# Analyse d'une table d'annotations génomiques

Probabilités et statistique pour la biologie (STAT1)

## Jacques van Helden 2017-09-29

## Contents

But de ce TP	1
Rendu	2
Attendus pour le code	2
Attendus pour le rapport d'interprétation	2
Exemple historique: génome de la levure	2
Analyse de la longueur des gènes de la levure du boulanger	3
Tutoriel	3
Création d'un dossier pour le TP	3
Téléchargement du fichier GTF à partir d'EnsemblGenomes	6
Chargement d'un tableau de données	6
Exploration du contenu d'un tableau de données	6
Sélection de sous-ensembles d'un tableau	9
Sélection d'un sous-ensemble de lignes sur base du contenu d'une colonne	10
Décompte par valeur	10
Exercices	12
1. Spécifications du format GTF	12
	12
	12
4. Téléchargement d'un fichier à partir d'un site ftp	12
5. Chargement d'une table de données en R	12
6. Calcul de la longueur des gènes codants	12
	13
	19
8. Intervalle de confiance	20
	21
	21
	22
Rendu	22

## But de ce TP

Durant ce TP, vous serez amenés à effectuer les t^âches suivantes:

- 1. Manipuler une table de données génomique (les annotations du génome de la levure).
- 2. Sélectionner un sous-ensemble des données en filtrant les lignes sur base d'un critère déterminé (type d'annotation, chromosome).
- 3. Générer des graphiques pour représenter différents aspects liés à ces données.
- 4. Calculer les estimateurs de tendance centrale et dispersion.
- 5. Calculer un intervalle de confiance autour de la moyenne.

## Rendu

A la fin du TP, vous déposerez deux fichiers sur Ametice.

- 1. Votre **code R**.
- 2. Un **rapport d'synthétique** qui inclura une présentation des principaux résultats (figures, statistiques descriptives) et votre interprétation.

#### Attendus pour le code

- 1. Le code doit être **lisible et compréhensible**: donnez à vos variables des noms indiquant explicitement ce qu'elles contiennent.
- 2. Le code devra être **correctement documenté** (le symbole # en début ou en milieu de ligne indique que le reste de cette ligne est un commentaire).
- avant chaque bloc de code, expliquer ce que vous comptez faire, à quoi sert ce bloc de code;
- si c'st utile, ajoutez quelques mots de commentaires pour justifier l'approche choisi;
- chaque fois que vous déinifissez une variable, ajoutez sur la même ligne un commentaire indiquant ce que cette variable représente.
- 3. Le code doit être **tansportable**: après l'avoir téléchargé, on doit pouvoir l'exécuter sur une autre machine. Je testerai systématiquement si les fichiers de code peuvent ^être exécutés sur ma machine. Evitez donc tout recours à des chemins absolus (nous indiquons ci-dessous comment définir des chemins relatifs par rapport à la racine de votre compte).

#### Attendus pour le rapport d'interprétation

Le rapport doit être synthétique (1 page de texte maximum + autant de figures et tables que vous le désirez).

Chaque question doit être exprimée explicitement avant de présenter les résultats qui y répondent et de fournir l'interprétation de ces résultats.

Chaque figure ou table doit être documentée par une légende permettant à un lecteur naïf de comprendre ce qu'elle représente. L'interprétation des résultats affichés sur une figure ou table se trouvera dans le texte principal (avec une référence au numéro de figure ou table).

## Exemple historique: génome de la levure

- 1992: publication du premier chromosome eucaryote complet, le 3ème chromosome de la levure.
- 1996: publication du génome complet.

Sur base des gènes dU 3ème chromosome (échantillon) on peut estimer la taille moyenne d'un gène de levure.

#### Questions:

- (a) La moyenne d'échantillon (chromosome III) permettait-elle de prédire la moyenne de la population (génome complet) ?
  - Pour répondre à cette quesiton, nous imaginerons que nous sommes revenus en 1992, et utiliserons l'ensemble des gènes du chromosome III (considérés ici comme un échantillon du génome) pour estimer la taille moyenne des gènes pour l'ensemble du génome (la "population" de gènes").
- (b) Cet échantillon peut-il être qualifié de "simple et indépendant"?

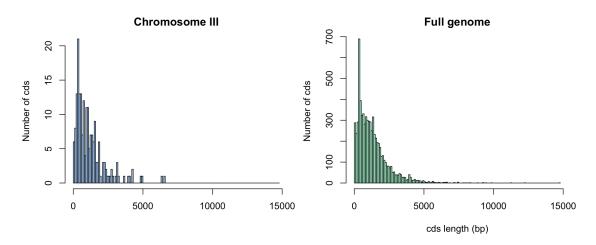


Figure 1: Distribution of cds lengths for Saccharomyces cerevisiae.

## Analyse de la longueur des gènes de la levure du boulanger

#### **Tutoriel**

Avant de passer aux exercices, nous vous montrons ici quelques éléments de base concernant la lecture, la manipulation et l'écriture des tableaux de données avec R.

## Création d'un dossier pour le TP

```
## Define a local forlder for this tutorial
## Print the complete list of environment variables
Sys.getenv()
__CF_USER_TEXT_ENCODING
                      0x81A:0x0:0x0
Apple_PubSub_Socket_Render
                      /private/tmp/com.apple.launchd.NIpjTdPsDR/Render
BLAT DIR
                      /Users/jvanheld/Applications/unix apps/blatSuite
CLASSPATH
                       .:/no_backup/rsat/java/lib/NeAT_javatools.jar
CVS_RSH
                      ssh
DIALIGN2_DIR
                      /Users/jvanheld/Applications/dialign/dialign2_dir
DISPLAY
                      /private/tmp/com.apple.launchd.rAsGxz6pt5/org.macosforge.xquartz:0
DYLD_FALLBACK_LIBRARY_PATH
                      /Library/Frameworks/R.framework/Resources/lib
EDITOR
                      emacs
                      /usr/local/emboss/
EMBOSS
ENSEMBL_RELEASE
                      88
ENSEMBLGENOMES_RELEASE
```

