R Eğitim

Melike Dönertaş

22-03-2021

Contents

Bilgilendirme

22 Mart 2021 tarihinde Bioinforange tarafından düzenlenen Bioinfoconference kapsamında verilen R Eğitim çalıştay materyalini içerir. Çalıştay materyali Melike Dönertaş tarafından hazırlanmıştır, öneri ve düzeltmeler için konu başlığında "[Bioinforange R Eğitim]" kullanarak email ile ulaşabilirsiniz.

Yardım

R konusunda karşılaştığınız sorular için öncelikle aldığınız hata ve uyarıları incelemenizi, `?` operatörünü veya `help()` komutunu kullanarak fonksiyon, veriseti ve obje yardım sayfalarına bakmanızı, R sıkça sorulan sorular kitapçıklarına sorularınızın dahil olup olmadığını kontrol etmenizi (Genel SSS, Windows'a özgü SSS, Mac OS'a özgü SSS), bir paket kullanıyorsanız ve sorunuz bununla ilgiliyse paket yardım ve kullanım örnekleri dosyalarını incelemenizi, ve eğer bu aşamalardan sonra hala cevap bulamadıysanız sorunuzu "Nasıl güzel soru sorulur?" yönergesine göz attıktan sonra Stack Overflow R bölümüne sormanızı tavsiye ederim. Alternatif olarak, kodlama konusunda yardımlaşma platformlarına (RSG Türkiye'nin Slack kanalı gibi[1]) sorularınızı gönderebilirsiniz.

[1] bu şekilde başka platformlar biliyorsanız lütfen bildirin, güncelleyebilirim

Chapter 1

Çalıştay içeriği

R'a giriş niteliğinde birkaç ders içeriği zaten mevcut. Bu çalıştayda, süremizin de sadece 2 saat olduğunu göz önüne alarak, bir R eğitiminden ziyade R'ın biyolojide uygulamalarına yönelik kısa bir örnekleme hedefledim. Çalıştay R'daki temel işlemler, operatörler, fonksiyonlar ve görselleştirme araçlarının kullanımına örnekler içerecek. Bunun için bir transkriptom veriseti kullanacağız. Bu veriseti halka açık veritabanı olan GEO'dan indirilecek. Ancak bu çalıştay "transkriptom veri analizi nasıl yapılır?"ı öğretmeyi amaçlamamaktadır. Transkriptom veri analizinde batch etkileri, normalizasyon gereklilikleri vs. bir çok kaygı vardır ve buna göre analiz basamakları gerektirmektedir. Burada yapacağımız örnek çok basit olup, gerekli olabilecek bazı basamakları atlamaktadır, bu sebeple transkriptom veri analizi örneği olarak değil R uygulamasına örnek olarak düşünülmelidir.

Chapter 2

Giriş

2.1 R Kurulumu

R'ı kullandığınız işletim sistemine göre CRAN anasayfasından indirebilirsiniz. Özellikle başlangıç seviyesinde `base` indirmek yeterli olacaktır. Kaynak kodu R bazlı değil de C/C++/Fortran gibi dillerde yazılmış olan paketleri kurmak için `Rtools` indirmeniz gerekebilir ama şimdilik `base` indirerek devam edebiliriz.

2.2 RStudio

RStudio, R için bir "entegre geliştirme ortamı"dır ve ücretsiz olarak RStudio websayfasından indirilebilir. Entegre geliştirme ortamları kod yazma, sonuçları ve çizdiğiniz grafikleri vs. görüntüle, otomasyon, hata ayıklama (debugging) gibi programlama ve yazılım geliştirme bileşenlerini içinde bulunduran araçlardır. RStudio ise bunların ötesinde başka programlama dilleriyle beraber kodlama, raporlama, versiyon kontrolü, komut istemcisi ve zamanlı iş çalıştırma ve daha bir çok özellik ile birlikte geliyor. R kodlama için kesinlikle RStudio ile çalışılmasını öneriyorum.

2.3 Başlangıç

Hem R hem Rstudio'yu yükleyip, RStudio açtığımızda karşımıza 3 ekran çıkar. Bunlar haricinde sol üst köşedeki "yeni" tuşuna basıp R Scriptini seçersek 4. ekran açılır. Hızlıca bunların bazılarına bakalım:

- Files:

- Terminal:
- Console:
- Environment:
- Plots:
- Help:
- History:

Bunlardan yeni açtığımız ekran da script (betik) editör ekranı, yani kodu yazıp kaydedeceğimiz kod editörümüz. Kodu konsola yazıp çalıştabiliriz ama önerim hep editörde çalışıp çalışan kodları kaydetmeniz. Editörde yazdığımız kodu kopyala yapıştır yapmadan çalıştırmanın kolay bir yolu var: Windows'ta Ctrl + Enter, Mac'te Cmd + Enter.

