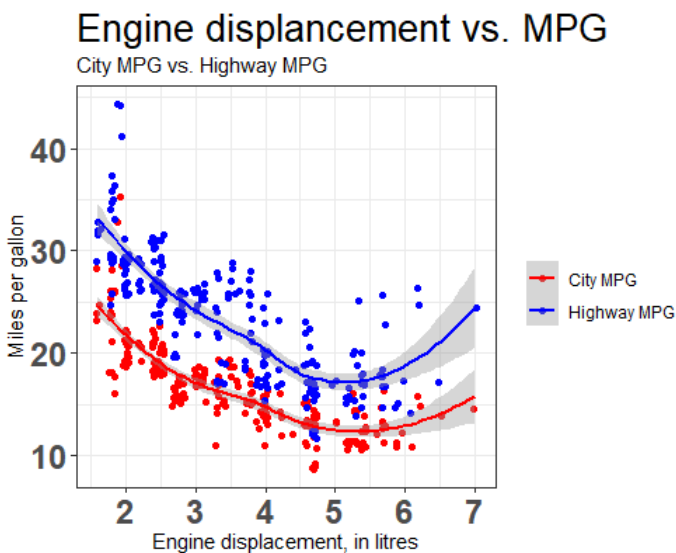
```
mydf <- data.frame(displ=mpg$displ, cty=mpg$cty, hwy=mpg$hwy) %>%
  pivot_longer(cols=c("cty", "hwy"), names_to="type")
str(mydf)
```



- 4) 다음과 같이 배기량과 고속도로/도심 연비의 관계를 나타내는 추세선을 추가하시오 (`geom_smooth` 이용)



- 5) 아래 그림과 같이 Theme을 `theme_bw()`를 사용하고 추가로 Title, subtitle, x축, y축 라벨, 그리고 범례의 Title을 변경하시오. (범례의 라벨 설정은 `scale_color_manual`에서 `labels=c("City MPG", "Highway MPG")`으로 설정, 범례의 title을 지울때는 `name=element_blank()`, Title의 텍스트 크기는 20, x축, y축의 라벨 텍스트 크기는 18로 설정)



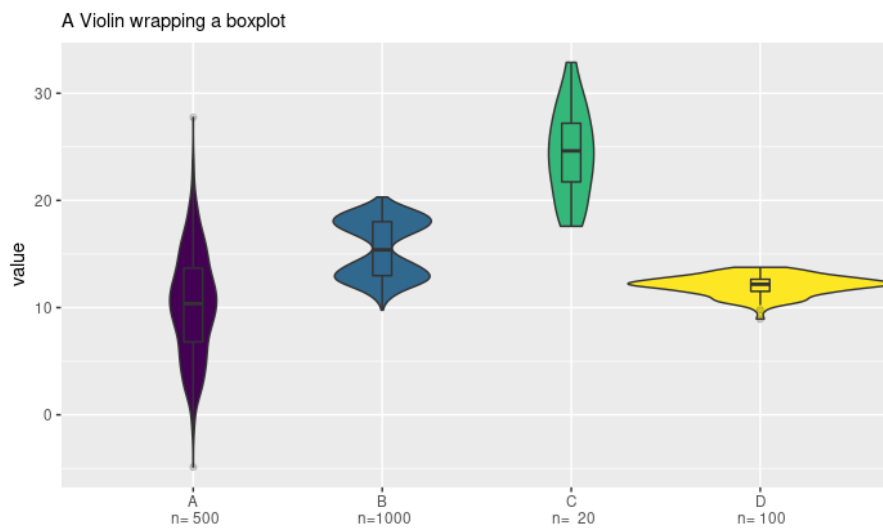
4.8 ggplot examples

인터넷에서 찾은 다음 사이트의 예제를 보면서 다양한 그래프 예제를 실행해 보겠습니다. 코드는 조금씩 변형된 부분이 있으니 참고 부탁드립니다.

- <https://www.r-graph-gallery.com/ggplot2-package.html>
- <http://r-statistics.co/Top50-Ggplot2-Visualizations-MasterList-R-Code.html>
- <https://www.datanovia.com/en/blog/ggplot-examples-best-reference/>

4.8.1 Violin plot

- https://www.r-graph-gallery.com/violin_and_boxplot_ggplot2.html



```
library(tidyverse)
library(viridis)

# create a dataset
data <- data.frame(
  name=c( rep("A",500), rep("B",500), rep("B",500), rep("C",20), rep('D', 100) ),
  value=c( rnorm(500, 10, 5), rnorm(500, 13, 1), rnorm(500, 18, 1), rnorm(20, 25, 4), rnorm(100, 12, 1) )
)

data %>% str

ggplot(data, aes(x=name, y=value, fill=name)) +
  geom_violin(width=1.4) +
  geom_boxplot(width=0.1, alpha=0.2)

# sample summary
sample_size = data %>%
  group_by(name) %>%
  summarize(num=n())

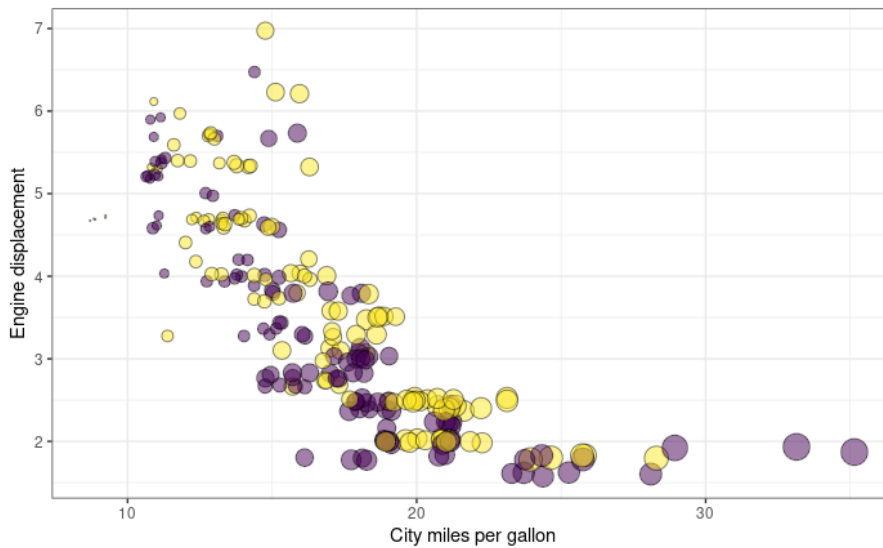
xlab <- sample_size %>%
  apply(1, function(x)paste0(x, collapse="\n n="))

apply(sample_size, 1, function(x)paste0(x, collapse="\n n="))

ggplot(data, aes(x=name, y=value, fill=name)) +
  geom_violin(width=1.4) +
  geom_boxplot(width=0.1, alpha=0.2) +
  scale_fill_viridis(discrete = TRUE) +
  scale_x_discrete(labels=xlab) +
  theme(
    legend.position="none",
    plot.title = element_text(size=11)
  ) +
  ggtitle("A Violin wrapping a boxplot") +
  xlab("")
```

4.8.2 Bubble plot

- <https://www.r-graph-gallery.com/320-the-basis-of-bubble-plot.html>



```
mpg %>% str
```

```
# Most basic bubble plot
ggplot(mpg, aes(x=cty, y=displ, size = hwy)) +
  geom_point(alpha=0.7, position="jitter")
```

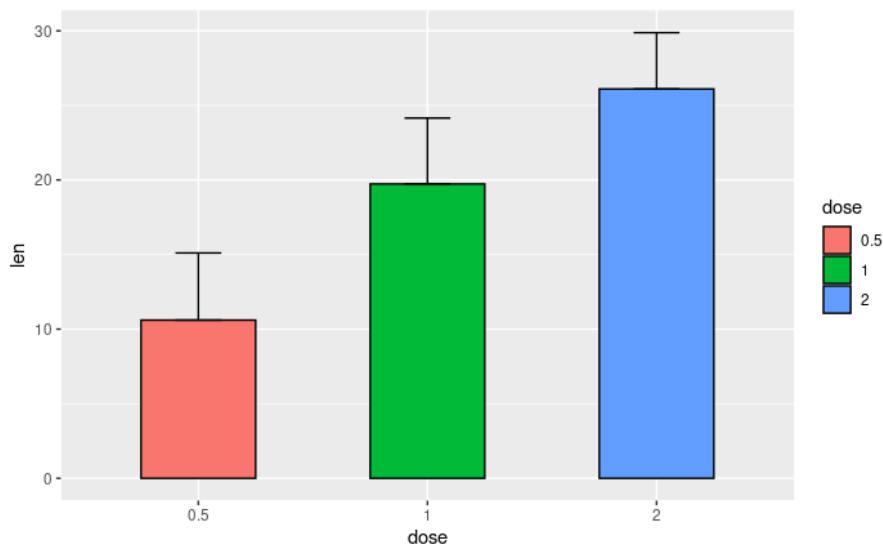
```
ggplot(mpg, aes(x=cty, y=displ, size = hwy)) +
  geom_point(alpha=0.3, position="jitter") +
  scale_size(range = c(.1, 7), name="")
```

```
ggplot(mpg, aes(x=cty, y=displ, size = hwy, color=year)) +
  geom_point(alpha=0.3, position="jitter") +
  scale_size(range = c(.1, 7), name="")
```

```
mpg %>%
  mutate(yearf = factor(year)) %>%
  ggplot(aes(x=cty, y=displ, size=hwy, color=yearf)) +
  geom_point(alpha=0.3, position="jitter") +
  scale_size(range = c(.1, 7), name="")
```

```
mpg %>%
  mutate(yearf = factor(year)) %>%
  ggplot(aes(x=cty, y=displ, size=hwy, fill=yearf)) +
  geom_point(alpha=0.5, position="jitter", shape=21) +
  scale_size(range = c(.1, 7), name="") +
  scale_fill_viridis(discrete=TRUE, guide=FALSE, option="D") +
  theme_bw() +
  ylab("Engine displacement") +
  xlab("City miles per gallon") +
  theme(legend.position = "none")
```

4.8.3 Barplot with errorbars



```
ToothGrowth %>% str
```

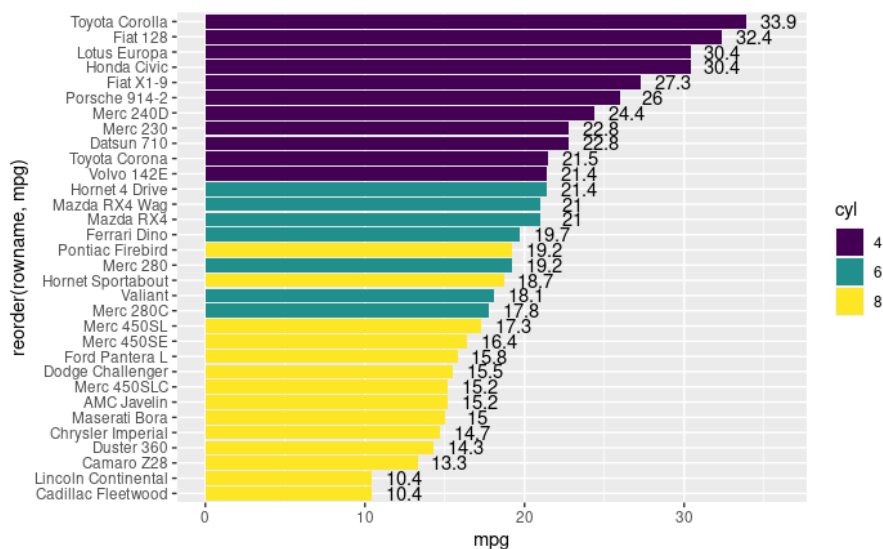
```
df <- ToothGrowth %>%
  mutate(dose = as.factor(dose))
df %>% str
```

```
## summary
```

```
df_summary <- df %>%
  group_by(dose) %>%
  summarise(sd = sd(len, na.rm = TRUE), len = mean(len))
df_summary
```

```
ggplot(df_summary, aes(x=dose, y=len, fill=dose)) +
  geom_bar(stat = "identity", color = "black", width = 0.5) +
  geom_errorbar(aes(ymin = len, ymax = len+sd), width = 0.2)
```

4.8.4 horizontal barplot



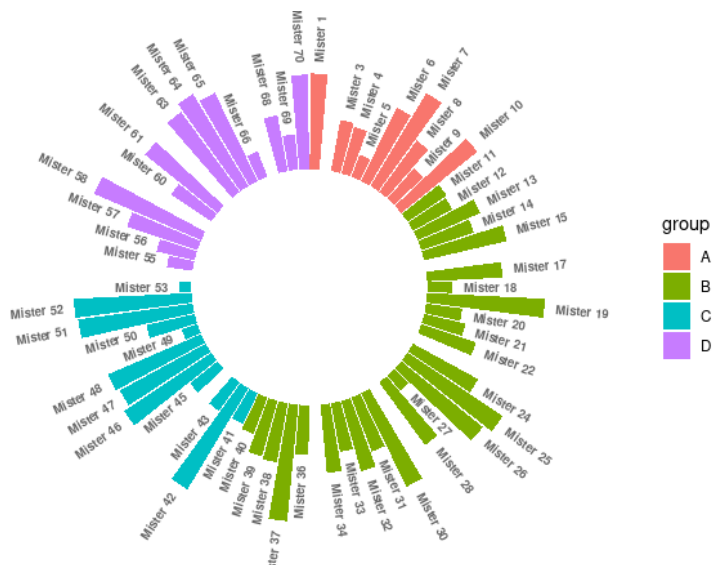
```
df <- mtcars %>%
  rownames_to_column() %>%
  as_data_frame() %>%
  mutate(cyl = as.factor(cyl)) %>%
  select(rowname, wt, mpg, cyl)
```

```
df

# change fill color by groups and add text labels
ggplot(df, aes(x = reorder(rowname, mpg), y = mpg)) +
  geom_col(aes(fill = cyl)) +
  geom_text(aes(label = mpg), nudge_y = 2) +
  coord_flip() +
  scale_fill_viridis_d()
```