34

GIT\_ASKPASS rpostback-askpass HOME /Users/jvanheld

HOMER /Users/jvanheld/Applications/unix\_apps/HOMER INFOPATH :/usr/local/texlive/2013/texmf-dist/doc/info

 LANG
 en\_US.UTF-8

 LANGUAGE
 en\_US.UTF-8

 LC\_ALL
 en\_US.UTF-8

 LC\_CTYPE
 en\_US.UTF-8

 LN\_S
 ln -s

 LOGNAME
 jvanheld

 MAKE
 make

MANPATH :/usr/local/texlive/2013/texmf-dist/doc/man

NOT\_CRAN true

PAGER /usr/bin/less

PATH /no\_backup/miniconda3/bin:/no\_backup/conda/miniconda3/bin://anaconda/bin:/usr/loc PERL5LIB /no\_backup/rsat/ext\_lib/biomart-perl/lib/::/no\_backup/rsat/ext\_lib/ensemblgenomes

PIP\_DOWNLOAD\_CACHE /Users/jvanheld/.pip/cache

PIP\_REQUIRE\_VIRTUALENV

false

PWD /Users/jvanheld/Documents/enseignement/bioinformatics\_courses/stat1/practicals/02 PYTHONPATH /no\_backup/rsat/ext\_lib/python2.7/site-packages/:/no\_backup/rsat/ext\_lib/python2.

R\_ARCH

R\_BROWSER /usr/bin/open R\_BZIPCMD /usr/bin/bzip2

R\_DOC\_DIR /Library/Frameworks/R.framework/Resources/doc

R\_GZIPCMD /usr/bin/gzip

R\_HOME /Library/Frameworks/R.framework/Resources

R\_INCLUDE\_DIR /Library/Frameworks/R.framework/Resources/include

R\_LIBS /Library/Frameworks/R.framework/Versions/3.3/Resources/library

R\_LIBS\_SITE

R\_LIBS\_USER ~/Library/R/3.3/library

R\_PAPERSIZE a4 R\_PAPERSIZE\_USER a4

R\_PDFVIEWER /usr/bin/open

R\_PLATFORM x86\_64-apple-darwin13.4.0

R PRINTCMD lpr

R\_QPDF /Library/Frameworks/R.framework/Resources/bin/qpdf

R\_RD4PDF times,inconsolata,hyper

R\_SESSION\_TMPDIR /var/folders/9s/0zkjn8tm8xj7wp0059bl3v9000020t/T//RtmpmApauQ

R\_SHARE\_DIR /Library/Frameworks/R.framework/Resources/share

R\_SYSTEM\_ABI osx,gcc,gxx,gfortran,? R\_TEXI2DVICMD /usr/local/bin/texi2dvi

R\_UNZIPCMD /usr/bin/unzip R\_ZIPCMD /usr/bin/zip

RMARKDOWN\_MATHJAX\_PATH

/Applications/RStudio.app/Contents/Resources/resources/mathjax-26

RMARKDOWN\_PREVIEW\_DIR

/var/folders/9s/0zkjn8tm8xj7wp0059bl3v9000020t/T//RtmpzVsP9t

RPYTHON\_PYTHON\_VERSION

3

RS\_RPOSTBACK\_PATH /Applications/RStudio.app/Contents/MacOS/rpostback

RS SHARED SECRET 6e3875f4-3449-4438-a66e-d82b3277d3ca

RSAT /no backup/rsat

RSAT SITE caminante

RSAT\_WS http://localhost/rsat/RSAT\_WWW http://localhost/rsat/

RSTUDIO 1

RSTUDIO\_PANDOC /Applications/RStudio.app/Contents/MacOS/pandoc

RSTUDIO\_SESSION\_PORT

45521

RSTUDIO\_USER\_IDENTITY

jvanheld

RSTUDIO\_WINUTILS bin/winutils

RTF2LATEX2E\_DIR /usr/local/rtf2latex2e

SECURITYSESSIONID 186a8

SED /usr/bin/sed SHELL /bin/bash

SHLVL 1

SRA\_DIR /Users/jvanheld/Applications/unix\_apps/SRA\_toolkit/sratoolkit.2.1.9-mac64

SSH\_AUTH\_SOCK /private/tmp/com.apple.launchd.tWu7Q1zm96/Listeners

TAR /usr/bin/tar
TERM xterm-256color
TERM\_PROGRAM Apple\_Terminal

TERM\_PROGRAM\_VERSION

388.1.1

TERM\_SESSION\_ID 6422F9DE-251B-413A-B21A-0482D1BB2E5A

TMPDIR /var/folders/9s/0zkjn8tm8xj7wp0059bl3v9000020t/T/

USER jvanheld
VISUAL emacs
XPC\_FLAGS 0x0
XPC\_SERVICE\_NAME 0

## Identify the home directory by getting the environment variable HOME
dir.home <- Sys.getenv("HOME")
print(dir.home)</pre>

#### [1] "/Users/jvanheld"

```
## Define a variable containing the path of the results for this tutorial
dir.tuto <- file.path(dir.home, "stat1", "TP2")
print(dir.tuto)</pre>
```

#### [1] "/Users/jvanheld/stat1/TP2"

```
## Create the directory for this tutorial
dir.create(path = dir.tuto, showWarnings = FALSE, recursive = TRUE)

## Go to the tutorial directory
setwd(dir.tuto)

## List the files already present in the folder (if any)
list.files()
```

- [1] "3nt\_genomic\_Saccharomyces\_cerevisiae-ovlp-1str.tab"
- [2] "chrom\_sizes.tsv"
- [3] "Saccharomyces\_cerevisiae.R64-1-1.37.gtf.gz"

#### Téléchargement du fichier GTF à partir d'EnsemblGenomes

### Chargement d'un tableau de données

R comporte plusieurs types de structures tabulaires (matrix, data.frame, table).

La structure la plus couramment utilisée est le data.frame, qui consiste en un tableau de valeurs (numériques ou chaînes de caractères) dont les lignes et les colonnes sont associées à des noms.

La fonction read.table() permet de lire un fichier texte contenant un tableau de données, et de stocker le contenu dans une variable.