Chapter 3

Temel Bilgiler

Kodlari editorde yazip Ctrl+Enter ile calistirabilirsiniz. Alternatif olarak Konsol'da da kodlari yazabilirsiniz ancak editore yazdiklarinizi kaydederek yazdiklarinizdan elinizde bulunmasini istediklerinizi

```
getwd()
```

```
## [1] "/Users/melike/GDrive/githubbooks/20210322_REgitim"
```

```
setwd("~/GDrive/projects/")
```

3.1 RStudio projesi

R'da calisirken her zaman proje olusturmanizi tavsiye ederim. Bu sayede hem her projenize ait kod tarihi ayrica saklanir, hem de calistiginiz klasor vs. gibi konularda endiselenmeniz gerekmez. RStudio projelerinin bunlar haricinde versiyon kontrol konusu vs. gibi ileri asamalarda kullanacaginiz diger konularda da fayda saglar. Sag ust kosedeki New Project'e basip, 'yeni klasor'u secerek yeni proje olusturabilirsiniz. Bunu yaptiktan sonra `getwd()` fonksiyonunu tekrar calistiralim:

```
getwd()
```

```
## [1] "/Users/melike/GDrive/githubbooks/20210322_REgitim"
```

Benim sonucumda degisen bir sey yok cunku zaten proje icinde calisiyordum ancak sizin sonucunuz degismis olmali.

3.2 Hesap makinesi olarak R

```
2+2
```

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

```
5*7
```

```
## [1] 35
```

```
20-4
```

```
## [1] 16
```

```
3^2
```

```
## [1] 9
```

```
100/2
```

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

```
9%%5
```

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

```
9%/%5
```

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

3.3 Fonksiyonlar

R kendi yazacaginiz fonksiyonlarin yaninda kendi icinde cok sayida fonksiyon barindirir, az once kullandigimiz `getwd()` fonksiyonu gibi. Bunlar fonksiyon adini takiben, parantez icinde belli argumanlar alirlar. Birkac ornek:

```
log10(x = 100)
```

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

```
log10(100)
```

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

```
sqrt(16)
```

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

3.3.1 Yardım almak

R'da cogu fonksiyon yardim sayfasi icerir ve bunlara `?` operatoru ile ulasilir:

```
?log10
?getwd
```

3.4 Değişkenlerle çalışmak

Degiskenler veri tutuculardir. Degisken atamak icin `<-` ya da `=` operatorleri kullanilir. Tarihsel olarak `<-` kullanilsa da bugun pratik nedenlerle `=` daha yaygindir ve kullanimi yanlis degildir.

```
a <- 3
print(a)
```

```
## [1] 3
```

```
b = 5
print(b)
```

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

```
c = a + b
print(c)
```

```
## [1] 8
```

```
c
```

```
## [1] 8
```

Rda degisken isimleriyle ilgili kimi kisitlamalar var: - harf ya da nokta ile baslar - ozel anlami olan kelimeler kullanilmaz (`if` ya da `for` gibi). bunlari `?reserved` yazarak ogrenebilirsiniz. - yasak olmasa da Rda yer alan fonksiyon isimleri ile ayni degiskenler yaratmamaya calismak gerekir, soruna yol acabilir. - degiskenler kucuk buyuk harfe duyarlidir, `a` ve `A` birbirinden farkli degiskenlerdir. - simdiye kadar ornekleri `a` `b` `x` gibi harflerden olusturmus olsak da, tuttugu veriyle ilgili bir isim secmek iyi bir aliskanliktir.

3.5 R'da objeler

3.5.1 Obje türleri

5 temel obje turu var; karakter, numerik, tam sayi (integer), kompleks, mantiksal (logical/boolean).

3.5.1.1 Karakter

```
x = 'a'
x
```

```
## [1] "a"
```

```
class(x)
```

```
## [1] "character"
```

Karakter objeleri tek karakter icermek zorunda degildir

```
y = "bu da karakter"
y
```

```
## [1] "bu da karakter"
```

```
class(y)
```

```
## [1] "character"
```

Degiskenler `a` gibi tirnak isareti olmadan yazilir, karakterler ise `"a"` ya da `'a'` seklinde yazilir. R'da ' ile " kullanimi karakterlerde farketmez. Ayrica tirnak icindeki karakter sadece harf olmak zorunda degil, ne olursa olsun bir karakter objesidir:

```
a = '5'
a
```

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

```
class(a)
```

```
## [1] "character"
```

3.5.1.2 Nümerik ve tam sayılar

```
x = 3
x
```

```
## [1] 3
```

```
class(x)
```

```
## [1] "numeric"
```

```
x = 3.14
x
```

```
## [1] 3.14
```

```
class(x)
```

```
## [1] "numeric"
```

```
x = 1/0
x
```

```
## [1] Inf
```

```
class(x)
```

```
## [1] "numeric"
```

```
x = 0/0
x
```

```
## [1] NaN
```

```
class(x)
```

```
## [1] "numeric"
```

Özellikle tam sayı oluşturmak istiyorsak sonda `L` ekini kullanmalıyız.

```
x = 3L
x
```

```
## [1] 3
```

```
class(x)
```

```
## [1] "integer"
```

3.5.1.3 Kompleks

```
x = 5+2i
x
```

```
## [1] 5+2i
```

```
class(x)
```

```
## [1] "complex"
```

3.5.1.4 Mantıksal (Logical, boolean)

```
x = TRUE
x
```

```
## [1] TRUE
```

```
class(x)
```

```
## [1] "logical"
```

```
y = T
y
```

```
## [1] TRUE
```

```
class(y)
```

```
## [1] "logical"
```

```
z = FALSE
z
```

```
## [1] FALSE
```

```
class(z)
```

```
## [1] "logical"
```

```
a = F
a
```

```
## [1] FALSE
```

```
class(a)
```

```
## [1] "logical"
```

```
a = 'F'
a
```

```
## [1] "F"
```

```
class(a)
```

```
## [1] "character"
```

Bunlar temel obje turleri olsa da, ileride class fonksiyonunu kullandiginizda baska sonuclar alabilirsiniz. Bu temelde R'in nesne tabali dogasindan kaynakli.