4.8.5 Circular barplot

- <https://www.r-graph-gallery.com/297-circular-barplot-with-groups.html>



```
# Create dataset
n <- 70
data <- data.frame(
  id = seq(1, n),
  individual=paste( "Mister ", seq(1,n), sep=""),
  group=c( rep('A', 10), rep('B', 30), rep('C', 14), rep('D', n-10-30-14)) ,
  value=sample( seq(10,100), n, replace=T)
)
data %>% str

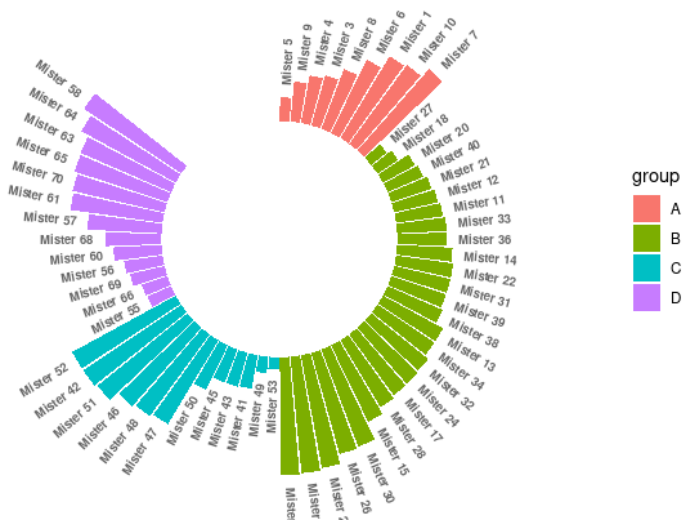
# introduce NA
empty_bar_idx <- sample(1:n, 10)
data[empty_bar_idx,c(2:4)] <- c(NA, NA, NA)

label_data <- data
number_of_bar <- nrow(label_data)
angle <- 90 - 360 * (label_data$id-0.5) /number_of_bar # I subtract 0.5 because the letter must have
label_data$hjust <- ifelse( angle < -90, 1, 0)
label_data$angle <- ifelse(angle < -90, angle+180, angle)

data %>%
ggplot(aes(x=as.factor(id), y=value, fill=group)) +
  geom_bar(stat="identity") +
  ylim(-100,120) +
  theme_minimal() +
  theme(
    axis.text = element_blank(),
    axis.title = element_blank(),
    panel.grid = element_blank(),
    plot.margin = unit(rep(-1,4), "cm")
  ) +
```

```
coord_polar(start = 0) +
geom_text(data=label_data, aes(x=id, y=value+10, label=individual, hjust=hjust), color="black", fontface="normal", size=10)
```

데이터 정렬 후 plot



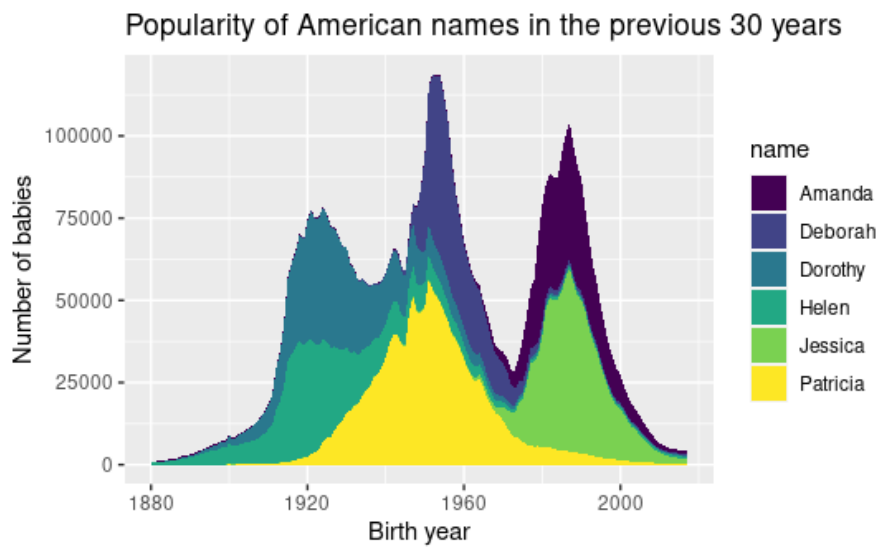
```
data2 <- data %>%
  arrange(group, value) %>%
  mutate(id2=1:n())

label_data2 <- data2
number_of_bar <- nrow(label_data2)
angle <- 90 - 360 * (label_data2$id2-0.5) / number_of_bar # I subtract 0.5 because the letter must have space
label_data2$hjust <- ifelse( angle < -90, 1, 0)
label_data2$angle <- ifelse(angle < -90, angle+180, angle)

data2 %>%
  ggplot(aes(x=as.factor(id2), y=value, fill=group)) +
  geom_bar(stat="identity") +
  ylim(-100,120) +
  theme_minimal() +
  theme(
    axis.text = element_blank(),
    axis.title = element_blank(),
    panel.grid = element_blank(),
    plot.margin = unit(rep(-1,4), "cm")
  ) +
  coord_polar(start = 0) +
  geom_text(data=label_data2, aes(x=id2, y=value+10, label=individual, hjust=hjust), color="black", fontface="normal", size=10)
```

4.8.6 Stacked area chart

- <https://www.data-to-viz.com/caveat/stacking.html>



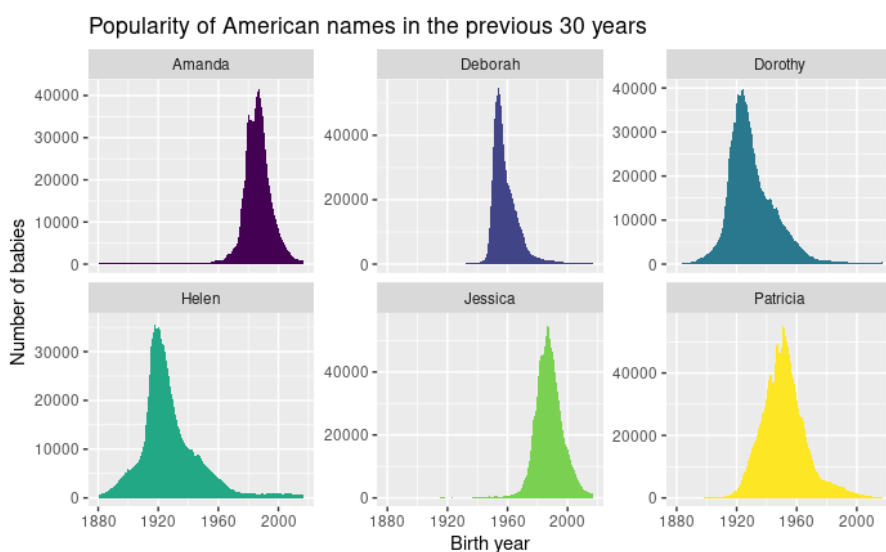
```
library(babynames)

babynames %>% str

# Load dataset from github
data <- babynames %>%
  filter(name %in% c("Amanda", "Jessica", "Patricia", "Deborah", "Dorothy", "Helen")) %>%
  filter(sex=="F")

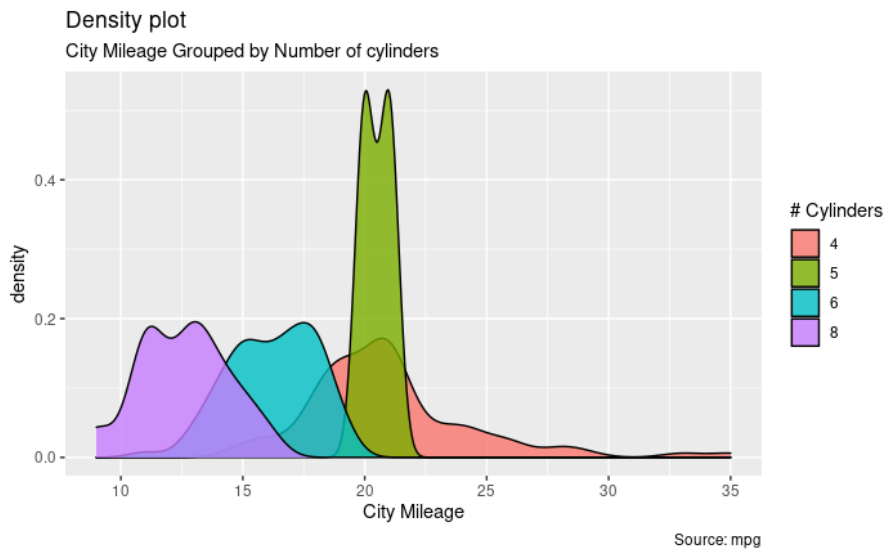
# Plot
p <- data %>%
  ggplot(aes(x=year, y=n, fill=name, text=name)) +
    geom_area( ) +
    scale_fill_viridis(discrete = TRUE) +
    ggtitle("Popularity of American names in the previous 30 years") +
    theme() +
    xlab("Birth year") +
    ylab("Number of babies")

p
```



```
p + facet_wrap(~name, scale="free_y")
```


4.8.7 Density plot



```
# Plot
g <- ggplot(mpg, aes(cty))
g + geom_density(aes(fill=factor(cyl)), alpha=0.8) +
  labs(title="Density plot",
        subtitle="City Mileage Grouped by Number of cylinders",
        caption="Source: mpg",
        x="City Mileage",
        fill="# Cylinders")
```

4.8.8 Waffle chart

- <http://r-statistics.co/Top50-Ggplot2-Visualizations-MasterList-R-Code.html#Waffle%20Chart>

```
var <- mpg$class # the categorical data

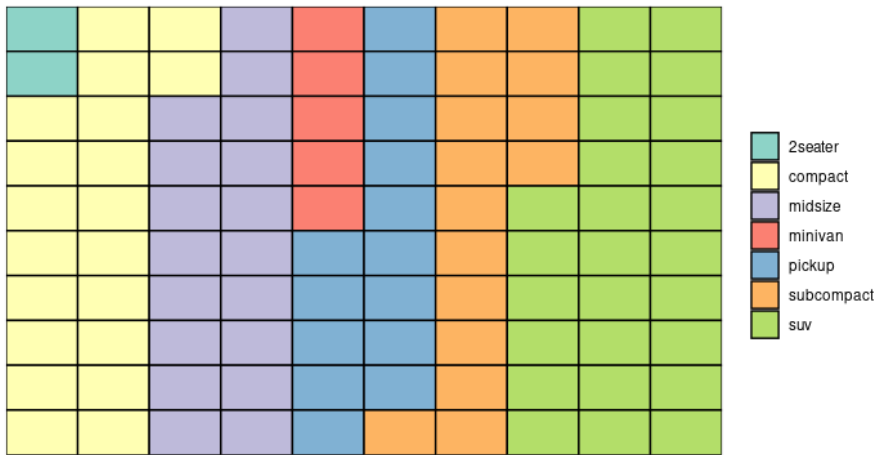
## Prep data (nothing to change here)
nrows <- 10
df <- expand.grid(y = 1:nrows, x = 1:nrows)
categ_table <- round(table(var) * ((nrows*nrows)/(length(var))))
categ_table

df$category <- factor(rep(names(categ_table), categ_table))
# NOTE: if sum(categ_table) is not 100 (i.e. nrows^2), it will need adjustment to make the sum to 100.

## Plot
df %>% str
ggplot(df, aes(x = x, y = y, fill = category)) +
  geom_tile(color = "black", size = 0.5)
```

Waffle Chart

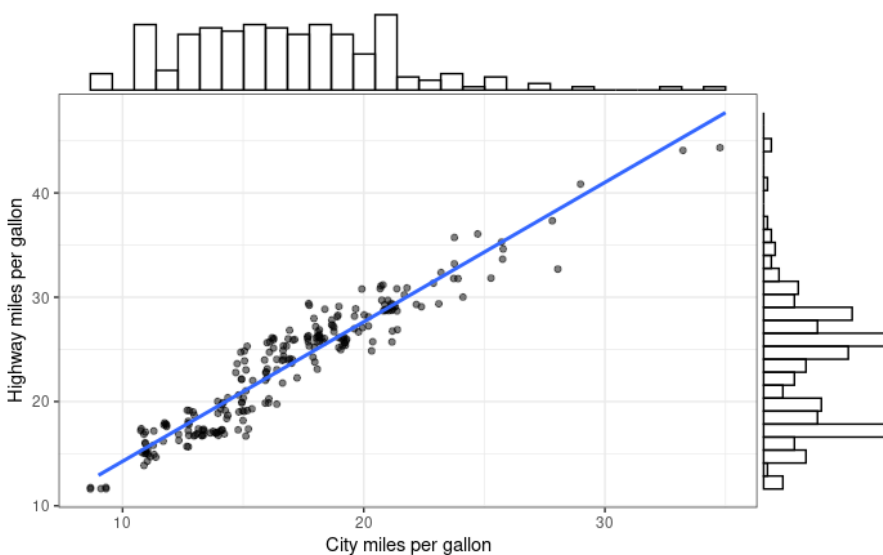
'Class' of vehicles



Source: mpg

```
ggplot(df, aes(x = x, y = y, fill = category)) +
  geom_tile(color = "black", size = 0.5) +
  scale_x_continuous(expand = c(0, 0)) +
  scale_y_continuous(expand = c(0, 0), trans = 'reverse') +
  scale_fill_brewer(palette = "Set3") +
  labs(title="Waffle Chart", subtitle="'Class' of vehicles",
       caption="Source: mpg") +
  theme(plot.title = element_text(size = rel(1.2)),
        axis.text = element_blank(),
        axis.title = element_blank(),
        axis.ticks = element_blank(),
        legend.title = element_blank(),
        legend.position = "right")
```