Plusieurs fonctions dérivées de read.table() facilitent la lecture de différents types de formats:

- read.delim() pour les fichiers dont les colonnes sont délimitées par un caractère particulier (généralement la tabulation, représentée par ";;).
- read.csv() pour les fichiers "comma-searated values".
- 1. Téléchargez le fichier suivant sur votre ordinateur:
- Saccharomyces\_cerevisiae.R64-1-1.37.gtf
- 2. Chargez-le au moyen de la fonction read.table (pour cela vous devez remplacer le chemin ci-dessous par celui de votre ordinateur).

```
## Read a GTF file with yeast genome annotations

## Load the feature table
feature.table <- read.table(
    local.GTF,
    comment.char = "#",
    sep="\t",
    header=FALSE,
    row.names=NULL)

## The bed format does not contain any column header,
## so we set it manually based on the description of the format,
## found here:
## http://www.ensembl.org/info/website/upload/gff.html
names(feature.table) <- c("seqname", "source", "feature", "start", "end", "score", "strand", "frame", "</pre>
```

## Exploration du contenu d'un tableau de données

La première chose à faire après avoir chargé un tableau de données est de vérifier ses dimensions

## dim(feature.table) ## Dimensions of the tbale

[1] 43028 9

```
nrow(feature.table) ## Number of rows
```

[1] 43028

```
ncol(feature.table) ## Number of columns
```

Γ1 9

1

3

4 5

6

7

8 9

L'affichage du tableau d'annotations complet ne serait pas très lisible, puisqu'il comporte des dizaines de milliers de lignes.

Nous pouvons afficher les premières lignes avec la fonction head().

```
## Display the 20 first rows of the feature table head(feature.table, n = 20)
```

```
segname source
                      feature start end score strand frame
        IV
              SGD
                         gene 1802 2953
1
2
        ΙV
              SGD
                   transcript
                               1802 2953
3
        IV
              SGD
                         exon 1802 2953
4
        ΙV
              SGD
                          CDS 1802 2950
                                                           0
5
        ΙV
              SGD start_codon 1802 1804
                                                           0
6
        ΙV
              SGD stop_codon 2951 2953
                                                           0
7
                         gene 3762 3836
        ΙV
              SGD
8
        ΙV
              SGD
                   transcript 3762 3836
9
        IV
              SGD
                               3762 3836
                         exon
10
              SGD
        IV
                          CDS
                               3762 3833
                                                           0
11
        IV
              SGD start_codon
                              3762 3764
                                                           0
              SGD
                   stop_codon
12
        ΙV
                               3834 3836
                                                           0
13
        ΙV
              SGD
                         gene
                               5985 7814
14
        ΙV
              SGD
                               5985 7814
                   transcript
15
        IV
              SGD
                         exon
                               5985 7814
16
        ΙV
              SGD
                          CDS 5985 7811
                                                           0
17
        IV
              SGD start codon 5985 5987
                                                           0
18
        IV
                                                           0
              SGD
                   stop_codon
                              7812 7814
19
        IV
              SGD
                         gene
                               8683 9756
              SGD transcript
20
        IV
                               8683 9756
```

```
gene_id YDL248W; transcript_id YDL248W; gene_n
gene_id YDL248W; transcript_id YDL248W; exon_number 1; gene_name COS7; gene_sour
gene_id YDL248W; transcript_id YDL248W; exon_number 1; gene_name COS7; gene_source SGD; gene_biotype
gene_id YDL248W; transcript_id YDL248W; exon_number 1; gene_n
gene_id YDL248W; transcript_id YDL248W; exon_number 1; gene_n

gene_id YDL248W; transcript_id YDL248W; exon_number 1; gene_n
```

gene\_id YDL247W-A; transcript\_id YDL247W-A; exon\_number 1; gene\_sour
gene\_id YDL247W-A; transcript\_id YDL247W-A; transcri

gene\_id YDL247W; transcript\_id YDL247W; gene\_n
gene\_id YDL247W; transcript\_id YDL247W; exon\_number 1; gene\_name MPH2; gene\_sour

```
16 gene_id YDL247W; transcript_id YDL247W; exon_number 1; gene_name MPH2; gene_source SGD; gene_biotype
17 gene_id YDL247W; transcript_id YDL247W; exon_number 1; gene_n
18 gene_id YDL247W; transcript_id YDL247W; exon_number 1; gene_n
19
20 gene_id YDL246C; transcript_id YDL246C; gene_n
```

end score strand frame

La fonction tail() affiche les dernières lignes:

seqname

```
## Display the 20 last rows of the feature table
tail(feature.table, n = 20)
```

source

feature start

```
43009
                            transcript 78533 78605
         Mito Ensembl_Fungi
43010
         Mito Ensembl_Fungi
                                   exon 78533 78605
                                   gene 79213 80022
43011
        Mito
                        SGD
43012
        Mito
                        SGD
                            transcript 79213 80022
43013
        Mito
                        SGD
                                   exon 79213 80022
43014
                        SGD
                                    CDS 79213 80019
                                                                      0
        Mito
43015
        Mito
                        SGD start_codon 79213 79215
43016
        Mito
                        SGD stop_codon 80020 80022
                                                                      0
43017
        Mito
                        SGD
                                   gene 85035 85112
                        SGD transcript 85035 85112
43018
        Mito
43019
        Mito
                        SGD
                                   exon 85035 85112
43020
        Mito
                        SGD
                                   gene 85295 85777
43021
                        SGD transcript 85295 85777
        Mito
43022
        Mito
                        SGD
                                   exon 85295 85777
43023
                        SGD
        Mito
                                   gene 85554 85709
43024
        Mito
                        SGD transcript 85554 85709
43025
                        SGD
                                   exon 85554 85709
        Mito
43026
                        SGD
                                    CDS 85554 85706
        Mito
43027
                        SGD start_codon 85554 85556
                                                                      0
         Mito
43028
         Mito
                        SGD stop_codon 85707 85709
                                                      gene_id ENSRNA049602365; transcript_id ENSRNA04960
43009
          gene_id ENSRNA049602365; transcript_id ENSRNA049602365-T1; exon_number 1; gene_name tRNA-Val;
43010
43011
43012
                                                           gene_id Q0275; transcript_id Q0275; gene_name
43013
                          gene_id Q0275; transcript_id Q0275; exon_number 1; gene_name COX3; gene_sourc
43014 gene_id Q0275; transcript_id Q0275; exon_number 1; gene_name COX3; gene_source SGD; gene_biotype
43015
                                           gene_id Q0275; transcript_id Q0275; exon_number 1; gene_name
43016
                                            gene id Q0275; transcript id Q0275; exon number 1; gene name
43017
43018
43019
                                                                         gene_id tM(CAU)Q2; transcript_i
43020
43021
43022
                                                                                       gene_id RPM1; tran
43023
43024
                                                                                                  gene_id
43025
                                                                 gene_id Q0297; transcript_id Q0297; exo
43026
                                            gene_id Q0297; transcript_id Q0297; exon_number 1; gene_sou
43027
                                                                                  gene_id Q0297; transcr
43028
                                                                                  gene id Q0297; transcr
```