Ayrica objeniz bir matris ise, numerik degerlere mi karakterlere mi sahip, bunu ogrenmek icin `mode()` fonksiyonunu kullanmaniz gerekecek.

3.5.2 Vektör

Ayni temel obje turunden olusan elementler iceren dizilerdir:

```
x = c(1, 2, 3)
x
```

```
## [1] 1 2 3
```

```
class(x)
```

```
## [1] "numeric"
```

burada `c` vektor olusturmak icin kullanilmis bir fonksiyondur, combine ya da concatanate kelimelerinin kisaltilmisi olarak dusunulebilir.

```
x = c(T, F, T, T)
x
```

```
## [1]  TRUE FALSE  TRUE  TRUE
```

```
class(x)
```

```
## [1] "logical"
```

```
x = c('a', 'b', 'cc')
x
```

```
## [1] "a"  "b"  "cc"
```

```
class(x)
```

```
## [1] "character"
```

Ayni tipte olmayan degerleri birlestirirseniz, beklenmeyen davranislarla karsilasabilirsiniz.

```
x = c(3.14, 'karakter', 3i+2, TRUE, F, 5L)
x
```

```
## [1] "3.14"     "karakter" "2+3i"     "TRUE"     "FALSE"    "5"
```

```
class(x)
```

```
## [1] "character"
```

Hata almadik ama objeler birlestirme sirasinda kendi modlarini koruyamadilar. Bu sebeple eger numerik vektoru karakter vektoruyle birlestirirseniz, numerik degerler karaktere donuseceginden artik numerik islemler yapamazsiniz.

Vektorun belli bir elemanini almak icin `[]` operatoru kullanilir.

```
x[2]
```

```
## [1] "karakter"
```

3.5.3 Liste

Listeler, birden fazla obje turunu icerebilir:

```
mylist = list(1, 2, TRUE, 'a')
mylist
```

```
## [[1]]
## [1] 1
##
## [[2]]
## [1] 2
##
## [[3]]
## [1] TRUE
##
## [[4]]
## [1] "a"
```

Listenin belli bir elemanini almak icinse `[[]]` operatoru kullanilmalidir:

```
mylist[[1]]
```

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

```
mylist[[3]]
```

```
## [1] TRUE
```

3.5.4 Matris

Matrisler iki boyutlu verilerdir, yanyana dizilmis ayni uzunluktaki vektorler gibi de dusunebilirsiniz:

```
a <- 1:2
b <- 3:4
c <- 5:6
```

```
x = cbind(a,b,c)
x
```

```
##      a b c
## [1,] 1 3 5
## [2,] 2 4 6
```

```
y = rbind(a,b,c)
y
```

```
##   [,1] [,2]
## a    1    2
## b    3    4
## c    5    6
```

```
dim(x)
```

```
## [1] 2 3
```

```
x[1,1]
```

```
## a
## 1
```

```
x[1,2]
```

```
## b
## 3
```

```
x[1,]
```

```
## a b c
## 1 3 5
```

```
x[,2]
```

```
## [1] 3 4
```

```
colnames(x)
```

```
## [1] "a" "b" "c"
```

```
rownames(x)
```

```
## NULL
```

```
rownames(x) = c('satir1','satir2')
x
```

```
##        a b c
## satir1 1 3 5
## satir2 2 4 6
```

```
dimnames(x)
```

```
## [[1]]
## [1] "satir1" "satir2"
##
## [[2]]
## [1] "a" "b" "c"
```

3.5.5 Faktör

Faktörler kategorik verilerle uğraşırken kullandığımız verilerdir. Yani değişkenimiz sadece belli bir set içinden değer alabilir.

```
a =  c("elma", "muz", "elma", "armut", "muz")
a
```

```
## [1] "elma"  "muz"   "elma"  "armut" "muz"
```

```
class(a)
```

```
## [1] "character"
```

```
a = factor(c("elma", "muz", "elma", "armut", "muz"))
a
```

```
## [1] elma  muz   elma  armut muz
## Levels: armut elma muz
```

```
class(a)
```

```
## [1] "factor"
```

```
levels(a)
```

```
## [1] "armut" "elma"  "muz"
```

3.5.6 Data frame

Data frame goruntu itibariyle matrisleri andirsa da farkli veri tiplerini barindirabilmesinden dolayi, liste gibidir.

```
x = data.frame(id = c(1,2,3,4),
               isim = c('ali','veli','ayse','fatma'),
               ogrenci = c(T,T,F,T))
x
```

```
##   id  isim ogrenci
## 1  1   ali    TRUE
## 2  2  veli    TRUE
## 3  3  ayse   FALSE
## 4  4 fatma    TRUE
```

```
class(x)
```

```
## [1] "data.frame"
```

data.frame icinde bir sutunu almak icin matrislerde oldugu gibi `[]` ya da `$` operatorunu kullanabilirsiniz:

```
x[,2]
```

```
## [1] "ali"   "veli"  "ayse"  "fatma"
```

```
x$isim
```

```
## [1] "ali"   "veli"  "ayse"  "fatma"
```

```
x[3,2]
```

```
## [1] "ayse"
```

```
x$isim[3]
```

```
## [1] "ayse"
```