4.8.9 Marginal histogram



```
library(ggExtra)
```

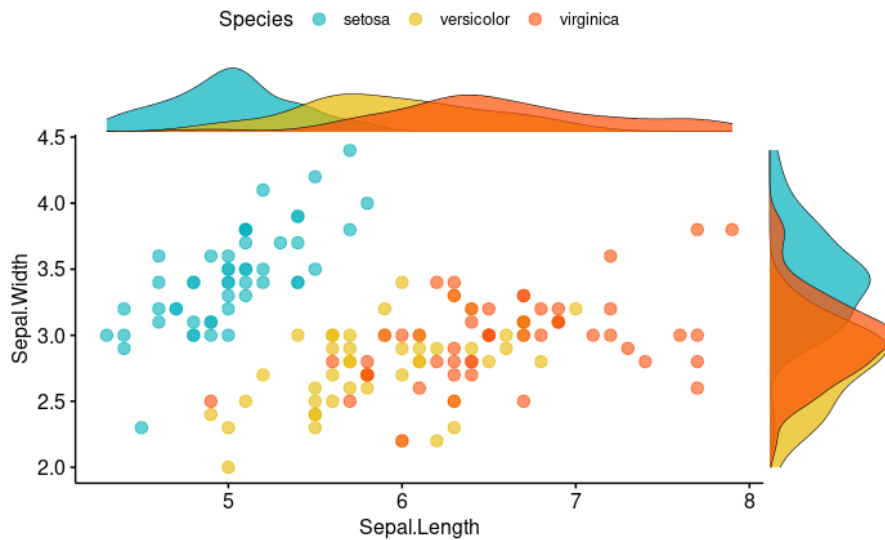
```
# Scatterplot
```

```
p <- ggplot(mpg, aes(x=cty, y=hwy)) +
  geom_point(position="jitter", alpha=0.5) +
  geom_smooth(method="lm", se=F) +
  theme_bw() +
  theme(
    legend.position = "none"
  ) +
  xlab("City miles per gallon") +
```

```

ylab("Highway miles per gallon")
p
ggMarginal(p, type = "histogram", fill="transparent")
ggMarginal(p, type = "density", fill="transparent")

```

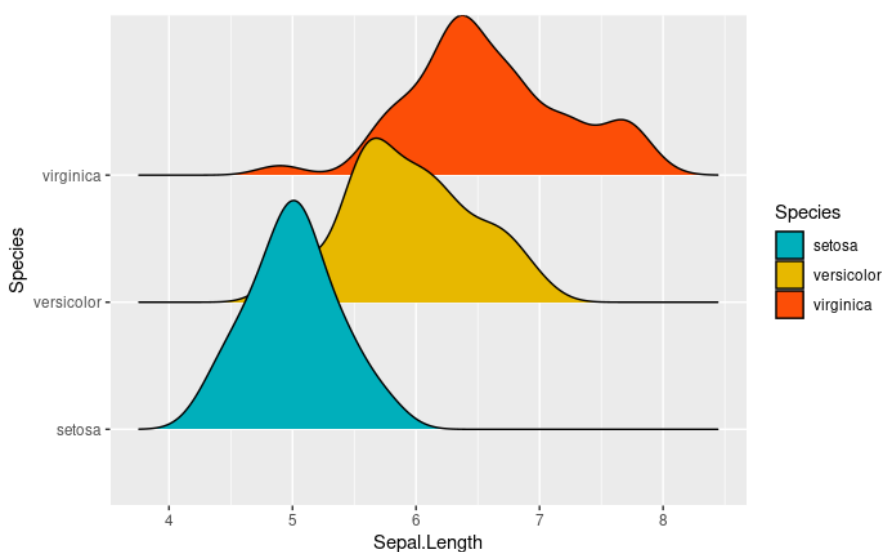


```

library(ggpubr)
# Grouped Scatter plot with marginal density plots
ggscatterhist(
  iris,
  x = "Sepal.Length",
  y = "Sepal.Width",
  color = "Species",
  size = 3,
  alpha = 0.6,
  palette = c("#00AFBB", "#E7B800", "#FC4E07"),
  margin.params = list(fill = "Species", color = "black", size = 0.2)
)

```

4.8.10 Density ridgeline plots



```

library(ggribes)
ggplot(iris, aes(x = Sepal.Length, y = Species)) +
  geom_density_ridges(aes(fill = Species)) +
  scale_fill_manual(values = c("#00AFBB", "#E7B800", "#FC4E07"))

```

이 저작물은 크리에이티브 커먼즈 저작자표시-비영리-변경금지 4.0 국제 라이선스에 따라 이용할 수 있습니다.

Chapter 5

Day1 강의 정리

5.1 Class 1 - 기초, 사용법, 프로그래밍

5.1.1 목표

- rstudio, rmarkdown 사용법 익히기
- R 프로그래밍을 위한 변수, 함수 개념 이해

5.1.2 Rstudio

- 프로젝트 생성 후 전환

```
Rstudio > File > New Project >  
  New Directory > New Project >  
  D:/kribb/ ( ) >  
  kribbr2021 (Directory name) >  
  Create project
```

- Rmd 파일의 밑줄 없애기 위해 uncheck spell-checking

```
Tools > Global options > Spelling >  
  uncheck Use real time spell-checking
```

5.1.3 Rmarkdown 사용법

```
File > New File > R markdown  
  > day1 > Knit
```

- Ctrl + Alt + i: Rmarkdown 코드청크를 여는 단축키
- 코드청크에서만 Ctrl + Enter 작동
- 랜더링 (knit) 빠르게 하기 위해서 옵션 eval=F
- Tools > Global options > Spelling > uncheck Use real time spell-checking

```
x <- 10  
y <- 20  
x + y
```

5.1.4 변수

- c() 함수를 이용해서 여러 값 저장 가능
- 콘솔창에서 출력해서 변수 값 확인
- 또는 cat/print 함수 이용

```
x <- c(1, 3, 5, 7, 9)
y <- c(2, 4, 6, 8, 10)
z <- x + y
x <- "Hello world!"

cat(z)
print(z)
```

5.1.5 함수

- 사용하기 전에 실행해서 환경에 등록

```
sin(1)

my_sine <- function(x){
  y <- sin(x)
  return(y)
}

my_sine(1)

x <- my_sine(1)
x
```

5.1.6 지역변수 광역변수

- Problem 3, 4

```
# 1, 2
x <- c(1, 3, 5, 7, 9)
y <- c(2, 4, 6, 8, 10)
z <- x + y
cat(z)

# problem 3
mysum <- function(a, b){
  x <- a + b
  cat("Value of x:", x, "\n")
  return(x)
}

# problem 4
mymean <- function(a, b){
  x <- (a+b)/2
  cat("Value of x:", x, "\n")
  return(x)
}
```

- 함수 안의 변수와 함수 밖의 변수는 다름

```
x <- 10
y <- 20

mysum(x, y)
mymean(x, y)
```

5.2 Class 2 - 데이터의 이해

5.2.1 목표

- tidyverse 출현 배경 이해

- data.frame, tibble 개념 이해
- 데이터에서 샘플 (row), 변수 (col), 값 (element) 구분하기
- tidy data 개념 (Long형 wide형 구분) 이해

5.2.2 tibble

```
library(tidyverse)
```

```
tb <- tibble(
  x = 1:5,
  y = 1,
  z = x ^ 2 + y
)
tb
```

```
airquality
myair <- airquality[1:5,]
myair
```

5.2.3 tidy data

```
myair_long <- pivot_longer(myair, c("Ozone", "Solar.R", "Wind", "Temp"))
myair_long
```

```
stocks <- tibble(
  year   = c(2015, 2015, 2016, 2016),
  month  = c( 1,    2,    1,    2),
  profit = c(1.88, 0.59, 0.92, 0.17)
)
stocks
```

```
pivot_wider(stocks, names_from=c("month"), values_from=c("profit"))
```

5.3 class 3 - 데이터 형변환의 이해

5.3.1 목표

- pipe operator 단축키: Ctrl + Shift + M
- dplyr functions 이해

5.3.2 파이프오퍼레이터

일반적인 함수 사용법

```
x <- c(1:10)
xsum <- sum(x)
n <- length(x)
xmean <- xsum/n
cat(xmean)
```

파이프 오퍼레이터를 이용한 함수 사용 및 데이터 변환

```

y <- sum(x)
z <- log(y)
k <- sin(z)
cat(k)

sin(log(sum(x)))

x %>%
  sum %>%
  log %>%
  sin

```

```

x <- 1:5
x %>% paste("a", sep="")

paste("a", "b", sep="")
paste0("a", "b")

paste("a", sep="")

paste(x, "a", sep="")
x %>% paste("a", sep="")

```

5.3.3 dplyr 사용

```

iris %>% str
str(iris)
head(iris)
iris[1:10,]

data(iris)

iris_setosa <- iris[1:50,]
iris_setosa %>% str
iris %>%
  filter(Species == "setosa") %>%
  dim

iris %>%
  select(Species, everything()) %>%
  select(starts_with('S'))

```

```

iris2 <- iris %>%
  mutate(sepal_ratio = Sepal.Length/Sepal.Width)
str(iris2)

```

5.3.4 예제

1. iris의 각 변수의 평균과 분산 계산

```

iris %>% str

mean(iris[,1])
mean(iris[,2])
mean(iris[,3])
mean(iris[,4])

x <- rep(0, 4)

```



```
for(i in 1:4){
  x[i] <- mean(iris[,i])
}

mean(iris[, "Sepal.Length"])
mean(iris[, 2])

iris %>%
  select(!Species) %>%
  summarise_all(sd)
```

2. iris의 각 species별 Sepal.Width와 Sepal.Length의 평균과 분산 계산

```
mean(iris[iris[,5]=="setosa", "Sepal.Length"])

iris_mean <- iris %>%
  group_by(Species) %>%
  summarise(across(everything(), mean))

iris_sd <- iris %>%
  group_by(Species) %>%
  summarise(across(everything(), sd))
```

3. iris의 각 species별 Sepal.Width와 Sepal.Length의 평균과 분산 이용한 막대그래프 그리기

```
iris %>%
  group_by(Species) %>%
  summarise(across(everything(), mean)) %>%
  pivot_longer(cols = !Species) %>%
  filter(Species=="setosa") %>%
  ggplot(mapping = aes(y=value, x=name)) +
  geom_point() +
  geom_bar(stat = "identity") +
  theme_bw()
```

```
df1 <- data.frame(id=c(1,2,3,4,5,6), age=c(30, 41, 33, 56, 20, 17))
df2 <- data.frame(id=c(4,5,6,7,8,9), gender=c("f", "f", "m", "m", "f", "m"))
```

```
df1
```

```
df2
```

```
cbind(df1, df2)

inner_join(df1, df2, by="id")
left_join(df1, df2, "id")
right_join(df1, df2, "id")
full_join(df1, df2, "id")

df1 %>% left_join(df2, "id")
```

5.3.5 스크립트 활용

다음 코드를 day1script.R 로 저장하고 source로 실행

```
airmean <- airquality %>%
  filter(complete.cases(.)) %>%
  select(-Day) %>%
  group_by(Month) %>%
  summarise(across(everything(), mean)) %>%
```

```
  pivot_longer(-Month, values_to = "mean")

airsd <- airquality %>%
  filter(complete.cases(.)) %>%
  select(-Day) %>%
  group_by(Month) %>%
  summarise(across(everything(), sd)) %>%
  pivot_longer(-Month, values_to = "sd")

airdata <- left_join(airmean, airds, by=c("Month", "name"))

q <- ggplot(airdata, aes(x=Month, y=mean, fill=name)) +
  geom_bar(stat="identity", position="dodge") +
  geom_errorbar(aes(ymin=mean-sd, ymax=mean+sd), position=position_dodge(width=0.9), width=0.4)

source("day1script.R")
q
```

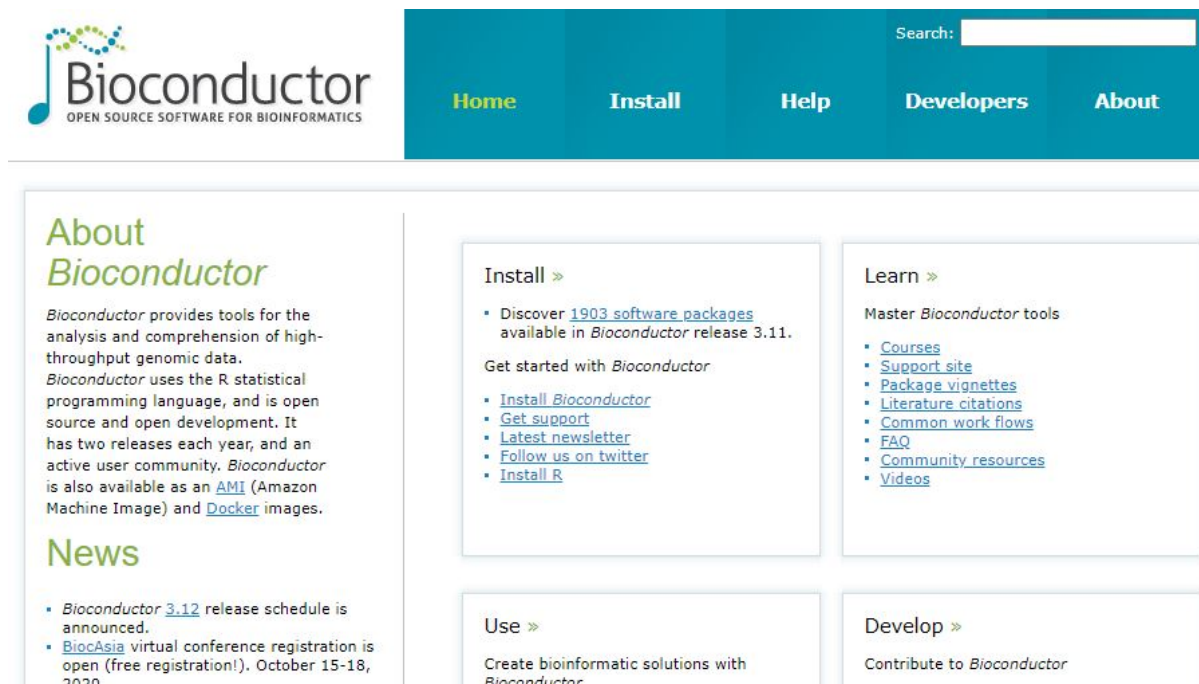
Chapter 6

Bioconductor

- <https://www.bioconductor.org>

Bioconductor는 바이오인포메틱스를 위한 R기반의 데이터, 메소드, 그리고 패키지들의 모음입니다. 2002년 microarray 데이터 분석을 위한 플랫폼으로 시작되었으며 현재 2000개 이상의 패키지로 구성되어 있습니다. R은 분산형 오픈소스이나 Bioconductor는 Full-time developer들에 의해서 유지되고 있습니다. CRAN에 배포되지 않고 CRAN에 비해 더 많은 필수 자료들 (vignettes 등)이 필요하며 높은 수준으로 quality control이 되고 있습니다.

사용 가능한 패키지들은 이곳을 참고하시면 되겠습니다.



Bioconductor 코어 개발 그룹은 사용자들이 지놈스케일 데이터를 더 편리하게 다루를 수 있도록 데이터의 구조를 개발하는데 많은 시간을 들입니다.