If you are using the **RStudio** environment, you can display the table in a dynamic viewer pane with the function View().

```
## In RStudio, display the table in a separate tab
View(feature.table)
```

#### Sélection de sous-ensembles d'un tableau

Sélection d'une ligne par son indice.

## feature.table[12,]

12 gene\_id YDL247W-A; transcript\_id YDL247W-A; exon\_number 1; gene\_source SGD; gene\_biotype protein\_cod Sélection d'une colonne par son indice (affichage des premières valeurs seulement.

## head(feature.table[,3])

```
[1] gene transcript exon CDS start_codon stop_codon
```

Levels: CDS exon gene start\_codon stop\_codon transcript

Selection d'une cellule par indices de ligne et colonne.

## feature.table[12, 3]

#### [1] stop\_codon

Levels: CDS exon gene start\_codon stop\_codon transcript

Sélection d'un bloc de colonnes et/ou de lignes.

## feature.table[100:105, 1:6]

	seqname	source	feature	start	end	score
100	IV	SGD	CDS	34240	36477	•
101	IV	SGD	start_codon	36475	36477	
102	IV	SGD	stop_codon	34237	34239	
103	IV	SGD	gene	36797	38173	
104	IV	SGD	transcript	36797	38173	
105	IV	SGD	exon	36797	38173	

Sélection de colonnes "à la carte" (ici, les coordonnées génomiques de chaque "feature"): chromosome, début, fin, brin.

#### feature.table[100:105, c(1,4,5,7)]

```
      seqname
      start
      end
      strand

      100
      IV
      34240
      36477
      -

      101
      IV
      36475
      36477
      -

      102
      IV
      34237
      34239
      -

      103
      IV
      36797
      38173
      +

      104
      IV
      36797
      38173
      +

      105
      IV
      36797
      38173
      +
```

Sélectionner une colonne sur base de son nom.

```
## Select the "start" column and print the 100 first results head(feature.table\$start, n=100)
```

```
[1] 1802 1802 1802 1802 1802 2951 3762 3762 3762 3762 3762 [12] 3834 5985 5985 5985 5985 5985 7812 8683 8683 8683 8686
```

```
[23] 9754 8683 11657 11657 11657 11660 13358 11657 16204 16204 16204 [34] 16204 16204 17224 17577 17577 17577 17580 18564 17577 18959 18959 [45] 18959 18959 19310 20635 20635 20635 20635 20635 21004 22471 [56] 22471 22471 22474 22606 22471 22823 22823 22823 22823 22823 25874 [67] 26403 26403 26403 26406 28773 26403 28985 28985 28985 28988 30452 [78] 28985 30657 30657 30657 30657 31827 32296 32296 32296 [89] 32296 33232 33415 33415 33415 33418 33916 33415 34237 34237 [100] 34240
```

## Print the 20 first values of the "feature" field, which indicates the feature type head(feature.table\$feature, n=20)

```
[1] gene
                 transcript
                                         CDS
                                                      start_codon
                             exon
 [6] stop_codon gene
                             transcript
                                         exon
                                                      CDS
[11] start_codon stop_codon
                             gene
                                         transcript
                                                      exon
                 start_codon stop_codon gene
                                                      transcript
Levels: CDS exon gene start_codon stop_codon transcript
```

Sélection de plusieurs colonnes sur base de leurs noms.

```
## Select the "start" column and print the 100 first results
feature.table[100:106, c("seqname", "start", "end", "strand")]
```

	seqname	start	end	strand
100	IV	34240	36477	_
101	IV	36475	36477	-
102	IV	34237	34239	-
103	IV	36797	38173	+
104	IV	36797	38173	+
105	IV	36797	38173	+
106	IV	36797	38170	+

**Note**: il est également possible de nommer les lignes d'un data frame mais le tableau GTF ne se prête pas à cela. Nous verrons d'autres exemples ultérieurement.

#### Sélection d'un sous-ensemble de lignes sur base du contenu d'une colonne

```
## Select subset of features having "cds" as "feature" attribute
cds <- subset(feature.table, feature=="cds")
nrow(feature.table) ## Count the number of features</pre>
```

Γ17 43028

```
nrow(cds) ## Count the number of cds
```

[1] 0

## Décompte par valeur

La fonction table() permet de compter le nombre d'occurrences de chaque valeur dans un vecteur ou un tableau. Quelques exemples d'utilisation ci-dessous.

```
## Count the number of featues per chromosome table(feature.table$seqname)
```

```
I II III IV IX Mito V VI VII VIII X XI XII XIII XIV 759 2912 1210 5374 1567 327 2159 946 3856 2054 2617 2231 3789 3311 2774 XV XVI 3846 3296
```

## Count the number of features per type
table(feature.table\$feature)

```
CDS exon gene start_codon stop_codon transcript 7050 7872 7445 6700 6516 7445
```