3.6 Paketler

Son olarak R'da ozellesmis bazi fonksiyonlari ve veri tiplerini bulabileceginiz fonksiyonlar vardir. Bunlardan bazilari R'i indirdiginiz CRAN uzerinden, bazilari (ozellikle biyolojik veri analizi ile ilgili olanlari) Bioconductor uzerinden, bazilari da paketi olusturan kisilerin github repolari uzerinden indirilir. Indirme komutlari farkli olsa da, hepsi `library(PAKETADI)` komutu ile R'a yuklenir. Kullanisli bir kac paketi yukleyelim:

CRAN'dan indirmek icin:

```
install.packages('ggplot2')
```

Bioconductor'dan paket indirmeden once, CRAN'dan BiocManager paketini indirmeniz gerekir:

```
install.packages("BiocManager")
```

Bioconductor'dan paket indirmek icin, BiocManager'i `library()` fonksiyonu ile Ra yuklemeden `BiocManager::` ile bu paket icindeki bir fonksiyonu kullanabilirsiniz:

```
BiocManager::install("preprocessCore")
```

GitHub'dan bir paket indirmek icinse CRANdan indireceginiz `devtools` paketine ihtiyaciniz vardir. Paketlerin Github sayfalarindan indirme komutuna ulasabilirsiniz. Biz calistayda bu sekilde bir paket kullanmayacagiz.

Chapter 4

Insan prefrontal korteksinde gen ifadesinin zamansal dinamikleri

Bu calismada 2011 yilinda yayinlanmis bir makalede uretilmis olan bir mikrodizin veriseti kullanacagiz. Gorece eski bir teknolojiyle uretilmis olsa da verinin ve veri isleme basamaklarinin acik bir sekilde makalede paylasilmis durumda. Bu calistay mikrodizin / transkriptom veri analizi calistayi olmadigindan bu basamaklardan bazilarini atlayacagiz (orn. kismen islenmis veri ile baslayacak ve veride batch etkisi olmadigini varsayacagiz) ve kendi verinizi analiz edecek olursaniz bu calistayi birebir takip etmeniz yeterli olmayacaktir. Ancak makalede basamaklar anlatildigindan, kendiniz tekrar edebilirsiniz.

GEO baglantisi: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/query/acc.cgi?acc=GSE30272

Makale: Colantuoni, C., Lipska, B. K., Ye, T., Hyde, T. M., Tao, R., Leek, J. T., Colantuoni, E. A., Elkahloun, A. G., Herman, M. M., Weinberger, D. R., & Kleinman, J. E. (2011). Temporal dynamics and genetic control of transcription in the human prefrontal cortex. Nature, 478(7370), 519–523. https://doi.org/10.1038/nature10524

Kisaca bu verisetinde cok sayida, farkli yaslarda bireylerin olum sonrasi beyin, prefontal korteks bolgesinden alinan orneklerde gen ifade verisi var. Biz de bu verisetini indirip, yasa bagli anlatimi degisen genler neler vs. gibi kimi sorulara cevap arayacagiz. Veriseti GEO'da herkese acik bir sekilde bulunuyor, ancak veriyi indirme asamasinda kullanilacak paket ve fonksiyonlar calistayin odagini degistirebileceginden o kismi atlayip, ilk indirme islemi tamamlandiktan sonraki kisma odaklanacagiz.

4.1 Calistay icin verinin on hazirligi

Bu kismi calistay sirasinda yapmayacagim ve sizlere on hazirligi yapilmis bir veriseti sunacagim. Ancak kendiniz veriyi GEO'dan indirip ayni basamaklari tekrar etmek isterseniz, basamaklari burada paylasiyorum:

```
BiocManager::install("GEOquery")
```

```
library(GEOquery)
gse <- getGEO('GSE30272',GSEMatrix=TRUE)
```

```
gse
```

```
metadata = pData(gse$GSE30272_series_matrix.txt.gz)
exprmat = exprs(gse$GSE30272_series_matrix.txt.gz)
featdata = fData(gse$GSE30272_series_matrix.txt.gz)
```

```
metadata = metadata[,c(1,2,10:17)]
featdata = featdata[,c(1,6,7,8)]
```

```
saveRDS(exprmat, './data/expressionmatrix.rds')
saveRDS(featdata, './data/featuredat.rds')
saveRDS(metadata, './data/metadata.rds')
```

```
write.csv(exprmat,'./data/expressionmatrix.csv')
write.csv(featdata,'./data/featuredat.csv')
write.csv(metadata,'./data/metadata.csv')
```

Chapter 5

Veri on isleme basamaklari

Veriyi GEO'dan ifade matrisi, metadata yani bireylere dair bilginin bulundugu bir tablo, ve feature data yani probeset-gen eslesmelerinin verildigi bir tablo olarak kaydettim. Simdi bunlari okuyarak baslayacagiz. Ilk olarak gen ifade verisiyle baslayalim.