- 지놈스케일의 서열이나 발현 등 대용량 유전자형 데이터 관리 및 통계적 분석을 위한 툴 제공
- 분자수준의 현상과 생장이나 질병 등 표현형수준의 관계를 규명하기 위한 정량 데이터 통합 및 관리

6.1 Packages

Use » Software, Annotation, Experiment

- Software: 분석을 위한 툴 모음
- Annotation: 유전자 symbol/ID mapping, gene ontology 기반 유전자 분류, 유전체상에서 exon, transcript, gene 등의 위치, 단백질 기능 등
- Experiment data: 학습 가능할 정도의 Highly curated datasets (실험 데이터)
- Workflow: 특정 데이터 분석을 위한 프로세스 모음 RNA-seq, ChIP seq, copy number analysis, microarray methylation, classic expression analysis, flow cytometry 등

All Packages

Bioconductor version 3.13 (Release)

Autocomplete biocViews search:

- ▼ Software (2041)
 - ▶ AssayDomain (819)
 - ▶ BiologicalQuestion (866)
 - ▶ Infrastructure (480)
 - ▶ ResearchField (953)
 - ▶ StatisticalMethod (762)
 - ▶ Technology (1301)
 - ▶ WorkflowStep (1121)
 - ▶ AnnotationData (974)
 - ▶ ExperimentData (406)
 - ▶ Workflow (29)

Packages found under Software:

Rank based on number of downloads: lower numbers are more frequently downloaded.

Show entriesSearch table:

Package	Maintainer	Title	Rank
BiocGenerics	Bioconductor Package Maintainer	S4 generic functions used in Bioconductor	1
BiocVersion	Bioconductor Package Maintainer	Set the appropriate version of Bioconductor packages	2
S4Vectors	Bioconductor Package Maintainer	Foundation of vector-like and list-like containers in Bioconductor	3
IRanges	Bioconductor Package Maintainer	Foundation of integer range manipulation in Bioconductor	4
Biobase	Bioconductor Package Maintainer	Biobase: Base functions for Bioconductor	5
zlibbioc	Bioconductor Package Maintainer	An R packaged zlib-1.2.5	6
GenomeInfoDb	Bioconductor Package Maintainer	Utilities for manipulating chromosome names, including modifying them to follow a particular naming style	7
XVector	Hervé Pagès	Foundation of external vector representation and manipulation in Bioconductor	8
DelayedArray	Hervé Pagès	A unified framework for working transparently with on-disk and in-memory array-like datasets	9
AnnotationDbi	Bioconductor Package Maintainer	Manipulation of SQLite-based annotations in Bioconductor	10
GenomicRanges	Bioconductor Package Maintainer	Representation and manipulation of genomic intervals	11

6.1.1 Installation

BiocManager를 먼저 설치하고 해당 패키지를 설치하시기 바랍니다. BiocManager에는 `available()`이라는 함수로 (특정 문자가 포함된) 사용 가능한 패키지를 검색할 수도 있습니다.

Use » Software » IRanges

```
if (!requireNamespace("BiocManager", quietly = TRUE))
  install.packages("BiocManager")
```

```
BiocManager::install("IRanges")
## .libPaths()
```

6.2 Learning and support

각 패키지는 제목, 저자, 유지관리자, 설명, 참조, 설치법 등의 정보가 포함된 landing page가 있으며 패키지 내 함수들은 상세한 설명과 예제가 제공됩니다. 예를 들어 IRanges의 landing page를 참고하세요

vignettes는 bioconductor의 중요한 특징 중 하나로 R 코드와 함께 패키지를 사용하는 방법에 대한 상세한 설명을 제공하는 문서입니다.

```
library(IRanges)

vignette(package="IRanges")
browseVignettes("IRanges")
vignette("IRangesOverview", package="IRanges")

ir1 <- IRanges(start=1:10, width=10:1)
```

```
ir1
class(ir1)
methods(class="IRanges")

example(IRanges)
?IRanges
??IRanges
```

Learn » Support site 게시판에는 관련된 여러 QnA 들이 있어서 유사 문제에 대한 도움을 받을 수 있습니다.

6.3 Class, Object and Method

객체지향프로그래밍 (OOP)은 복잡한 문제를 프로그래밍할 때 발생하는 코드의 복잡성을 해결할 수 있는 하나의 방안으로 1990년대부터 많이 사용되었습니다.

R도 객체지향 프로그래밍 언어입니다. 그런데 R은 다른 언어들에 비해서 좀 어려운 (다른) 개념으로 사용됩니다. R에서 사용하는 Class에는 크게 base type, S3, S4, RC, 그리고 R6 등 다양한 타입이 있고 이 중 S3를 많이 사용해 왔으며 S3의 단점을 보완한 S4 형식의 class와 R6를 주로 사용합니다 (?). 본 강의에서는 S3 형식의 class만 다루도록 하겠습니다.

클래스를 사용하는 이유는 여러가지가 있겠지만 복잡한 개념의 데이터를 구조화하고 쉽게 관리하기 위해서 사용한다고 보면 될 것 같습니다. 여러분이 알아야할 개념은 Class와 Object 그리고 Method 입니다. 사실 R의 모든것이 Object이고 이러한 Object들의 정의가 Class 입니다.

```
df <- data.frame(x=c(1:5), y=LETTERS[1:5])
df
class(df)
```

위에서 df는 변수라고 부르지만 object이기도 합니다. df의 class는 data.frame 입니다. 클래스는 누구든 원하는 만큼 얼마든지 만들 수 있습니다.

```
class(df) <- "myclass"
class(df)
```

그런데 모든 object들이 OOP 유래는 아닙니다 base object들이 그 예입니다.

```
x <- 1:10
class(x)
attr(x, "class")

mtcars
attr(mtcars, "class")
```

method는 위와 같은 클래스들에 특화된 어떤 기능을 하는 함수라고 생각하시면 됩니다.

```
mt <- matrix(1:9, 3,3)
df <- data.frame(1:3, 4:6, 7:9)

class(mt)
class(df)
str(mt)
str(df)

diamonds <- ggplot2::diamonds

summary(diamonds$carat)
summary(diamonds$cut)

methods(class="data.frame")
```

위 summary, str 등이 generic function이라 불리는 method들 입니다. class마다 사용 가능한 method가 어떠한 정보가 있는지 알기 위해서 methods()라는 함수를 사용합니다.

6.4 Bioconductor의 OOP

bioconductor에서 다루는 genome 스케일의 experiment나 annotation은 대표적인 복잡한 데이터 중 하나입니다. Bioconductor에서 OOP 개념은 다음과 같습니다.

class - 복잡한 생물학적 데이터 구조의 틀 정의
 object - 특정 클래스가 특정 구현된 실체
 method - 특정 클래스에 대한 기능 수행

예를 들어 객체 `Homo.sapiens`를 살펴보면 다음과 같습니다.

```
if (!requireNamespace("BiocManager", quietly = TRUE))
  install.packages("BiocManager")
BiocManager::install("Homo.sapiens")

library(Homo.sapiens)
class(Homo.sapiens)
?OrganismDb
```

The `OrganismDb` class is a container for storing knowledge about existing Annotation packages and the relationships between these resources.

```
methods(class=class(Homo.sapiens))
genes(Homo.sapiens)[1:10]
exons(Homo.sapiens)[1:10]
homo_seq <- seqinfo(Homo.sapiens)
class(homo_seq)
?seqinfo
```

A `Seqinfo` object is a table-like object that contains basic information about a set of genomic sequences. ...

```
length(homo_seq)
seqnames(homo_seq)
```

bioconductor에는 대용량 정보가 object 형태로 구조화되어 저장되어 있으며 `library()`함수로 읽어올 수 있고 다양한 함수로 해당 object의 정보를 읽어올 수 있습니다.

6.4.1 Exercise

<https://adv-r.hadley.nz/s3.html>

이 저작물은 크리에이티브 커먼즈 저작자표시-비영리-변경금지 4.0 국제 라이선스에 따라 이용할 수 있습니다.

Chapter 7

Working with DNA sequences

서열을 이용한 분석은 Biostrings, IRanges/GenomicRanges 등 몇몇 핵심 패키지들에 기반해서 수행됩니다.

7.1 Biostrings

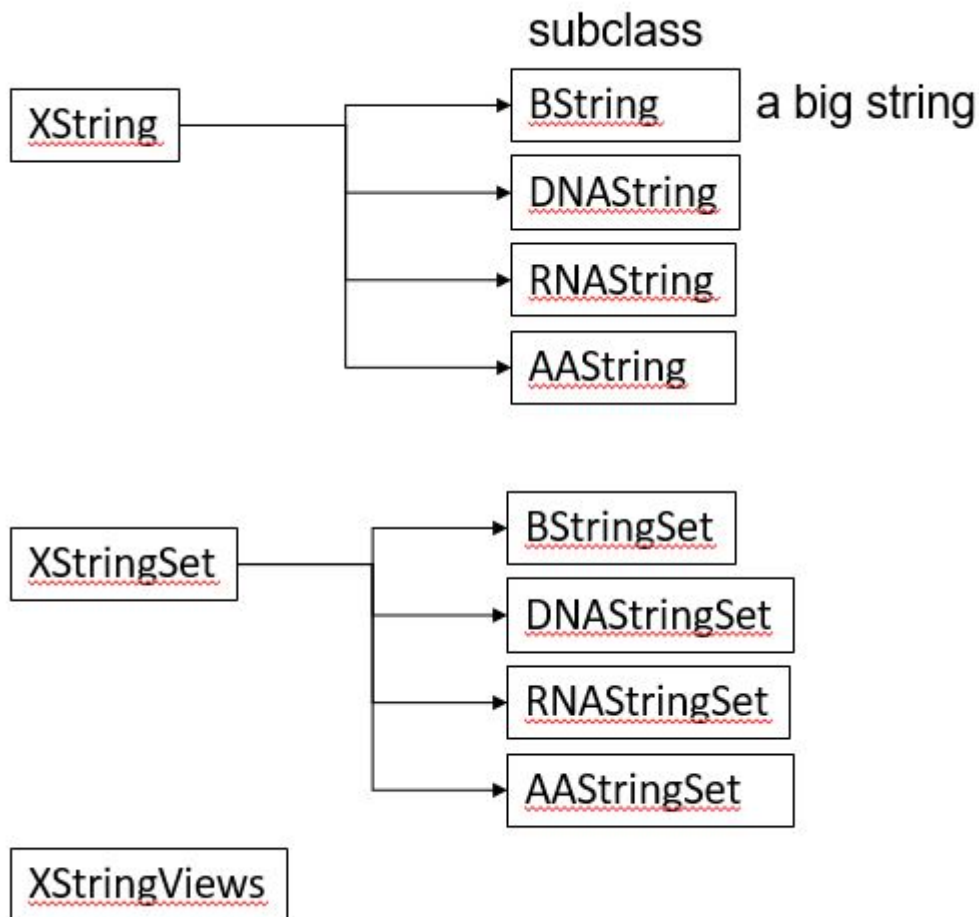
Biostrings는 DNA, RNA, amino acids와 같은 생물학적 string을 다루기 위한 다양한 함수를 제공하는 패키지입니다. 특히 서열에서의 패턴 탐색이나 Smith-Waterman local alignments, Needleman-Wunsch global alignments 등의 서열 비교함수를 제공하여 간단한 서열 분석에 자주 활용되는 패키지입니다 (?). 아래와 같이 설치할 수 있습니다.

```
if (!requireNamespace("BiocManager", quietly = TRUE))
  install.packages("BiocManager")

BiocManager::install("Biostrings")
```

```
library(Biostrings)
```

Biostrings 패키지는 기본적으로 XString, XStringSet, XStringViews 3가지의 class를 정의하고 있습니다. XString은 DNA나 RNA, AA 등 생물학적 서열 한 가닥을 다루기 위한 클래스이며 XStringSet은 여러 가닥을 다루기 위한 클래스입니다.



DNAString 함수를 이용해서 객체를 만들어낼 수 있으며 ‘A’, ‘C’, ‘G’, ‘T’ 외에 ‘-’ (insertion), ‘N’ 을 허용합니다.

```

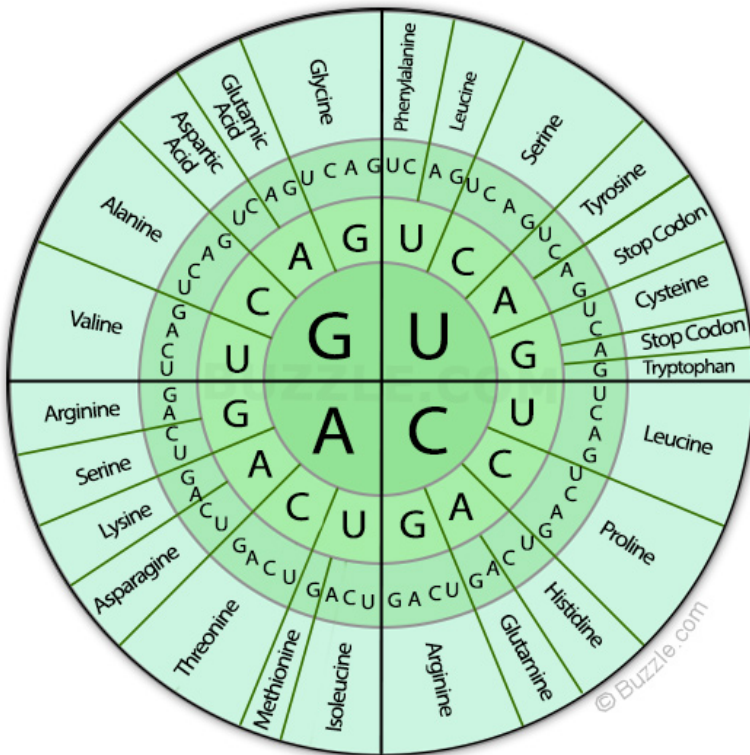
dna1 <- DNAString("ACGT?")
dna1 <- DNAString("ACGT-N")
dna1[1]
dna1[2:3]

dna2 <- DNAStringSet(c("ACGT", "GTCA", "GCTA"))
dna2[1]
dna2[[1]]
dna2[[1]][1]
  
```

다음 내장변수 들은 Biostrings 패키지를 로드하면 자동으로 저장되는 변수들로 생물학적 서열을 미리 정의해 놓았습니다. IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry, 국제 순수·응용 화학 연합)

```

DNA_BASES
DNA_ALPHABET
IUPAC_CODE_MAP
GENETIC_CODE
  
```

To decode the codon, move from the center circle towards the periphery.