On peut calculer des tables de contingence en comptant le nombre de combinaisons entre 2 vecteurs (ou 2 colonnes d'un tableau).

```
## Table with two vectors
table(feature.table$feature, feature.table$seqname)
```

```
I II III IV IX Mito
                                       V VI VII VIII
                                                        X XI XII XIII
CDS
            122 492 194 895 255
                                  59 345 151 619
                                                  346 422 361 615
            137 525 224 961 288
                                  94 400 180 710
                                                  373 480 404 698
exon
gene
            132 494 213 914 274
                                  62 383 167 676
                                                  349 458 388 658
                                                                   573
                                  28 328 143 593
                                                  325 406 348 586
start_codon 119 464 185 853 243
                                                                   514
stop codon 117 443 181 837 233
                                  22 320 138 582
                                                  312 393 342 574
                                                                   497
transcript 132 494 213 914 274
                                  62 383 167 676
                                                 349 458 388 658 573
            XIV XV XVI
CDS
            458 623 549
exon
            500 689 599
            475 665 564
gene
start_codon 438 607 520
stop_codon
            428 597 500
transcript 475 665 564
```

```
## Same result with a 2-column data frame
table(feature.table[, c("feature", "seqname")])
```

```
seqname
feature
                I II III IV IX Mito
                                         V VI VII VIII
                                                          X XI XII XIII
  CDS
              122 492 194 895 255
                                    59 345 151 619
                                                    346 422 361 615
                                                                     544
  exon
              137 525 224 961 288
                                    94 400 180 710
                                                    373 480 404 698
                                                                      610
              132 494 213 914 274
  gene
                                    62 383 167 676
                                                    349 458 388 658
                                                                     573
  start_codon 119 464 185 853 243
                                    28 328 143 593
                                                    325 406 348 586
                                                                     514
  stop codon 117 443 181 837 233
                                    22 320 138 582
                                                    312 393 342 574
                                                                      497
  transcript
             132 494 213 914 274
                                    62 383 167 676
                                                    349 458 388 658
                                                                     573
             seqname
feature
              XIV XV XVI
  CDS
              458 623 549
  exon
              500 689 599
 gene
              475 665 564
  start_codon 438 607 520
  stop_codon 428 597 500
  transcript 475 665 564
```

#### **Exercices**

#### 1. Spécifications du format GTF

Lisez les spécifications du format GTF.

- Ensembl (http://www.ensembl.org/info/website/upload/gff.html)
- UCSC (https://genome.ucsc.edu/FAQ/FAQformat.html#format4)

#### 2. Création d'un dossier local pour le TP

Créez un dossier local (par exemple: stat1/TP\_levure à partir de la racine de votre compte). Nous vous suggérons d'utiliser les fonctions suivantes:

- Sys.getenv("HOME") (Linnux et Mac OS X), pour obtenir la racine de votre compte utilisateur;
- file.path() pour construire un chemin;
- dir.create() pour créer le dossier de ce TP. Lisez attendivement les options de cette fonction avec help(dir.create)

#### 3. Localisation du fichier d'annotations

Localisez le fichier d'annotations du génome de la levure en format GTF dans ce dossier local.

- Site Ensembl Fungi: http://fungi.ensembl.org/
- Cliquez "Downloads" pour accéder au site ftp
- Dans la boîte de recherche, tapez "saccharomyces cerevisiae" et suivez le lien "GTF"
- COpiez l'adresse (URL) du ichier Saccharomyces cerevisiae.R64-1-1.37.gtf.gz

#### 4. Téléchargement d'un fichier à partir d'un site ftp

Fonctions suggérées:

• download.file() (lisez l'aide pour conna tre les arguments)

#### 5. Chargement d'une table de données en R

Ecrivez un script qui charge la table de données dans une variable nommée feature.table, en utilisant la fonction R read.delim().

Veillez à ignorer les lignes de commentaires (qui commencent par un caractère #).

#### 6. Calcul de la longueur des gènes codants

• Ajoutez à la table d'annotations (feature.table) une colonne intitulée "length" qui indique la longueur de chaque élément génomique annoté.

```
## Add a colmn with feature lengths
feature.table[, "length"] <- feature.table[, "end"] - feature.table[, "start"] + 1
## Add a colmn with feature lengths: equivalent result with simpler notation
feature.table$length <- feature.table$end - feature.table$start + 1</pre>
```

• Comptez le nombre de lignes de la table correspondant à chaque type d'annotation (3ème colonne du GTF, "feature").

- fonction table()

```
~table(feature.table$feature)
```

## ~table(feature.table\$feature)

- Sélectionnez les lignes correspondant à des régions codantes ("CDS")
  - fonction subset()

```
cds <- subset(feature.table, feature=="CDS")</pre>
```

- Comptez le nombre de CDS par chromosome.
  - fonction table()

#### table(cds\$seqname)

```
III
                ΙV
                     IX Mito
                                         VII VIII
 Τ
      TT
                                 V
                                     VT
                                                      X
                                                           XΤ
                                                               XII XIII
                                                                          XTV
122
    492
          194
              895
                     255
                           59
                               345
                                    151
                                          619
                                               346
                                                    422
                                                          361
                                                               615
                                                                          458
ΧV
    XVI
623
    549
```

• Chargez la table des tailles de chromosomes chrom\_sizes.tsv, et calculez la densité de gènes pour chaque chromosome (nombre de gènes par Mb).

```
## Download tab-delimited file with chromosome sizes (unless already there)
annot.url <- "http://jvanheld.github.io/stat1/data/Saccharomyces_cerevisiae/chrom_sizes.tsv"
chrom.size.file <- file.path(dir.tuto, "chrom_sizes.tsv")

if (!file.exists(chrom.size.file)) {
    download.file(annot.url, destfile = chrom.size.file)
}

## Read chromosome sizes
chrom.size <- read.delim(
    file = chrom.size.file,
    header = FALSE, row.names = 1)

## Assign a name to the columns
names(chrom.size) <- c("chromID", "size")
# View(chrom.size)

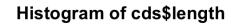
## print the size of hte third chromosome
chrom.size["III", "size"]</pre>
```