5.1 `read.csv()` ve 'readRDS()" ile veri okuma

`read.csv` fonksiyonu hem URL'den okuma hem de bilgisayarimizdaki bir dosyadan okuma yapmamizi saglar. Dosyayi benim github repomdan indirip, fonksiyona `file =` degiskeni olarak indirdiginiz yeri vererek okuyabilirsiniz. Simdi kolaylik olmasi acisindan direkt olarak github repomdan okuyacagiz. Bu fonksiyon ayrica baska argumanlar da aliyor. `header` dosyada sutun isimlerinin yer alip almadigini belirtmek icin kullaniliyor ve mantiksal bir arguman yani `TRUE` ya da `FALSE` degerlerini alabilir. Kullanacagimiz bir diger arguman ise `row.names =`, bu da satir isimlerinin hangi sutunda yer aldigini belirtmemiz icin gerekli. Eger bu argumani kullanmazsak, matrisimizin satir isimleri de bir sutun olarak okunacaktir.

```
expr = read.csv(file = './data/expressionmatrix.csv', header = T,
                row.names = 1)
```

Ilk 6 satir ve 4 sutuna bakalim:

```
expr[1:6,1:4]
```

```
##                   GSM749899  GSM749900 GSM749901  GSM749902
## HEEBO-002-CTRL2I1  -1.455124 -2.6244200 -1.904436 -1.5793507
```

```
## HEEBO-002-CTRL2I10  1.044670  0.4490985  0.619243  0.1930628
## HEEBO-002-CTRL2I11  1.164344  1.5833201  1.150024  1.5764080
## HEEBO-002-CTRL2I14  1.597227  1.4105770  1.469449  2.6433802
## HEEBO-002-CTRL2I15 -1.454337 -1.9784923 -1.485409 -1.5038039
## HEEBO-002-CTRL2I16  1.396667  0.7461117  1.212514  0.6586667
```

Her sey yolunda gozukuyor ama bir de bu objenin daha onceden ogrendigimiz gibi `class`ina bakalim:

```
class(expr)
```

```
## [1] "data.frame"
```

Genellikle `read.csv` fonksiyonu bir data.frame olusturur. Biz bu objede kimi matris operasyonlari yapmak istiyoruz. O yuzden bunu matrise donusturmeliyiz. Bunun icin `as.matrix` yani 'matrix olarak' fonksiyonunu kullanabiliriz.

```
expr = as.matrix(expr)
```

Tekrar ilk birkac satir sutun ve class kontrolumuzu yapalim:

```
expr[1:6, 1:4]
```

```
##                     GSM749899  GSM749900 GSM749901  GSM749902
## HEEBO-002-CTRL2I1  -1.455124 -2.6244200 -1.904436 -1.5793507
## HEEBO-002-CTRL2I10  1.044670  0.4490985  0.619243  0.1930628
## HEEBO-002-CTRL2I11  1.164344  1.5833201  1.150024  1.5764080
## HEEBO-002-CTRL2I14  1.597227  1.4105770  1.469449  2.6433802
## HEEBO-002-CTRL2I15 -1.454337 -1.9784923 -1.485409 -1.5038039
## HEEBO-002-CTRL2I16  1.396667  0.7461117  1.212514  0.6586667
```

```
class(expr)
```

```
## [1] "matrix" "array"
```

Arraylerden baslangicta bahsetmemistim, kullanimi cok asiri yaygin degil ama bunlar da 1 ya da daha fazla boyutlu vektorler olarak dusunulebilir, yani iki boyutlusu matris ama daha fazla boyutlu array olusturmak mumkun.

Simdi bir de matrisimizin boyutlarina bakalim. Bunu ya satir (`nrow()`) ve sutun sayisini (`ncol()`) yazdirarak ya da `dim()` fonksiyonu ile yapabiliriz.

```
nrow(expr)
```

```
## [1] 30176
```

```
ncol(expr)
```

```
## [1] 269
```

```
dim(expr)
```

```
## [1] 30176   269
```

Matrisimizde 30176 satir, 269 sutun var - yani 30176 probeset ID, 269 ornek. Daha fazla ilerlemeden once bir veri okuma sekli daha gostermek istiyorum.

Alternatif olarak ayni veriyi bir .rds - R objesi olarak da kaydetmistim. Onu okumak icin de `readRDS()` fonksiyonunu kullanabiliriz. Bunun avantaji verinizin bir csv dosyasina kaydedilerek olasi bozulmalarini engellemenin yani sira, obje turunu vs. de koruyabilirsiniz.

```
expr = readRDS(file = './data/expressionmatrix.rds')
class(expr)
```

```
## [1] "matrix" "array"
```

```
expr[1:6,1:4]
```

```
##                    GSM749899  GSM749900 GSM749901  GSM749902
## HEEBO-002-CTRL2I1  -1.455124 -2.6244200 -1.904436 -1.5793507
## HEEBO-002-CTRL2I10  1.044670  0.4490985  0.619243  0.1930628
## HEEBO-002-CTRL2I11  1.164344  1.5833201  1.150024  1.5764080
## HEEBO-002-CTRL2I14  1.597227  1.4105770  1.469449  2.6433802
## HEEBO-002-CTRL2I15 -1.454337 -1.9784923 -1.485409 -1.5038039
## HEEBO-002-CTRL2I16  1.396667  0.7461117  1.212514  0.6586667
```

```
dim(expr)
```

```
## [1] 30176   269
```

Gordugunuz gibi bu dosyayi okudugumuzda veriyi direkt olarak matrix olarak okuyabildik ve data.frame'den donusturmek zorunda kalmadik.