위 변수들을 이용하면 다음처럼 `sample()` 함수를 이용해서 랜덤하게 DNA 서열을 얻을 수 있습니다. `DNA_BASES`가 4개 길이를 갖는 벡터인데 이 중 10개를 뽑으려면 `replace=T`로 해야 합니다.

```
x0 <- sample(DNA_BASES, 10, replace = T)
x0
s1 <- "ATG"
s2 <- "CCC"
s3 <- paste(s1, s2, sep="")
s3
x1 <- paste(x0, collapse="")
x1
```

관련 함수는 [Cheat sheet](#) 참고

7.1.1 DNASTring

`DNASTring` class에서 `length` 함수는 핵산의 갯수를 (`DNASTringSet` 타입의 변수에서 `length`는 DNA 가닥의 갯수) 계산하며 핵산의 갯수는 `nchar` 함수로 얻어낼 수 있습니다. `toString`은 `DNASTring` 타입을 단순 문자열로 변환해주는 함수이며 상보서열, 역상보서열 등의 정보도 `complement`, `reverseComplement` 등을 사용하여 찾아낼 수 있습니다.

```
x0 <- paste(sample(DNA_BASES, 10, replace = T), collapse="")
x1 <- DNASTring(x0)
class(x0)
class(x1)
length(x1)
toString(x1)
complement(x1)
Biostrings::complement(x1)
reverseComplement(x1)
```

`DNASTring`의 인덱싱은 `vector (string)`과 같으며 `DNASTringSet`은 `list`의 인덱싱과 같습니다.

```
## indexing
x1[1]
x1[1:3]
subseq(x1, start=3, end=5)
subseq(x1, 3, 5)
```

```
## letter frequency
alphabetFrequency(x1, baseOnly=TRUE, as.prob=TRUE)
letterFrequency(x1, c("G", "C"), as.prob=TRUE)
```

7.1.2 DNASTringSet

DNASTringSet class는 여러개의 DNASTring 을 모아 놓은 집합이라고 보면 됩니다. length 함수는 DNA string의 갯수이며 width 또는 nchar 함수로 각 string의 길이를 구할 수 있으며 이 외 대부분의 DNASTring 에서 사용되는 함수가 동일하게 사용될 수 있습니다.

```
x0 <- c("CTC-NACCACTAT", "TTGA", "TACCTAGAG")
x1 <- DNASTringSet(x0)
class(x0)
class(x1)
names(x1)
names(x1) <- c("A", "B", "C")
length(x1)
width(x1)
subseq(x1, 2, 4)
x1[[1]]
x1[1]

x3 <- DNASTring("ATGAGTAGTTAG")
x4 <- c(x1, DNASTringSet(x3))
x4[-1]
x4
alphabetFrequency(x1, baseOnly=TRUE, as.prob=TRUE)
letterFrequency(x1, c("G", "C"), as.prob=TRUE)
rowSums(letterFrequency(x1, c("G", "C"), as.prob=TRUE))
subseq(x4, 2, 4)
```

```
x1 <- paste(sample(DNA_BASES, 10, replace = T), collapse="")
x2 <- paste(sample(DNA_BASES, 10, replace=T), collapse="")

x3 <- DNASTring(x1)
x4 <- DNASTring(x2)

DNASTringSet(c(x1, x2))
DNASTringSet(c(x3, x4))
```

7.1.3 Exercise

1. 시작코돈과 종결코돈이 있는 길이 36bp 짜리 DNA (랜덤) 서열을 10개 만들어서 DNASTringSet class로 저장하시오
2. 위 생성한 10개 서열의 GC 비율을 계산하시오

아래는 가장 직관적으로 생각할 수 있는 for를 이용한 방법입니다. 즉, 10개 저장소를 갖는 x0 변수를 미리 생성해 두고 for 문을 돌면서 서열을 하나씩 만들어 저장하는 방법입니다.

```
x0 <- rep("", 10)
for(i in 1:length(x0)){
  tmp <- paste(sample(DNA_BASES, 30, replace = T), collapse="")
  x0[i] <- paste("ATG", tmp, "TAG", sep="")
}
x0
```

위 코드를 함수로 만들어 보겠습니다. random dna를 만들 때 길이만 다를뿐 같은 코드를 반복해서 사용하고 있습니다. 이럴 경우 DNA 길이를 사용자가 정해주도록 input parameter로 하고 해당 파라미터를 받아 DNA를 만들어 주는 함수를 만들어 사용하면 편리합니다.

```
data(DNA_BASES)
random_dna <- function(len){
  tmp <- paste(sample(DNA_BASES, len, replace = T), collapse="")
  x0 <- paste("ATG", tmp, "TAG", sep="")
  return(x0)
}
random_dna(len=30)
random_dna(len=40)
```

파라미터로 넘겨진 len 값이 sample 함수의 len에 사용된 것을 참고하세요.

이제 길이 30bp짜리 10개의 서열을 반복해서 만들 때 위 함수를 앞서와 같이 for문을 이용하여 10번 반복해서 실행해 주면 같은 결과를 얻습니다. 위와 같이 함수를 만들어 두면 언제든지 DNA 서열을 만들 때 재사용 할 수 있습니다.

```
x0 <- rep("", 10)
for(i in 1:length(x0)){
  x0[i] <- random_dna(30)
}
x0
```

그런데 R에는 apply 와 같은 행렬연산 함수가 있어서 for문을 사용하지 않고 편리하게 반복문을 실행할 수 있습니다. replicate 함수는 apply와 같은 기능으로 list나 vector 변수에 대해서 사용할 수 있습니다. 즉, 다음과 같이 사용자가 원하는 함수를 반복해서 실행하고 반복 수 만큼의 길이를 갖는 결과를 반환합니다.

```
x0 <- replicate(10, random_dna(30))
x0
x1 <- DNASTringSet(x0)
x1
```

위 x0 스트링들을 XStringSet으로 바꾸고 GC 비율을 구한 후 bargraph를 그리겠습니다. gc_ratio가 G와 C의 비율값을 저장한 10x2 테이블이므로 x축에 10개의 서열과 각 서열의 GC비율을 나타내고 y축에 비율 값을 그리는 것으로 생각한 후 ggplot의 aes와 파라미터를 적절히 지정해 줍니다.

```
x1 <- DNASTringSet(x0)
gc_ratio1 <- letterFrequency(x1, c("G", "C"), as.prob=TRUE)
gc_ratio2 <- rowSums(gc_ratio1)
barplot(gc_ratio2, beside=T)
```

7.1.4 Apply functions

apply는 데이터를 변형하기 위한 함수라기 보다는 데이터를 다룰 때 각 원소별, 그룹별, row, 또는 column 별로 반복적으로 수행되는 작업을 효율적으로 수행할 수 있도록 해주는 함수입니다. apply 계열의 함수를 적절히 사용하면 효율성이나 편리성 뿐만 아니라 코드의 간결성 등 많은 장점이 있습니다. apply의 두 번째 인자인 margin의 값으로 (?apply참고) 여기서는 2가 사용되었으며 margin 값이 1인지 2인지에 따라서 다음과 같이 작동을 합니다.

		열 (2)	
행 (1)	gestation	wt	dwt
	284	120	110
	282	113	148
	279	128	NA
	NA	123	197
	282	108	NA
	286	136	130

mean외에도 다양한 함수들이 사용될 수 있으며 아래와 같이 임의의 함수를 만들어서 사용할 수 도 있습니다. 아래 코드에서는 function(x)...로 바로 함수의 정의를 넣어서 사용했으나 그 아래 mysd 함수와 같이 미리 함수 하나를 만들고 난 후 함수 이름을 이용해서 apply를 적용할 수 있습니다.

```

nums <- sample(1:100, 100, replace = T)
df <- matrix(nums, nrow=20, ncol=5)
apply(df, 2, sd)
apply(df, 2, mean)
apply(df, 1, sd)
sd(df[1,])

apply(df, 2, sd, na.rm=T)
apply(df, 2, function(x){
  xmean <- mean(x, na.rm=T)
  return(xmean)
})

```

apply 함수 외에도 sapply, lapply, mapply 등의 다양한 apply 계열 함수가 쓰일 수 있습니다. 먼저 lapply는 matrix 형태 데이터가 아닌 list 데이터에 사용되어 각 list 원소별로 주어진 기능을 반복해서 수행하며 sapply는 lapply와 유사하나 벡터, 리스트, 데이터프레임 등에 함수를 적용할 수 있고 그 결과를 벡터 또는 행렬로 반환합니다.

```

l <- list()
l[[1]] <- sample(1:100, 100, replace = T)
l[[2]] <- sample(1:100, 100, replace = T)
l[[3]] <- sample(1:100, 100, replace = T)
l[[4]] <- sample(1:100, 100, replace = T)

lapply(l, sd)
sapply(1:4, function(x){
  sample(1:100, 100, replace = T)
})

```

7.1.5 XStringView

Biostrings의 또 다른 class인 XStringView는 XString class의 DNA서열을 사용자가 원하는대로 볼 수 있는 인터페이스를 제공합니다. 사용법은 다음과 같습니다.

```

x2 <- x1[[1]]
Views(x2, start=1, width=20)
Views(x2, start=1, end=4)
Views(x2, start=c(1,3), end=4)
Views(x2, start=c(1,3,4), width=20)
Views(x2, start=c(1,3,4), width=20)
i <- Views(x2, start=c(1,3,4), width=20)

```

다음과 같이 한 서열에 대한 여러 부분의 서열 조각도 볼 수 있으며 gaps 함수는 매개변수로 주어진 서열 view의 구간을 제외한 나머지 구간의 서열을 보여주는 함수입니다. successiveviews 함수는 처음 서열부터 매개변수 width에 주어진 갯수 만큼의 서열을 보여주며 rep() 함수를 이용해서 서열의 처음부터 끝까지 보여주는 기능을 합니다.

```

v <- Views(x2, start=c(1,10), end=c(3,15))
gaps(v)

successiveViews(x2, width=20)
successiveViews(x2, width=rep(20, 2))
successiveViews(x2, width=rep(20, 3))

```

7.1.6 sequence read and write

기본 DNA 서열의 읽고 쓰기이며 fasta와 fastq 등이 가능합니다.

```

writeXStringSet(DNAStringSet(x0), "myfastaseq.fasta", format="fasta")

myseq <- readDNAStringSet("myfastaseq.fasta", format="fasta")
myseq

```

7.1.7 Exercise

1. 1000bp 길이의 랜덤 DNA 서열을 만들고 40bp 단위의 길이로 보는 코드를 작성하시오.

앞서 만들어둔 `random_dna()` 함수를 사용하면 되며 `successiveview` 함수를 사용해야 하므로 `DNASTring`으로 변환이 필요하며 서열의 길이에 따라서 `rep()` 를 이용하여 반복 횟수를 자동 계산합니다.

7.2 Sequences from NCBI

전세계 연구자들이 서열 데이터를 분석하는데 가장 많이 이용하는 사이트 중 하나가 NCBI 이며 따라서 NCBI에서는 연구자들이 데이터베이스에 접근하기위한 편리한 방법을 제공하고 있고 그 중 하나가 Entrez 입니다.

R에서도 Entrez 기능을 도입한 package들이 제공되고 있으며 그 중 하나가 `rentrez` 입니다. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK25500/> 이 곳의 Downloading Full Records 를 참고하시면 좋습니다. Entrez는 대략적으로 다음 9개의 유틸리티를 제공합니다.

- EInfo (database statistics)
- ESearch (text searches)
- EPost (UID uploads)
- ESummary (document summary downloads)
- EFetch (data record downloads)
- ELink (Entrez links)
- EGQuery (global query)
- ESpell (spelling suggestions)
- ECitMatch (batch citation searching in PubMed)

이 중 `ESearch`, `EPost`, `ESummary`, `EFetch` 등이 많이 사용하는 유틸이며 정보를 다운로드 받을 경우는 `EFetch` 를 주로 사용하게 됩니다. `rentrez` 는 위와 같은 NCBI Eutils API를 활용하여 R 환경에서 탐색이나 다운로드 등 NCBI 데이터베이스와 상호작용이 용이하도록 만들어 놓은 tool 입니다.

```
library(rentrez)

entrez_dbs()
entrez_db_summary("nucleotide")

covid_paper <- entrez_search(db="pubmed", term="covid19")
covid_paper$ids

names(covid_paper)
covid_paper$ids

covid_link <- entrez_link(db="all", id=covid_paper$ids, dbfrom="pubmed")
names(covid_link)
names(covid_link$links)
```

특정 균주에 대한 정보를 찾은 후 두 개의 loci에 대한 서열 정보를 다운로드 하는 코드입니다.

```
katipo_search <- entrez_search(db="popset", term="Latrodectus katipo[Organism]")
katipo_search$count

katipo_summs <- entrez_summary(db="popset", id=katipo_search$ids)
names(katipo_summs)
katipo_summs$`41350664`
class(katipo_summs)
methods(class="esummary_list")

titles <- extract_from_esummary(katipo_summs, "title")
unname(titles)

print(katipo_summs)
```

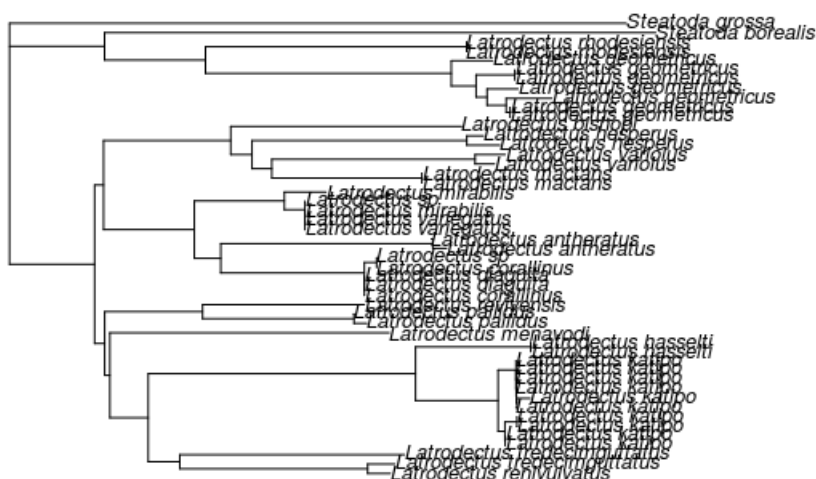
```
katipo_summs$`1790798044`$gi
```

```
COI_ids <- katipo_search$ids[c(2,6)]
trnL_ids <- katipo_search$ids[5]
COI <- entrez_fetch(db="popset", id=COI_ids, rettype="fasta")
trnL <- entrez_fetch(db="popset", id=trnL_ids, rettype="fasta")
```

```
write(COI, "COI.fasta")
```