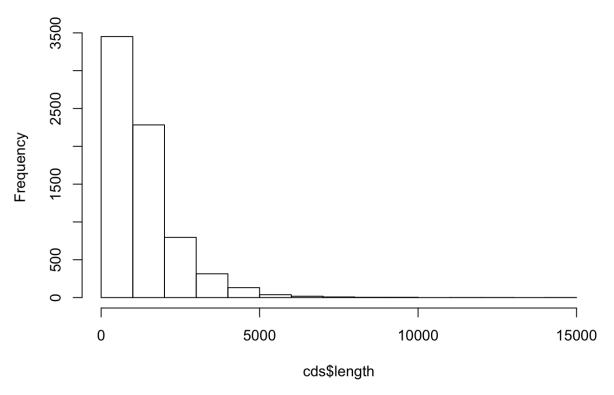
[1] 316617

## 6. Histogramme de la longueur des gènes

Au moyen de la fonction hist(), dessinez un histogramme représentant la distribution de longueur des CDS.

```
hist(cds$length)
```

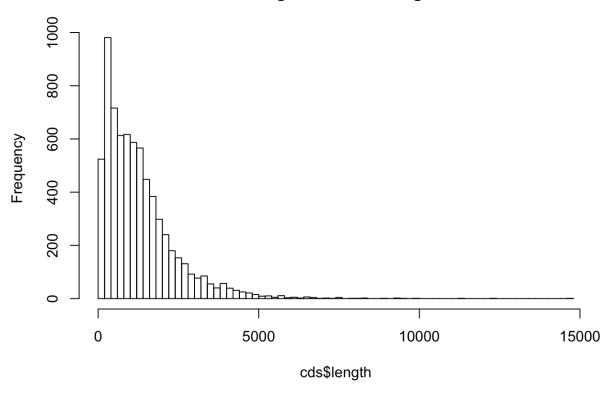




Choisissez les intervalles de classe de façon à ce que l'histogramme soit informaatif (ni trop ni trop peu de classes).

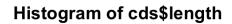
## Take more or less 100 bins
h <- hist(cds\$length, breaks=100)</pre>

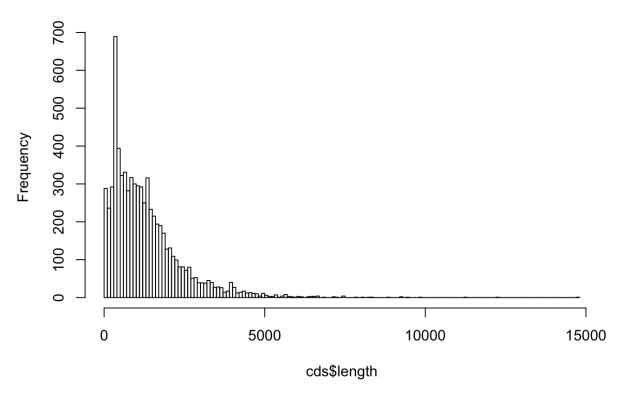
# Histogram of cds\$length



Récupérez le résultat de hist() dans une variable nommée cds.length.hist.

## Define breaks exactly in the way you wish
cds.length.hist <- hist(cds\$length, breaks=seq(from=0, to=max(cds\$length)+100, by=100))</pre>





Imprimez le résultat à l'écran (print()) et analysez la structure de la variable cds.length.hist (il s'agit d'une variable de type liste).

Fonctions utiles:

1 011001	.0115 4111	.CD.												
## Display the values used to draw the histogram														
print	(cds.le	ength.l	hist )											
4.														
\$brea	ks													
[1]	0	100	200	300	400	500	600	700	80	0 90	) 10	00		
[12]	1100	1200	1300	1400	1500	1600	1700	1800	190	0 200	21	00		
[23]	2200	2300	2400	2500	2600	2700	2800	2900	300	0 310	32	00		
[34]	3300	3400	3500	3600	3700	3800	3900	4000	410	0 420	43	00		
[45]	4400	4500	4600	4700	4800	4900	5000	5100	520	0 530	54	00		
[56]	5500	5600	5700	5800	5900	6000	6100	6200	630	0 640	65	00		
[67]	6600	6700	6800	6900	7000	7100	7200	7300	740	0 750	76	00		
[78]	7700	7800	7900	8000	8100	8200	8300	8400	850	0 860	87	00		
[89]	8800	8900	9000	9100	9200	9300	9400	9500	960	0 970	98	00		
[100]	9900	10000	10100	10200	10300	10400	10500	10600	1070	0 1080	109	00		
[111]	11000	11100	11200	11300	11400	11500	11600	11700	1180	0 1190	120	00		
[122]	12100	12200	12300	12400	12500	12600	12700	12800	1290	0 1300	131	00		
[133]	13200	13300	13400	13500	13600	13700	13800	13900	1400	0 1410	142	00		
[144]	14300	14400	14500	14600	14700	14800								
\$coun	ts													
[1]	288 23	36 292	689 39	94 322	331 2	82 317	300 2	295 292	250	316 23	3 215	194		
[18]	190 17	70 128	131 10	09 99	81	81 72	80	51 53	39	39 3	3 45	40		

```
[35]
         27
               28
                    26
                          14
                                17
                                     40
                                           27
                                                 12
                                                      14
                                                            17
                                                                 12
                                                                       13
                                                                                   10
                                                                                              11
                                                                                                     6
                                                                             11
 Γ521
          3
                3
                      7
                           1
                                       8
                                            3
                                                  2
                                                             3
                                                                   2
                                                                        0
                                                                              2
                                                                                    3
                                                                                         3
                                                                                               4
                                                                                                     0
                                 4
                                                        1
 [69]
          1
                0
                      0
                           2
                                 1
                                       0
                                            4
                                                  0
                                                        0
                                                             0
                                                                   1
                                                                        0
                                                                              1
                                                                                    0
                                                                                         1
                                                                                               1
                                                                                                     0
 [86]
                                                                                                     0
          0
                0
                      0
                                 0
                                       0
                                            0
                                                  2
                                                       0
                                                             1
                                                                   0
                                                                        0
                                                                              0
                                                                                         0
                                                                                               0
                           1
                                                                                    1
[103]
          0
                0
                      0
                           0
                                 0
                                       0
                                            0
                                                  0
                                                        0
                                                             0
                                                                   1
                                                                        0
                                                                              0
                                                                                    0
                                                                                         0
                                                                                               0
                                                                                                     0
[120]
          0
                0
                                       0
                                            0
                                                  0
                                                        0
                                                             0
                                                                   0
                                                                        0
                                                                              0
                                                                                    0
                                                                                         0
                                                                                               0
                                                                                                     0
                      0
                           1
                                 0
Γ1377
          0
                0
                      0
                           0
                                       0
                                                  0
                                                             0
                                                                   0
                                 0
                                            0
                                                        0
                                                                        1
```