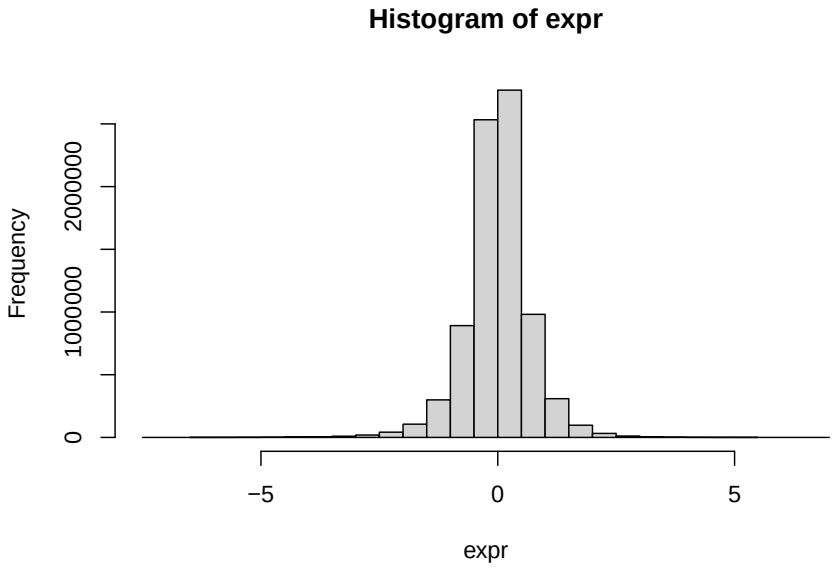
5.2 Kesifci veri analizi

Daha ileri gecmeden hemen bu asamada cok kisaca verimiz neye benziyor bakabiliriz. Bunun icin temel bir kac gorsellestirme fonksiyonu kullanacagiz.

5.2.1 Histogram

Ilk olarak verimizin dagilimi nedir, ne gibi degerler var bunlara bakalim:

```
hist(expr)
```

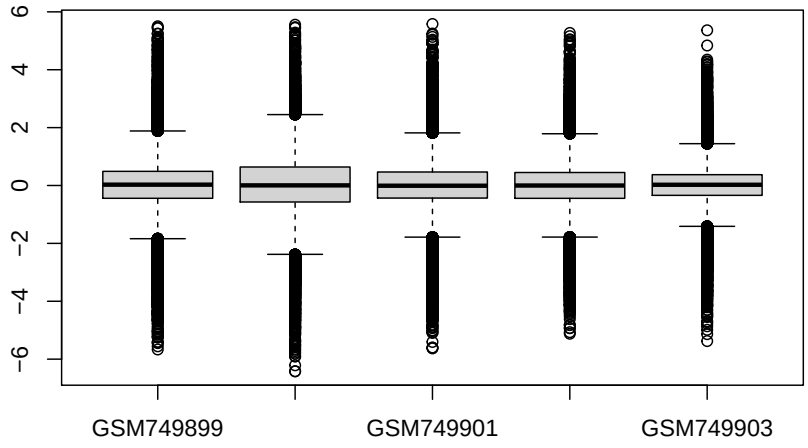


Bu sekilde, hangi bireyin veya genin verisi olduguna bakmaksizin tum degerlerin bir histogramini aliriz. Bu histogram cogu gen ekpresyon verisinde alacaginiz ham veri grafiginden cok farkli, bunun sebebi bunun two channel microarray olmasi ve loess normalizasyonu gibi kimi normalizasyon asamalarindan da gecirilmis olmasi.

5.2.2 Boxplot

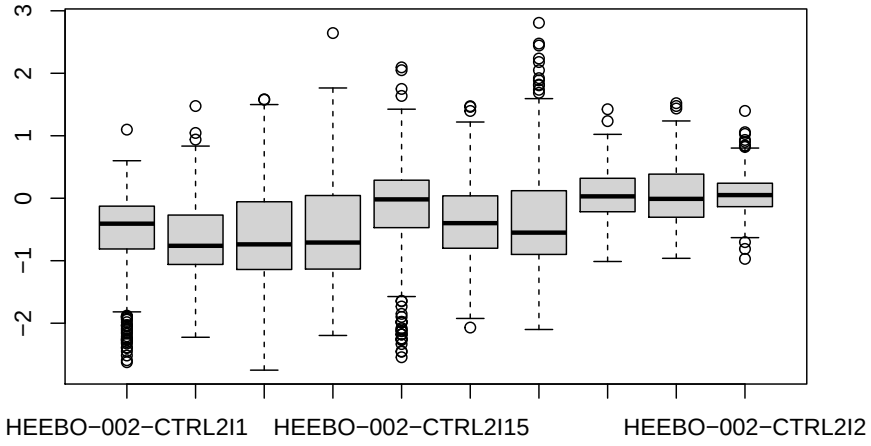
Simdi de ilk birkac bireyin gen anlatim profillerine bakalim.

```
boxplot(expr[,1:5])
```