아래는 관련 서열들을 비교해서 트리를 그리는 코드입니다. ape라는 패키지를 사용하며 align tool은 대부분 linux 기반 commandline 프로그램들이 많습니다. window 기반 환경에서는 docker 등을 활용해서 관련 분석을 수행할 수 있습니다.

```
library(ape)
tf <- tempfile()
write(COI, tf)
coi <- read.dna(tf, format="fasta")
coi_aligned <- muscle(coi)
tree <- nj(dist.dna(coi_aligned))
tree$tip.label <- stringr::str_extract(tree$tip.label, "Steatoda [a-z]+|Latrodectus [a-z]+")
plot( root(tree, outgroup="Steatoda grossa" ), cex=0.8)
```



7.2.1 Exercise

1. 뎡기바이러스 서열 4종에 대한 NCBI의 accession 번호가 다음과 같음 NC_001477, NC_001474, NC_001475, NC_002640 해당 DNA 서열을 fasta 형식으로 nuccore 데이터베이스에서 다운로드 하시오

7.3 Sequence statistics

oligonucleotideFrequency 는 width와 step 이라는 옵션에 따라서 해당 서열의 모든 핵산의 수를 세어주는 함수입니다. 다음에 사용되는 yeastSEQCHR1는 yeast의 첫 번째 염색체 정보를 담고 있는 데이터 입니다.

```
data(yeastSEQCHR1)
yeast1 <- DNASTring(yeastSEQCHR1)

oligonucleotideFrequency(yeast1)
dinucleotideFrequency(yeast1)
trinucleotideFrequency(yeast1)
```



```
tri <- trinucleotideFrequency(yeast1, as.array=TRUE)
```

yeast1 서열을 아미노산 서열로 변환한 후 코돈과 아미노산들의 분포를 보겠습니다. 참고로 너무 많은 범위의 탐색은 계산을 느려지게 할 수 있습니다.

```
tri1 <- trinucleotideFrequency(yeast1)
names(tri1) <- GENETIC_CODE[names(tri1)]
sapply(split(tri1, names(tri1)), sum)
```

ORF 단위로 묶어서 탐색을 할 수 있습니다. ORF를 찾는 다양한 툴이 있고 만들수도 있지만 본 강의에서는 NCBI에서 제공하는 orffinder를 사용하도록 하겠습니다.

Open Reading Frame Viewer [Help](#)

Sequence

ORFs found: 305 Genetic code: 1 Start codon: 'ATG' only
ORFs were calculated on the interval from 1 to 50000 nt

1: 1..51K (51,000 nt)

ORF84 (36 aa) Display ORF as... Unmark

Mark subset... Marked: 305 Download marked set as CDS FASTA

Label	Strand	Frame	Start	Stop	Length (nt aa)
ORF111	+	3	23544	23657	114 37
ORF134	+	3	44265	44378	114 37
ORF191	-	3	49954	49841	114 37
ORF2	+	1	922	1035	114 37
ORF189	-	2	3698	3588	111 36
ORF246	-	3	1882	1772	111 36
ORF305	-	1	186	76	111 36
ORF183	-	2	10046	9936	111 36
ORF181	-	2	12425	12315	111 36
ORF41	+	2	5102	5212	111 36

ORF84

Marked set (305)

SmartBLAST BLAST

SmartBLAST best hit titles...

BLAST

```
my_ORFs <- readDNASTringSet("yeast1orf.fasta")
hist(nchar(my_ORFs), br=100)
codon_usage <- trinucleotideFrequency(my_ORFs, step=3)
global_codon_usage <- trinucleotideFrequency(my_ORFs, step=3, simplify.as="collapsed")
stopifnot(all(colSums(codon_usage) == global_codon_usage)) # sanity check
```

```
library(tidyverse)

mydat <- global_codon_usage %>%
  data.frame %>%
  rownames_to_column %>%
  rename(codon = "rowname", freq = ".")

ggplot(mydat, aes(x=codon, y=freq)) +
  geom_bar(stat="identity")
```

7.3.1 Exercise

1. 위에서 그려진 그림에서 `dplyr::arrange`를 사용해서 데이터를 다시 배치하고 x 라벨은 세로로 90도 회전시키는 등 적절한 theme 옵션을 사용해서 명확하게 식별 가능한 그림으로 다시 그리시오

7.4 Align two sequences

Biostrings 패키지에는 다음과 같이 local, global alignment를 수행할 수 있는 함수를 제공하고 있습니다. pattern과 subject 구분 주의하세요

```
aln <- pairwiseAlignment(dang[[1]], dang[[2]])
alnseqs <- c(alignedPattern(aln), alignedSubject(aln))
class(aln)
class(alnseqs)

methods(class="PairwiseAlignmentsSingleSubject")
methods(class="DNAStringSet")

library(DECIPHER)
BrowseSeqs(alnseqs)
```

DECIPHER 패키지는 서열 alignment나 primer design 등을 수행할 수 있는 패키지로 다음과 같이 별도 메모리에 서열을 저장하고 빠르게 alignment를 수행할 수 있어서 중소 규모의 서열에 대한 분석으로 유용하게 사용될 수 있습니다.

```
library(DECIPHER)
dbConn <- dbConnect(SQLite(), ":memory:")
Seqs2DB(dang, "XStringSet", dbConn, "dang")
BrowseDB(dbConn)

l <- IdLengths(dbConn)
Add2DB(l, dbConn)
BrowseDB(dbConn)

## sequence
dna <- SearchDB(dbConn, identifier="dang")
BrowseSeqs(dna)

dbDisconnect(dbConn)
#BrowseSeqs(dna, patterns=forpatterns, colWidth=500)
```

```
**      **
Docker
multiple sequence alignment
genbank file read/write
IRanges/GenomicRanges
Sequence pattern match
```


Chapter 8

Day2 강의 정리

8.1 Class 1 - ggplot 활용 1

8.1.1 목표

- ggplot 개념 이해
- 그리는 방법 (단계) 이해

8.1.2 ggplot 문법

```
library(tidyverse)

head(iris)
data(iris)

iris %>% str
ggplot(data=iris) +
  geom_point(mapping=aes(x=Petal.Length, y=Petal.Width))

ggplot(data=iris,
        mapping = aes(x=Petal.Length,
                       y=Petal.Width,
                       color=Species)) +
  geom_point(size=3) +
  theme_bw()

dat <- data.frame(x1=rnorm(100))
ggplot(dat, aes(x=x1)) +
  geom_bar()

ggplot(dat, aes(x=x1)) +
  geom_bar(stat="bin", bins=30)

x1 <- as.factor(c(1:3))
y1 <- c(33, 10, 82)
dat <- data.frame(x1, y1)
str(dat)

ggplot(dat, aes(x=x1, y=y1, group=1)) +
  geom_bar(stat="identity") +
  geom_line(size=2) +
  geom_point(size=4, pch=21, fill="white") +
  guides(fill=FALSE) +
  xlab("Discrete cases") + ylab("Value") +
```

```

ylim(c(0,100))+
ggtitle("Line for x:discrete and y:value")

ggplot(dat, aes(x=x1, y=y1, group=1)) +
  geom_bar(stat="identity", fill=x1) +
  geom_line(size=2) +
  geom_point(size=4, pch=21, fill="white") +
  guides(fill=FALSE) +
  xlab("Discrete cases") + ylab("Value") +
  ylim(c(0,100))+
  ggtitle("Line for x:discrete and y:value")

data(mtcars)
mtcars %>% str
ggplot(mtcars, aes(x=mpg, y=hp)) +
  geom_point() +
  geom_smooth()

weights <- rnorm(200, 75, 5)
heights <- weights + rnorm(200, 100, 5)
classes <- sample(c("A", "B", "C", "D"), size=length(heights), replace = T)
mydata <- data.frame(heights, weights, classes)
str(mydata)

ggplot(mydata, aes(x=weights, y=heights, color=classes)) +
  geom_point() +
  geom_smooth()

```

8.1.3 facet 사용법

하나의 변수를 하나의 축에 mapping해서 그릴 경우 facet_wrap 사용, nrow, ncol로 다른 축 그래프 갯수 조절. 두 개의 변수를 x, y축에 각각 mapping해서 그래프를 나누어 그릴 때 facet_grid 사용

```

ggplot(iris,
  aes(x=Petal.Length,
      y=Petal.Width,
      color=Species)) +
  geom_point() +
  geom_smooth() +
  facet_wrap(~Species, scale="free")

Orange %>% str
data(Orange)

## 1
ggplot(data=Orange,
  aes(x=age, y=circumference, color=Tree)) +
  geom_point() +
  geom_line()

## 2
ggplot(data=Orange,
  aes(x=age, y=circumference)) +
  geom_point() +
  geom_line() +
  geom_smooth() +
  facet_wrap(~Tree)

data(InsectSprays)

```

```
InsectSprays %>%
  ggplot(aes(x=spray, y=count, fill=spray)) +
  geom_bar(stat="identity",
           position="dodge") +
  facet_wrap(~spray)
```

8.2 Class 2 - ggplot 활용 2

8.2.1 목적

- theme 사용법 알기
- 에러바 그리기

8.2.2 theme 사용

x, y mapping, geometry 요소들 외에 글씨 크기나 화면 구성 등의 설정을 할 경우 theme 함수를 사용함. ggplot2 book 참고

```
mydf <- data.frame(x=rlnorm(1000, log(10), log(2.5)))
mydf %>% str
p <- ggplot(mydf, aes(x=x)) +
  geom_histogram()
p +
  theme_bw()+
  scale_x_log10()
```

에러바 있는 막대그래프 그리기

```
airquality %>% str
data(airquality)

airmean <- airquality %>%
  filter(complete.cases(.)) %>%
  select(-Day) %>%
  group_by(Month) %>%
  summarise(across(everything(), mean)) %>%
  pivot_longer(-Month, values_to = "mean")

airsd <- airquality %>%
  filter(complete.cases(.)) %>%
  select(-Day) %>%
  group_by(Month) %>%
  summarise(across(everything(), sd)) %>%
  pivot_longer(-Month, values_to = "sd")

airdata <- left_join(airmean, airds, by=c("Month", "name"))

ggplot(airdata, aes(x=Month,
                    y=mean,
                    fill=name)) +
  geom_bar(stat="identity",
           position="dodge",
           color="#000000") +
  geom_errorbar(aes(ymin=mean-sd,
                    ymax=mean+sd),
               position=position_dodge(width=0.9),
               width=0.4) +
  theme_bw()
```

8.3 class 3 - S3 클래스 학습

8.3.1 목적

- R언어에서 S3 클래스 이해
- Biostrings 패키지 사용법 학습

8.3.2 S3 클래스 이해

```
df <- data.frame(x=c(1:5), y=LETTERS[1:5])
df
class(df)
```

```
class(df) <- "myclass"
class(df)
```

```
x <- 1:10
class(x)
attr(x, "class")
```

```
mt <- matrix(1:9, 3,3)
df <- data.frame(1:3, 4:6, 7:9)
```

```
class(mt)
str(mt)
str(df)
```

```
diamonds <- ggplot2::diamonds
data(diamonds)
```

```
summary(diamonds$carat)
summary(diamonds$cut)
```

```
mysum <- function(x){
  if(x == "character"){

  }else{

  }
  print(sum(x))
}
```

```
mysum(c(10, "20"))
```

```
library(Homo.sapiens)
class(Homo.sapiens)
```

```
Homo.sapiens
methods(class="OrganismDb")
```

```
?cds
tmp <- cds(Homo.sapiens)
tmp
```

8.3.3 Biostrings 패키지

```
library(Biostrings)

dna1 <- DNAString("ACGT-N")
class(dna1)
dna1[1]
dna1[2:3]

dna2 <- DNAStringSet(c("ACGT", "GTCA", "GCTA"))
dna2[1]
class(dna2[1])
dna2[[1]]
```

```
DNA_BASES
DNA_ALPHABET
IUPAC_CODE_MAP
GENETIC_CODE
```

```
x0 <- sample(DNA_BASES, 10, replace = T)
x0
s1 <- "ATG"
s2 <- "CCC"
s3 <- paste(s1, s2, sep="")
s3
x1 <- paste(x0, collapse="")
x1
```

8.4 class 4 - Biostrings 활용

8.4.1 목적

- Biostrings 패키지 활용한 코돈 분석

```
DNAString
x0 <- paste(sample(DNA_BASES, 10, replace = T), collapse="")
subseq(x0, 1, 3)
x1 <- DNAString(x0)
letterFrequency(x1, letters = c("G", "C"))
```

```
x0 <- rep("", 10)
for(i in 1:length(x0)){
  tmp <- paste(sample(DNA_BASES, 30, replace = T), collapse="")
  x0[i] <- paste("ATG", tmp, "TAG", sep="")
}
x0
length(x0)
x1 <- DNAStringSet(x0)
x1
#names(x1) <- c("DNA1", "DNA2".. )
names(x1) <- paste("DNA", 1:10, sep="")
x1
```

```
?letterFrequency
tmpd <- letterFrequency(x1, letters=c("G", "C"))
tmpv <- (tmpd[,1]+tmpd[,2])/nchar(x1[[1]])
names(tmpv) <- names(x1)
barplot(tmpv)
```

```
tmpd %>%
  data.frame %>%
  mutate(GC=G+C, name=names(x1), n=nchar(x1)) %>%
  mutate(GCR = GC/n) %>%
  ggplot(aes(x=name, y=GCR)) +
    geom_bar(stat="identity")
```

```
data(yeastSEQCHR1)
yeastSEQCHR1
nchar(yeastSEQCHR1)
yeast1 <- DNASTring(yeastSEQCHR1)

tri <- trinucleotideFrequency(yeast1)

names(tri) <- GENETIC_CODE[names(tri)]
tri

tmpd <- data.frame(freq=tri, aa=names(tri))
tmpd %>%
  ggplot(aes(x=aa, y=freq, fill=aa)) +
    geom_bar(stat="identity")
```

Chapter 9

Working with DNA sequences II

9.1 Sequences from NCBI

전세계 연구자들이 서열 데이터를 분석하는데 가장 많이 이용하는 사이트 중 하나가 NCBI 이며 따라서 NCBI에서는 연구자들이 데이터베이스에 접근하기위한 편리한 방법을 제공하고 있고 그 중 하나가 Entrez 입니다.