### \$density

[1] 4.085106e-04 3.347518e-04 4.141844e-04 9.773050e-04 5.588652e-04 [6] 4.567376e-04 4.695035e-04 4.000000e-04 4.496454e-04 4.255319e-04 [11] 4.184397e-04 4.141844e-04 3.546099e-04 4.482270e-04 3.304965e-04 [16] 3.049645e-04 2.751773e-04 2.695035e-04 2.411348e-04 1.815603e-04 [21] 1.858156e-04 1.546099e-04 1.404255e-04 1.148936e-04 1.148936e-04 [26] 1.021277e-04 1.134752e-04 7.234043e-05 7.517730e-05 5.531915e-05 [31] 5.531915e-05 5.390071e-05 6.382979e-05 5.673759e-05 3.829787e-05 [36] 3.971631e-05 3.687943e-05 1.985816e-05 2.411348e-05 5.673759e-05 [41] 3.829787e-05 1.702128e-05 1.985816e-05 2.411348e-05 1.702128e-05 [46] 1.843972e-05 1.560284e-05 1.418440e-05 5.673759e-06 1.560284e-05 [51] 8.510638e-06 4.255319e-06 4.255319e-06 9.929078e-06 1.418440e-06 [56] 5.673759e-06 1.134752e-05 4.255319e-06 2.836879e-06 1.418440e-06 [61] 4.255319e-06 2.836879e-06 0.000000e+00 2.836879e-06 4.255319e-06 [66] 4.255319e-06 5.673759e-06 0.000000e+00 1.418440e-06 0.000000e+00 [71] 0.000000e+00 2.836879e-06 1.418440e-06 0.000000e+00 5.673759e-06 [76] 0.000000e+00 0.000000e+00 0.000000e+00 1.418440e-06 0.000000e+00 [81] 1.418440e-06 0.000000e+00 1.418440e-06 1.418440e-06 0.000000e+00 [86] 0.000000e+00 0.000000e+00 0.000000e+00 1.418440e-06 0.000000e+00 [91] 0.000000e+00 0.000000e+00 2.836879e-06 0.000000e+00 1.418440e-06 [96] 0.000000e+00 0.000000e+00 0.000000e+00 1.418440e-06 0.000000e+00 [101] 0.000000e+00 0.000000e+00 0.000000e+00 0.000000e+00 0.000000e+00 [106] 0.000000e+00 0.000000e+00 0.000000e+00 0.000000e+00 0.000000e+00 [111] 0.000000e+00 0.000000e+00 1.418440e-06 0.000000e+00 0.000000e+00 [116] 0.000000e+00 0.000000e+00 0.000000e+00 0.000000e+00 0.000000e+00 [121] 0.000000e+00 0.000000e+00 1.418440e-06 0.000000e+00 0.000000e+00 [126] 0.000000e+00 0.000000e+00 0.000000e+00 0.000000e+00 0.000000e+00 [131] 0.000000e+00 0.000000e+00 0.000000e+00 0.000000e+00 0.000000e+00 [136] 0.000000e+00 0.000000e+00 0.000000e+00 0.000000e+00 0.000000e+00

#### \$mids

[1] Γ12] [23] [34] [45] [56] [67] [78] [89] [100] 9950 10050 10150 10250 10350 10450 10550 10650 10750 10850 10950 [111] 11050 11150 11250 11350 11450 11550 11650 11750 11850 11950 12050 [122] 12150 12250 12350 12450 12550 12650 12750 12850 12950 13050 13150 [133] 13250 13350 13450 13550 13650 13750 13850 13950 14050 14150 14250

[141] 0.000000e+00 0.000000e+00 0.000000e+00 0.000000e+00 0.000000e+00

[146] 0.000000e+00 0.000000e+00 1.418440e-06

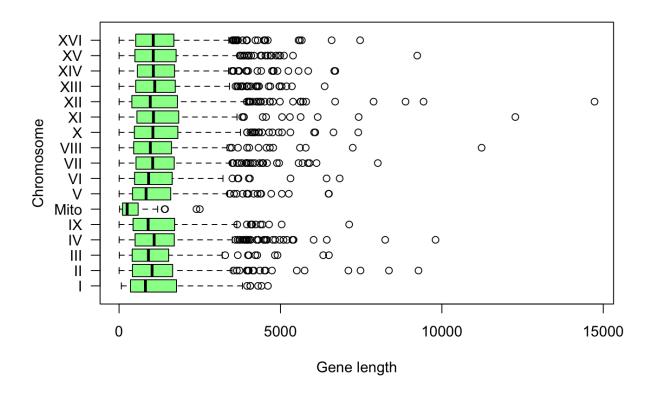


Figure 2: Boîte à moustache indiquant la distribution de longueur des gènes par chromosome.

• attributes(cds.length.hist)

D'autres types de graphiques permettent d'explorer la distribution d'un ensemble des données. En particulier, les boîtes à moustaches (box plots) affichent, pour une série de données, la médiane, l'écart interquartile, un intervalle de confiance et les valeurs aberrantes.

```
boxplot(length ~ seqname, data = cds, col="palegreen", horizontal=TRUE, las=1, xlab="Gene length", yla
```

#### 7. Paramètres descriptifs

Calculez les paramètres de tendance centrale (moyenne, médiane, mode) et de dispersion (variance, écart-type, écart inter-quartile)

- pour les gènes du chromosome III;
- pour l'ensemble des gènes de la levure.

```
x <- subset(cds, seqname == "III", select = "length")
dim(x)</pre>
```

[1] 194 1

class(x) ## Ah ah, this is not a vector but a data.frame

[1] "data.frame"

```
## Convert the data frame into a vector
x <- unlist(x)
class(x)</pre>
```