Ayni grafigi ilk bir kac gen icin cizmek isteyecek olsak, hem matrisi subset etmemiz hem de transpoze etmemiz gerekir. Bunu `t()` fonksiyonu ile kolaylikla yapabiliriz:

```
boxplot(t(expr[1:10,]))
```



5.3 ProbesetID - Gen eslestirmesi

Ayni gen ifade verisi gibi probesetID - gen eslesmesi bilgisinin kayitli oldugu bir tablo daha kaydetmistim. Simdi onu okuyalim:

```
genedata = read.csv('./data/featuredat.csv')
genedata[1:3,]
```

```
##                    X                 ID   OligoID
## 1  HEEBO-002-CTRL2I1  HEEBO-002-CTRL2I1 hCT000577
## 2 HEEBO-002-CTRL2I10 HEEBO-002-CTRL2I10 hCT000586
## 3 HEEBO-002-CTRL2I11 HEEBO-002-CTRL2I11 hCT000587
##                                                                SEQUENCE
## 1 ACTCTGGATCCTGGGCGACGTCTTCATCGGCCGCTACTACACTGTGTTTGACCGTGACAACAACAGGGTG
## 2 CATCCTCACCGACATCACCAAGGGTGTGCAGTACCTCAACGAGATCAAGGACAGTGTGGTGGCCGGCTTC
## 3 GTCCCTGGAACGCCAGATGCGTGAAATGGAAGAGAACTTTGCCGTTGAAGCTGCTAACTACCAAGACACT
##        GB_ACC Strand Gene_Symbol                                    Gene_Title
## 1 NM_001909.4      +        CTSD                                   cathepsin D
## 2 NM_001961.3      +        EEF2 eukaryotic translation elongation factor 2
## 3 NM_003380.3      +         VIM                                     vimentin
##   Entrez_Gene_ID UniGene_Cluster_ID Feb2012_Blast_Cutoffs SPOT_ID
## 1           1509          Hs.654447 100/100_Unique_RefSeq
## 2           1938          Hs.515070 100/100_Unique_RefSeq
```

```
## 3           7431          Hs.455493 100/100_Unique_RefSeq
```

```
class(genedata)
```

```
## [1] "data.frame"
```

Ilk olarak gen bilgisini duzenleyelim. Bunun icin bu data.frame'den iki sutunu kullanacagiz.

```
genedata$ID[1:10]
```

```
##  [1] "HEEBO-002-CTRL2I1"  "HEEBO-002-CTRL2I10" "HEEBO-002-CTRL2I11"
##  [4] "HEEBO-002-CTRL2I14" "HEEBO-002-CTRL2I15" "HEEBO-002-CTRL2I16"
##  [7] "HEEBO-002-CTRL2I17" "HEEBO-002-CTRL2I18" "HEEBO-002-CTRL2I19"
## [10] "HEEBO-002-CTRL2I2"
```

```
genedata$Gene_Symbol[1:10]
```

```
##  [1] "CTSD" "EEF2" "VIM"  "VIM"  "GSN"  "EEF2" "VIM"  "CTSD" "RPN2" "RPN2"
```

Simdi isimlendirilmis bir vektor olusturacagim ki, belli bir probe IDye karsilik gelen geni bulabileyim. Bunu yapmak icin `setNames()` fonksiyonunu kullanacagim. Isimler, yani ikinci arguman, probeID olacak, vektorun kendisi ise genler, bu sayede vektoru belli bir probe ID kullanarak subset ettigimde hangi gen oldugunu bulabilirim. Buna gecmeden bir ornek:

```
x = setNames(c(1:3),c('bir','iki','uc'))
x
```

```
## bir iki  uc
##   1   2   3
```

ikinci elemani almak icin:

```
x[2]
```

```
## iki
##   2
```

```
x['iki']
```

```
## iki
##   2
```

Bunlarin ikisini de kullanabiliyorum. IDleri kullanarak genleri bulmam da ayni sekilde olacak:

```
genemap = setNames(genedata$Gene_Symbol,genedata$ID)
genemap[1:5]
```

```
##  HEEBO-002-CTRL2I1 HEEBO-002-CTRL2I10 HEEBO-002-CTRL2I11 HEEBO-002-CTRL2I14
##              "CTSD"              "EEF2"              "VIM"              "VIM"
## HEEBO-002-CTRL2I15
##              "GSN"
```

```
head(genemap)
```

```
##  HEEBO-002-CTRL2I1 HEEBO-002-CTRL2I10 HEEBO-002-CTRL2I11 HEEBO-002-CTRL2I14
##              "CTSD"              "EEF2"              "VIM"              "VIM"
## HEEBO-002-CTRL2I15 HEEBO-002-CTRL2I16
##              "GSN"              "EEF2"
```

Matrisin satir isimleriyle genemap'i subset ettigimiz zaman, dogru sirayla hangi genlere karsilik geliyorsa bize bu bilgiyi verecek. Simdi once bir yanlis yapma ihtimalimize karsin matrisimizi kopyalayalim:

```
expr_yedek = expr
```

Simdi ilk olarak bir probeset ID birden fazla genle eslesiyor mu buna bakmaliyiz, bunlar veri duplikasyonu yaratacagindan istatistiksel test yapmamizi zorlastirir bunlari veriden cikararak baslayacagiz:

```
any(duplicated(names(genemap)))
```

```
## [1] FALSE
```