R에서도 Entrez 기능을 도입한 package들이 제공되고 있으며 그 중 하나가 `rentrez` 입니다. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK25500/> 이 곳의 Downloading Full Records 를 참고하시면 좋습니다. Entrez는 대략적으로 다음 9개의 유틸리티를 제공합니다.

- EInfo (database statistics)
- ESearch (text searches)
- EPost (UID uploads)
- ESummary (document summary downloads)
- EFetch (data record downloads)
- ELink (Entrez links)
- EGQuery (global query)
- ESpell (spelling suggestions)
- ECitMatch (batch citation searching in PubMed)

이 중 ESearch, EPost, ESummary, EFetch 등이 많이 사용하는 유틸이며 정보를 다운로드 받을 경우는 EFetch 를 주로 사용하게 됩니다. `rentrez` 는 위와 같은 NCBI Eutils API를 활용하여 R 환경에서 탐색이나 다운로드 등 NCBI 데이터베이스와 상호작용이 용이하도록 만들어 놓은 tool 입니다.

```
library(rentrez)

entrez_dbs()
entrez_db_summary("nucore")

covid_paper <- entrez_search(db="pubmed", term="covid19")
covid_paper$ids

names(covid_paper)
covid_paper$ids

covid_link <- entrez_link(db="all", id=covid_paper$ids, dbfrom="pubmed")
names(covid_link)
names(covid_link$links)
head(covid_link$links$pubmed_pubmed)
```

특정 군주에 대한 정보를 찾은 후 두 개의 loci에 대한 서열 정보를 다운로드 하는 코드입니다. `rettype` (return type) 등 자세한 정보는 Eutils table 또는 NCBI Eutils 페이지를 참고하시기 바랍니다.

```
# popset database is a collection of related DNA sequences derived from population
katipo_search <- entrez_search(db="popset", term="Latrodectus katipo[Organism]")
katipo_search$ids
```

```
katipo_summs <- entrez_summary(db="popset", id=katipo_search$ids)
names(katipo_summs)
katipo_summs$`41350664`
class(katipo_summs)
methods(class="esummary_list")

titles <- extract_from_esummary(katipo_summs, "title")
unname(titles)

print(katipo_summs)
katipo_summs$`1790798044`$gi

COI_ids <- katipo_search$ids[c(2,6)]
trnL_ids <- katipo_search$ids[5]
COI <- entrez_fetch(db="popset", id=COI_ids, rettype="fasta")
trnL <- entrez_fetch(db="popset", id=trnL_ids, rettype="fasta")

write(COI, "COI.fasta")
write(trnL, "trnL.fasta")

#library(Biostrings)
coi <- readDNAStringSet("COI.fasta")
trnL <- readDNAStringSet("trnL.fasta")
```

9.1.1 Exercise

1. Denggi 바이러스 서열 4종에 대한 NCBI의 accession 번호가 다음과 같음 NC_001477, NC_001474, NC_001475, NC_002640 해당 DNA 서열을 fasta 형식으로 nuccore 데이터베이스에서 다운로드 하시오
2. COVID-19 서열의 NCBI accession 번호를 찾고 nuccore 데이터베이스에서 fasta 포맷과 genbank 포맷의 정보를 다운로드 하고 파일에 저장하시오. 또한 이 파일들을 각각 Biostrings 패키지와 genbankr 패키지를 사용해서 읽어들이시오.

9.2 Pattern matching

Biostrings 패키지에는 하나의 subject 서열에 특정 pattern이 존재하는지 탐색하는 `matchPattern` 함수를 제공합니다. 만약 여러개의 subject 서열에서 하나의 pattern을 찾을 경우에는 `vmatchPattern` 함수를 사용하고 하나의 subject 서열에 여러개의 pattern을 찾는 경우에는 `matchPDict` 함수를 사용합니다.

```
library(Biostrings)

length(coi)
hits <- matchPattern("ATG", coi[[1]], min.mismatch=0, max.mismatch=0)
hits
class(hits)
methods(class="XStringViews")
ranges(hits)

hits <- vmatchPattern("ATG", coi, min.mismatch=0, max.mismatch=0)
stack(hits)
```

9.3 Align two sequences

Biostrings 패키지에는 다음과 같이 local, global alignment를 수행할 수 있는 함수를 제공하고 있습니다. 첫 번째 파라미터는 pattern이며 두 번째는 subject로서 pattern은 query로서 해당 서열이 subject (target)에 있는지를 보는 것과 같습니다.


```

coi <- readDNASTringSet("COI.fasta")
coi

aln <- pairwiseAlignment(coi[[1]], coi[[2]])
alnseqs <- c(alignedPattern(aln), alignedSubject(aln))
class(aln)
class(alnseqs)

methods(class="PairwiseAlignmentsSingleSubject")
methods(class="DNASTringSet")

library(DECIPHER)
BrowseSeqs(alnseqs)
BrowseSeqs(alnseqs, colWidth=200)
BrowseSeqs(alnseqs, colWidth=200, patterns = "TCCTGCCCGGGGCCT")

```

DECIPHER 패키지는 서열 alignment나 primer design 등을 수행할 수 있는 패키지로 다음과 같이 별도 메모리에 서열을 저장하고 빠르게 alignment를 수행할 수 있어서 중소 규모의 서열에 대한 분석으로 유용하게 사용될 수 있습니다.

```

library(DECIPHER)
dbConn <- dbConnect(SQLite(), ":memory:")
Seqs2DB(coi, "XStringSet", dbConn, "coi")
BrowseDB(dbConn)

l <- IdLengths(dbConn)
Add2DB(l, dbConn)
BrowseDB(dbConn)

Seqs2DB(trn1, "XStringSet", dbConn, "trn1")
BrowseDB(dbConn)

## extract sequences
dna <- SearchDB(dbConn, identifier="coi")
BrowseSeqs(dna)

dbDisconnect(dbConn)

```

9.4 Multiple sequence alignment

Multiple sequence alignment(MSA) tool은 서열 데이터의 양과 계산량의 문제로 linux 기반 commandline 프로그램들이 많습니다. 대표적으로 CLUSTAL-Omega, MUSCLE. window 기반 환경에서는 docker 등을 활용해서 관련 분석을 수행할 수 있습니다. 본 강의에서는 DECIPHER 패키지를 활용합니다.

```

library(Biostrings)
library(DECIPHER)

coi <- readDNASTringSet("COI.fasta")
BrowseSeqs(coi)
alignedcoi <- AlignSeqs(coi)
BrowseSeqs(alignedcoi)
class(alignedcoi)

conseq <- ConsensusSequence(alignedcoi)
IUPAC_CODE_MAP

```

9.5 Phylogenetic trees with clustering

```

dm <- DistanceMatrix(alignedcoi)
class(dm)

```

```
dim(dm)
dm[1:2,1:2]

tree <- IdClusters(dm, cutoff=10, method="NJ", showPlot=TRUE, type="dendrogram")
class(tree)
methods(class="dendrogram")
plot(tree)
```

트리는 ggplot 형태의 ggtree, reference를 사용하면 쉽게 그릴 수 있습니다.

```
if (!requireNamespace("BiocManager", quietly = TRUE))
  install.packages("BiocManager")

BiocManager::install("ggtree")

library(ggtree)
tree <- rtree(n = 20)
class(tree)
methods(class="phylo")

library("ape")

## convert to dendrogram -> hclust -> phylo
cl <- as.hclust(tree)
class(cl)
methods(class="hclust")

py <- as.phylo(cl)
class(py)
ggtree(py)

ggtree(py, layout="circular")

ggtree(py, layout="circular") +
  geom_tiplab(size=1, aes(angle=angle))
```

Chapter 10

Genomic data analysis

10.1 IRanges

유전체 데이터의 대부분을 차지하는 정보는 전체 지놈 서열 중 어디서 어디까지가 유전자 또는 coding sequence 이고 그 번역된 정보가 무엇인지 설명하는 정보입니다. 즉, 일련의 feature에 대한 위치와 특성 정보를 분석하는 것이 효율적인 지놈을 분석하기 위해 필수입니다. bioconductor에서는 이러한 유전체 정보를 효율적으로 분석하고 가시화 하기위한 방법들이 다양하게 개발되어 왔으며 IRanges와 GenomicRanges라는 패키지가 대표적으로 사용될 수 있습니다.

IRanges는 간격을 나타내는 임의의 숫자 세트이며 지놈상에 위치한 특정 feature들의 간격이나 통계적 수치들을 효율적으로 나타내기 위해서 만들어진 패키지 입니다 (?). 임의의 feature에 대한 시작, 끝, 넓이를 나타내는 숫자들이 리스트로 이루어져 있습니다.

```
library(IRanges)

ir <- IRanges(start = c(1,3,5), end = c(3,5,7))
ir

ir <- IRanges(start = 1:10, width = 10:1)
ir
class(ir)
methods(class="IRanges")
?IRanges
```

IRange 객체로부터 몇 가지 정보를 추출할 수 있습니다.

```
ir <- IRanges(start = c(1,3), end = c(4,5))
ir

start(ir)
end(ir)
width(ir)
disjointBins(ir)

ir <- IRanges(start = c(1,3,6), end = c(4,5,7))
ir
bins <- disjointBins(ir)
bins
ir2 <- disjoin(ir)
Rle(1:10, 1:10)

reduce(ir)
```

이러한 정보를 가시화하는 가장 간단한 방법은 ggbio라는 패키지를 사용하는 것 입니다.

```
library(ggbio)

autoplot(ir)
```

```
autoplot(ir2)

autoplot(ir) +
  theme_bw()

autoplot(ir, aes(fill=width)) +
  theme_bw()
```

10.2 Genomic ranges

GenomicRanges는 지놈상의 위치정보와 Bioconductor에서 제공하는 다양한 high-throughput 정보들을 같이 표현하기 위해서 만들어진 패키지입니다.

먼저 Rle (Run-length encoding) 개념을 알아봅니다. Rle는 런 력스 부호화라고 하며 일종의 압축 방법입니다. 예를 들어 GATTGCCCCCTAG 라는 서열이 있다고 하면 이를 그대로 text 파일에 저장하지 않고 GAT2GC6TAG 라고 표현함으로써 용량을 줄이는 압축의 기능을 합니다. GenomicRange는 이러한 Rle 개념을 사용하기 위해서 Rle라는 기본 함수를 사용합니다.

```
library(IRanges)
x <- "GATTGCCCCCTAG"
y <- unlist(strsplit(x, split=""))
yrle <- Rle(y)
yrle

runLength(yrle)
runValue(yrle)
nrun(yrle)

x <- Rle(values = c(1:3), lengths = c(1:3))
class(x)
#methods(class="Rle")

# convert Rle to IRanges
xrange <- IRanges(start(x), end(x))
xrange
```

GRanges 함수를 이용해서 생성할 수 있으며 browseVignettes("GenomicRanges") 나 methods() 함수를 이용해서 관련된 기능을 찾아서 사용할 수 있습니다.

```
library(GenomicRanges)

gr <- GRanges(
  seqnames = Rle(c("chr1", "chr2", "chr1", "chr3"), c(1, 3, 2, 4)),
  ranges = IRanges(101:110, end = 111:120, names = head(letters, 10)),
  strand = Rle(strand(c("-", "+", "*", "+", "-")), c(1, 2, 2, 3, 2)),
  score = 1:10,
  GC = seq(1, 0, length=10))
gr
class(gr)

seqnames(gr)
ranges(gr)
strand(gr)

granges(gr)
mcols(gr) #meta data

seqlengths(gr) <- c(249250621, 243199373, 198022430)
seqlengths(gr)
names(gr)
```

10.2.1 Exercise

1) Covid-19 genbank 파일을 읽고 (genbankr), 2) CDS 서열을 추출한 후 (GenomicRanges), 3) 가시화 하시오 (ggbio)

```
library(genbankr)
library(ggbio)
library(DECIPHER)

covid19 <- readGenBank("covid19.gb")
covid19cds <- cds(covid19)
covidseq <- covid19@sequence

covidseq <- getSeq(covidseq, covid19cds)
BrowseSeqs(covidseq, colWidth = 200)

autoplot(covid19cds)
```

위 GenomicRanges 데이터를 dplyr 형태로 좀 더 쉽게 다루기 위한 패키지가 plyranges 입니다.

```
library(plyranges)

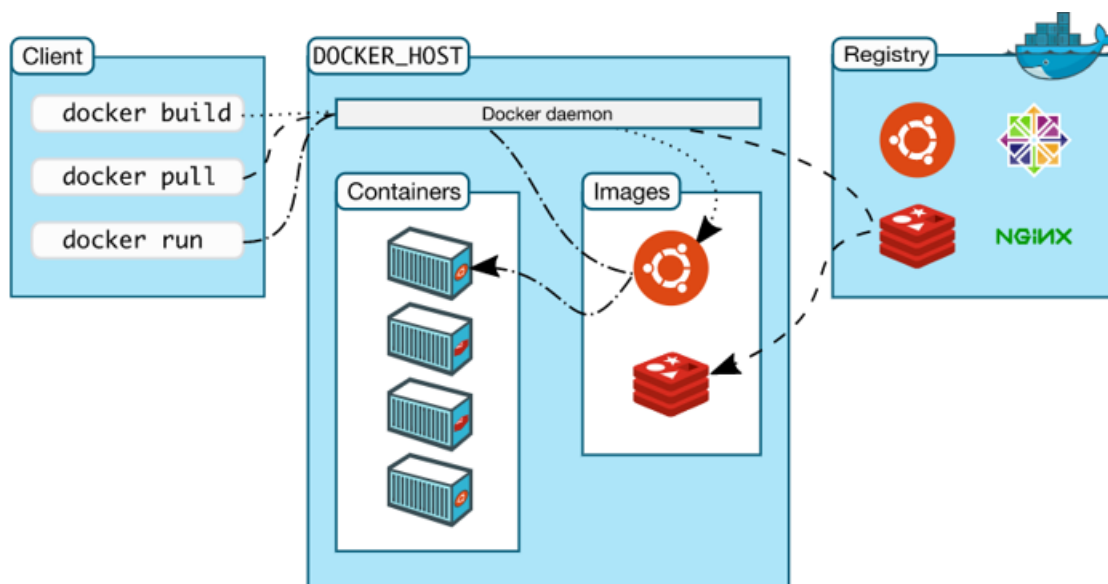
covid19cds

gcr <- rowSums(letterFrequency(covidseq, c("G", "C"), as.prob=T))

covid19cds %>%
  select(gene, product) %>%
  mutate(gc = gcr) %>%
  filter(grepl(pattern = "ORF", gene))
```

10.3 ORFinder with Docker

생물학 데이터 분석의 특성상 리눅스에서만 활용 가능한 프로그램이 많으며 또한 리눅스에서 복잡한 라이브러리를 설치하다 보면 라이브러리끼리의 충돌과 관리의 어려움이 있습니다. 이러한 문제를 Docker를 이용해서 해결할 수 있습니다.