[1] "numeric"

```
head(x)
```

```
length1 length2 length3 length4 length5 length6
741 1845 1374 780 630 525
```

```
## Compute the mean, either manually or with the ad hoc R function
n <- length(x)
print(paste("Chromosome III contains", n, "CDS"))</pre>
```

[1] "Chromosome III contains 194 CDS"

```
message("Chromosome III contains ", n, " CDS")
m <- mean(x)
print(m)</pre>
```

[1] 1169.521

```
message("mean(x) = ", round(m, digits = 1))

## Compute the mean manually to compare the result
m.recalc <- sum(x)/n
message("Manually computed sample mean: ", round(digits=1, m.recalc))

## Compute manually standard dev of the sample
sample.var <- sum((x - m)^2)/ n
sample.sd <- sqrt(sample.var)
message("Sample standard dev =", round(digits=1, sample.sd))

## Compute an estimate of the population standard deviation
pop.sd.est <- sqrt(sum((x - m)^2) / (n-1))
message("Sample-based estimate of population standard dev =", round(digits=1, pop.sd.est))

## Compute the standard deviation with R function sd()
R.sd <- sd(x)
message("Result of R sd() function =", round(digits=1, R.sd))</pre>
```

Ah ah! (skeptical tone) The R function sd() does not compute the standard deviation of the input numbers (s), but the estimate of the standard deviation of the population  $(\hat{\sigma})$ 

Affichez ces paramètres sur l'histogramme de la longueur des gènes, en utilisant la fonction arrows()

#### 8. Intervalle de confiance

A partir des gènes du chromosome III (considérés comme l'échantillon disponible en 1992), calculez un intervalle de confiance autour de la moyenne, et formulez l'interprétation de cet intervalle de confiance. Evaluez ensuite si cet intervalle de confiance recouvrait ou non la moyenne de la population (tous les gènes du génome de la levure, qui devint disponible 4 ans après le chromosome III).

$$\bar{x} \pm \frac{\hat{\sigma}}{\sqrt(n)} \cdot t_{1-\alpha/2}^{n-1}$$

```
## Define alpha, the risk
alpha <- 0.05

## Let us get the critical value for the t distribution
help("TDist")

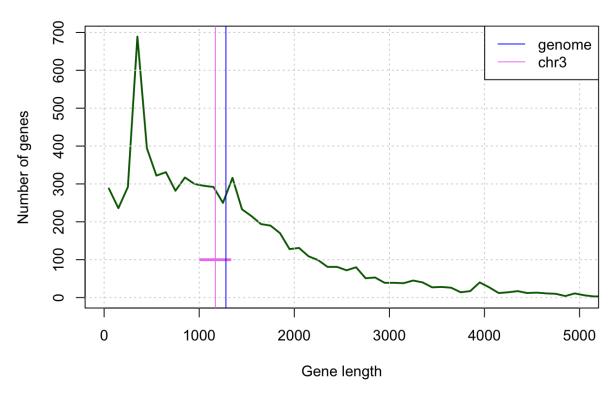
## Which value corresponds to alpha/2

## Beware ! by default the qt() function return the lower tail
qt(p = alpha/2, df = n - 1)</pre>
```

#### [1] -1.972332

Dessinez un polygnone des fréquences indiquant le nombre de gènes par classe (milieux de classe).

## Frequency polygon



## 9. Distribution de la longueur des gènes

- A partir du résult de hist(), récupérez un tableau (dans une variable de type data.frame) indiquant les fréquences absolues (count) en fonction de la taille médiane des classes (mids),
- Ajoutez à ce tableau une colonne indiquant la fréquence relative de chaque classe de longueurs de gènes.
- Ajoutez à ce tableau des colonnes indiquant la fonction de répartition empirique des longueuurs de gènes (nombre de gènes d'une taille inférieure ou égale à chaque valeur x observée, et fréquence relative de ce nombre).
  - fonction de base: cumsum()
  - fonction avancée; ecdf ()
- Au moyen des fonctions plot() et lines(), dessinez un graphe représentant la fréquence absolue par classe (médianes de classes en X, comptages en Y), et la fonction de répartition empirique.
  - suggestion: superposez les utilisez le type de lignes "h" pour les fréquences de classe, et "l" ou "s" pour la fonction de répartition.

#### 10. Distribution attendue au hasard pour la longueur des gènes

Sur base de la taille du génome (12.156.679 bp) et des fréquences génomiques de codons définies ci-dessous, calculez la distribution de longueurs de gènes attendue au hasard, et ajoutez-là au graphique.

Vous pouvez télécharger les fréquences génomiques de tous les trinucléotides ici: 3nt\_genomic\_Saccharomyces\_cerevisiae-ovlp-1str.tab

Alternative: créez une variable freq.3nt et assignez-y manuellement les valeurs pour les 4 nucléotides nécessaires, à partir de la table ci-dessous.

sequence	frequency	occurrences
AAA	0.0394	478708
ATG	0.0183	221902
TAA	0.0224	272041
TAG	0.0129	156668
TGA	0.0201	244627

#### 11. Avant de terminer : conservez la trace de votre session

La traçabilité constitue un enjeu essentiel en sciences. La fonction R sessionInfo() fournit un résumé des conditions d'une session de travail: version de R, système opérateur, bibliothèques de fonctions utilisées.

#### sessionInfo()

```
R version 3.3.2 (2016-10-31)
Platform: x86_64-apple-darwin13.4.0 (64-bit)
Running under: macOS Sierra 10.12.6
locale:
[1] en_US.UTF-8/en_US.UTF-8/en_US.UTF-8/C/en_US.UTF-8/en_US.UTF-8
attached base packages:
[1] stats
              graphics grDevices utils
                                            datasets methods
                                                                base
other attached packages:
[1] knitr_1.17
loaded via a namespace (and not attached):
 [1] backports_1.1.0 magrittr_1.5
                                     rprojroot_1.2
                                                     tools_3.3.2
 [5] htmltools_0.3.6 yaml_2.1.14
                                     Rcpp_0.12.12
                                                     stringi_1.1.5
 [9] rmarkdown_1.6 highr_0.6
                                                     digest_0.6.12
                                     stringr_1.2.0
[13] evaluate_0.10.1
```

## Rendu