본 강의에서는 도커를 이용해서 NCBI의 대표적인 툴인 blast와 ORFinder 를 활용해보도록 하겠습니다.

```
ORFinder -in covid19.fasta -out output
```

10.3.1 Exercise

1. 위에서 ORFinder로 생성된 출력 결과를 읽어들이고 GenomicRanges 형태의 데이터로 만드시오

Chapter 11

Day3 강의 정리

11.1 Class 1 - NCBI 서열 download

```
library(rentrez)

entrez_dbs()
covid_paper <- entrez_search(db="pubmed", term="covid19")
class(covid_paper)
names(covid_paper)
covid_paper$ids

covid_link <- entrez_link(db="all", id=covid_paper$ids, dbfrom="pubmed")
names(covid_link$links)
covid_link$links$pubmed_pubmed
```

실제 서열 데이터 다운로드엔 `entrez_fetch` 함수 이용. `fetch` 함수를 이용한 다운로드는 text 파일을 그대로 받아오기 때문에 이를 fasta 등 적절한 포맷의 파일로 저장하고 다시 읽어들여야 함.

```
katipo_search <- entrez_search(db="popset", term="Latrodectus katipo[Organism]")

entrez_db_summary("popset")

katipo_search$ids

katipo_summs <- entrez_summary(db="popset", id=katipo_search$ids)
names(katipo_summs)
names(katipo_summs$`41350664`)

COI_ids <- katipo_search$ids[c(2,6)]
trnL_ids <- katipo_search$ids[5]

COI <- entrez_fetch(db="popset", id=COI_ids, rettype="fasta")
trnL <- entrez_fetch(db="popset", id=trnL_ids, rettype="fasta")

write(COI, "COI.fasta")
write(trnL, "trnL.fasta")

if (!requireNamespace("BiocManager", quietly = TRUE))
  install.packages("BiocManager")

BiocManager::install("Biostrings")

library(Biostrings)

coi <- readDNAStringSet("COI.fasta")
trnL <- readDNAStringSet("trnL.fasta")
```

```
coi
class(coi)
```

Covid19 accession 번호 탐색 후 관련 서열 다운로드

```
covid19 <- entrez_fetch(db="nuccore", id="NC_045512", rettype="fasta")

write(covid19, "covid19.fasta")

covid19seq <- readDNASTringSet("covid19.fasta")
as.character(covid19seq)

covid19 <- entrez_fetch(db="nuccore", id="NC_045512", rettype="gb")
covid19
write(covid19, "covid19.gb")
```

Genbank 형태의 데이터 다운로드.

```
if (!requireNamespace("BiocManager", quietly = TRUE))
  install.packages("BiocManager")

BiocManager::install("genbankr")

library(genbankr)

covid19gb <- readGenBank(file = "covid19.gb")
class(covid19gb)
methods(class="GenBankRecord")
cds(covid19gb)
```

11.2 class 2 - sequence alignment

특정 패턴이 존재하는지 검사

```
x <- DNASTring("A")
methods(class="DNASTring")
?matchPattern

coi
matchPattern("ATG", coi[[1]])
vmatchPattern("ATG", coi)
```

두 서열의 비교를 위한 pairwiseAlignment

```
coi[[1]]
aln <- pairwiseAlignment(pattern = coi[[1]], subject = coi[[2]])
class(aln)
methods(class="PairwiseAlignmentsSingleSubject")
?PairwiseAlignmentsSingleSubject
```

alignment된 서열을 효율적으로 가시화 해주는 툴 중에 하나 DECIPHER의 BrowseSeqs 함수

```
if (!requireNamespace("BiocManager", quietly = TRUE))
  install.packages("BiocManager")

BiocManager::install("DECIPHER")

library(DECIPHER)
```



```

BrowseSeqs(aln)

alignedPattern(aln)
alignedSubject(aln)

alnseqs <- c(alignedPattern(aln), alignedSubject(aln))
class(alnseqs)

BrowseSeqs(alnseqs)
BrowseSeqs(alnseqs, colWidth=100)
BrowseSeqs(alnseqs, colWidth=100, patterns = "TCCTGCCCGGGGCCT")

```

DECIPHER는 AlignSeq함수를 이용해서 MSA을 수행할 수도 있음

```

library(DECIPHER)
dbConn <- dbConnect(SQLite(), ":memory:")
Seqs2DB(coi, "XStringSet", dbConn, "coi")
BrowseDB(dbConn)

Seqs2DB(trn1, "XStringSet", dbConn, "trn1")
BrowseDB(dbConn)

dna <- SearchDB(dbConn, identifier="coi")

dbDisconnect(dbConn)

alignedcoi <- AlignSeqs(coi)
BrowseSeqs(alignedcoi, colWidth = 100)
class(alignedcoi)
conseq <- ConsensusSequence(alignedcoi)

```

MSA 결과 각 서열간의 거리가 계산될 수 있고 이러한 값들은 clustering이나 phylogenetic tree를 그리는데 사용될 수 있음.

```

if (!requireNamespace("BiocManager", quietly = TRUE))
  install.packages("BiocManager")

BiocManager::install("ggtree")
library(ggtree)

alignedcoi <- AlignSeqs(coi)
class(alignedcoi)

dm <- DistanceMatrix(alignedcoi)
dim(dm)
tmp <- dm[1:4,1:4]

tree <- IdClusters(dm, cutoff=10, method="NJ", showPlot=TRUE, type="dendrogram")
class(tree)

methods(class="dendrogram")
tree2 <- as.hclust(tree)
class(tree2)

methods(class="hclust")
tree3 <- as.phylo(tree2)
class(tree3)

```

만약 ggtree 실행이 잘 되지 않는 경우 다음 사이트를 참고해서 재설치 진행할 수 있음. [issues](#), [ggtree github](#)

```
remotes::install_github("YuLab-SMU/ggtree")

ggtree(tr = tree3)

library(ggtree)
library(ape)
tr <- rtree(10)
class(tr)

require(ape)
tr <- rtree(10)
ggtree(tr)

ggtree(tr)
```

11.3 class 3 - genomic data with ranges

지놈스케일의 데이터를 분석할 때 IRanges 패키지를 사용. 바이오 데이터 분석에 필수로 사용되는 패키지이며 Bioconductor software 중 4위에 올라있음.

```
library(IRanges)

ir <- IRanges(start = c(1,3,5), end = c(3,5,7))
ir
class(ir)
methods(class="IRanges")

start(ir)
disjointBins(ir)
```

기존에는 IRange 객체의 가시화를 위해 직접 함수를 만들어 썼으나 이제 ggbio 패키지를 이용하면 됨.

```
if (!requireNamespace("BiocManager", quietly = TRUE))
  install.packages("BiocManager")

BiocManager::install("ggbio")

library(ggbio)
ir <- IRanges(start = c(1,3,6), end = c(4,5,7))
ir
autoplot(ir, aes(fill=width)) +
  theme_bw()
```

유전체 정보는 IRange를 활용한 위치 정보만으로는 부족하며 다양한 high-throughput 데이터로부터 얻어지는 정도를 효율적으로 저장하고 관리하기 위해서 GenomicRanges라는 패키지를 사용함.

```
library(GenomicRanges)
gr <- GRanges(
  seqnames = Rle(c("chr1", "chr2", "chr1", "chr3"), c(1, 3, 2, 4)),
  ranges = IRanges(101:110, end = 111:120, names = head(letters, 10)),
  strand = Rle(strand(c("-", "+", "*", "+", "-")), c(1, 2, 2, 3, 2)),
  score = 1:10,
  GC = seq(1, 0, length=10),
  product = rep("Aa", 10))
gr
rep("Aa", 10)
```

GenomicRange 객체는 Rle와 IRange 객체를 조합해서 생성.

```
library(IRanges)
x <- "GATTGCCCCCCTAG"
y <- unlist(strsplit(x, split=""))
#unlist(strsplit(x, split=""))
y
yrle <- Rle(y)
yrle

runLength(yrle)
runValue(yrle)
nrun(yrle)

x <- Rle(values = c(1:3), lengths = c(1:3))
class(x)
```

Meta data는 mcols 함수를 이용해서 관리

```
gr <- GRanges(
  seqnames = Rle(c("chr1", "chr2", "chr1", "chr3"), c(1, 3, 2, 4)),
  ranges = IRanges(101:110, end = 111:120, names = head(letters, 10)),
  strand = Rle(strand(c("-", "+", "*", "+", "-")), c(1, 2, 2, 3, 2)),
  score = 1:10,
  GC = seq(1, 0, length=10))
gr
class(gr)
methods(class="GRanges")

seqnames(gr)
range(gr)

tmp <- mcols(gr)
tmp$GC
```

tidyverse의 dplyr 패키지와 유사한 기능의 plyranges 패키지를 이용하면 genomicranges 데이터를 효율적으로 분석 가능.

11.3.1 Exercise

1. 이번 시간 배운 일련의 패키지들을 이용해서 covid19 genbank 파일을 읽고 cds 서열을 추출한 후 autoplot을 이용해서 그래프를 그리시오.

```
if (!requireNamespace("BiocManager", quietly = TRUE))
  install.packages("BiocManager")

BiocManager::install("plyranges")

library(plyranges)
library(genbankr)
library(DECIPHER)
library(ggbio)

covid19 <- readGenBank("covid19.gb")
class(covid19)
covid19cds <- cds(covid19)

covidseq <- covid19@sequence
ranges(covid19cds)

?getSeq
covidcds <- getSeq(covidseq, covid19cds)

BrowseSeqs(covidcds, colWidth = 200)
names(covidcds) <- mcols(covid19cds)$product
```

```
BrowseSeqs(covidcds, colWidth = 100)

autoplot(covid19cds)
```

2. gene과product를 선택하고 gc ratio를 계산해서 metadata에 넣은 후 임의의 그룹으로 나누어 평균 gc 비율을 구하시오

```
library(plyranges)

gcr <- rowSums(letterFrequency(covidcds, letters = c("C", "G"), as.prob = T))

tmpd <- covid19cds %>%
  select(gene, product) %>%
  mutate(gc = gcr) %>%
  filter(grepl(pattern = "ORF", gene)) %>%
  mutate(g = sample(c("A", "B"), 9, replace=T))

gcmean <- tmpd %>%
  group_by(g) %>%
  summarise(m = mean(gc))
```

png 함수를 사용하면 특정 plot을 그린 후 png 파일로 저장할 수 있음. dev.off까지 실행해 주어야 하며 블록으로 설정 후 실행해 주어야함 (한줄 한줄 실행하면 저장되지 않음).

```
png("covid19.png", width=10, height=5, units='in', res=300)
autoplot(tmpd, aes(fill=g)) +
  theme_bw()
dev.off()
```

11.4 class 4 - ORFfinder with docker

11.4.1 Exercise

1. 리눅스 실행이 필요한 경우 활용할 수 있는 docker를 활용해 ORFfinder를 실행해보고 앞에서 배운 방법들을 이용해 covid19 지놈의 예측된 ORF를 Genomic range 형태로 만들고 가시화 하시오

파일브라우저로 작업 디렉토리에 (working directory) 마우스 커서를 올리고 Shift + 마우스 오른쪽 버튼을 누르면 메뉴가 뜨고 그 중 Powershell 실행. 명령 프롬프트 상에서 아래와 같은 명령 실행. 참고로 docker는 사전에 설치되어 있어야 하며, unlhcc/orffinder 라는 아이디/프로그램파일명은 구글이나 docker hub 에서 orffinder로 검색해서 찾아볼 수 있음.

이미지 다운로드

```
docker pull unlhcc/orffinder
```

다운로드 받은 이미지 리스트 확인

```
docker images
```

ORFfinder 실행

```
docker run --rm -v ${PWD}:/app -w /app unlhcc/orffinder:latest ORFfinder -in covid19.fasta -out covid19orf
```

docker run --rm -v \${PWD}:/app -w /app unlhcc/orffinder:latest 여기까지는 도커 컨테이너를 생성하는 부분이고 그 이후는 ORFfinder를 실행하는 명령어임. \${PWD} 는 현재 directory (input file인 covid19.fasta가 있는 디렉토리)를 나타냄. 위 명령어를 실행하면 covid19orf.fasta가 생성되며 다음 코드로 genomic range 데이터를 생성함.

```
covidorfs <- readDNASTringSet("covid19orf.fasta")
BrowseSeqs(covidorfs, colWidth = 100)

## average length
mydat <- data.frame(len=nchar(covidorfs))
ggplot(mydat, aes(x=len)) +
  geom_histogram(bins=300) +
  xlim(c(0, 2000))

## extract start end position
tmps <- names(covidorfs)
strsplit(tmps[1], split=":")
tmpl <- strsplit(tmps, split=":")
startpos <- lapply(tmpl, function(x){c(x[3])}) %>% unlist %>% as.numeric
endpos <- lapply(tmpl, function(x){c(x[4])}) %>% unlist %>% as.numeric
orfnames <- lapply(tmpl, function(x){c(x[2])}) %>% unlist

strnd <- rep("+", length(startpos))
strnd[startpos>endpos] <- "-"

## swap startpos and endpos
tmpp <- startpos
startpos[startpos>endpos] <- endpos[startpos>endpos]
endpos[tmpp>endpos] <- tmpp[tmpp>endpos]

## generate grange
covidorfir <- IRanges(start=startpos, end=endpos)
covidorfgr <- GRanges(seqnames = "covid19", covidorfir, strnd, orfnames)

autoplot(covidorfgr, aes(fill=strand))
```


Chapter 12

References

이 저작물은 크리에이티브 커먼즈 저작자표시-비영리-변경금지 4.0 국제 라이선스에 따라 이용할 수 있습니다.