Hic tekrar eden bir probesetIDmiz yok - yani bu bu veriseti icin problem degil. Bir de cok fazla sayida probesetIDye map olmus olan genlere bakalim:

```
sort(table(genemap),dec=T)[1:10]
```

```
## genemap
## ##noname##                LRP1        OCRL        TLN1         TTN       CDH23
##        903         825         88          62          55          55          41
##      ANXA7         RB1       DNAH9
##         40          40          37
```

Bunlardan '##noname## ve '' tabii ki gen ismi degil. Bunlari veriden cikartmak gerekir, ama bunu matrixe isimleri gecirdikten sonra yapacagim. Simdi probeset IDleri gen isimleriyle degistirerek devam edelim:

```
rownames(expr) = genemap[rownames(expr)]
```

```
expr[1:5,1:5]
```

```
##      GSM749899  GSM749900 GSM749901  GSM749902  GSM749903
## CTSD -1.455124 -2.6244200 -1.904436 -1.5793507 -2.1666262
## EEF2  1.044670  0.4490985  0.619243  0.1930628 -0.4370544
## VIM   1.164344  1.5833201  1.150024  1.5764080  1.3569308
## VIM   1.597227  1.4105770  1.469449  2.6433802  1.7567335
## GSN  -1.454337 -1.9784923 -1.485409 -1.5038039 -1.2828650
```

```
sort(table(rownames(expr)), dec = T)[1:10]
```

```
##
## ##noname##                LRP1        OCRL        TLN1         TTN       CDH23
##        903         825         88          62          55          55          41
##      ANXA7         RB1       DNAH9
##         40          40          37
```

Burada gordugunuz gibi bazi gen isimleri birden fazla kez tekrar ediliyor. Bu mikrodizin dizaynindan kaynakli bir durum, her gen bir ya da daha fazla probeset ile temsil ediliyor. Genelde her gen bu probesetlerin ortalamasi ya da maksimumu alinarak ozetlenir - bu sayede her gen matriste bir defa yer alir. Bunu yapmak icin matrisi gen isimleriyle subset etmeyi ogrenecegiz. Zaten belli bir isimle subset yapmayi biliyoruz, ancak bu sadece tekrarli olmayan durumlarda gecerli. Suna bakalim:

```
x = setNames(c(1:5), c('bir','iki','iki','dort','bes'))
x['iki']
```

```
## iki
##   2
```

oysa 3 degerine sahip olan elemanin adi da 'iki'. Bu tarz tekrarli durumlarda otomatik olarak ilk eleman verilir. Ikisini birden istiyorsak subset islemini `%in%` operatoru ile yapmamiz gerekir.

5.3.1 %in% operatoru

```
'elma' %in% c('elma','armut')
```

```
## [1] TRUE
```

```
'muz' %in% c('elma','armut')
```

```
## [1] FALSE
```

```
c('elma', 'muz') %in% 'elma'
```

```
## [1]  TRUE FALSE
```

```
c('elma', 'muz') %in% 'muz'
```

```
## [1] FALSE  TRUE
```

Bilmemiz gereken bir konu da bir vektoru ya da matrisi mantiksal degiskenlerle de subset edebildigimiz:

```
c(1:5)[c(T,T,F,T,F)]
```

```
## [1] 1 2 4
```

Ilk olarak gen ismi olarak `'##noname##` ve `''` gorunen satirlari veriden cikartarak baslamaliyiz:

```
expr = expr[!rownames(expr) %in% c('##noname##',''),]
```

```
sort(table(rownames(expr)),dec=T)[1:10]
```

```
##
##  LRP1  OCRL  TLN1   TTN CDH23 ANXA7   RB1 DNAH9 WDFY3 SYNE2
##    88    62    55    55    41    40    40    37    37    36
```

Simdi tekrar eden genleri ozetlemeye geri donelim.

```
expr[rownames(expr) %in% 'VIM', 1:5]
```

```
##     GSM749899 GSM749900 GSM749901 GSM749902 GSM749903
## VIM  1.164344  1.583320  1.150024  1.576408  1.356931
## VIM  1.597227  1.410577  1.469449  2.643380  1.756734
## VIM  2.475041  2.236114  2.179526  2.807048  2.443889
## VIM  2.414010  2.242931  2.379348  1.909755  2.596801
## VIM  2.913906  1.343048  2.536056  2.271887  2.118884
## VIM  1.743049  1.492585  1.621053  1.394594  2.030154
## VIM  1.171174  1.165681  1.099818  2.274270  1.541334
## VIM  1.446696  1.451936  1.782307  2.605349  1.957581
## VIM  1.131674  1.172329  1.053107  1.871871  1.780982
```

Simdi yeni bir fonksiyon ogrenelim `colMeans()` bu da adi ustunde sutun ortalamasini aliyor. Yani matrisi tum VIM genine karsilik gelen probesetler icin subset edip, `colMeans()` dersek tek boyutlu, satirlarin ortalamasina sahip bir vektor verecek:

```
vimmeans = colMeans(expr[rownames(expr) %in% 'VIM', ])
head(vimmeans)
```

```
## GSM749899 GSM749900 GSM749901 GSM749902 GSM749903 GSM749904
##  1.784125  1.566502  1.696743  2.150507  1.953699  1.409357
```

Ama bu sadece tek bir gen icin. Oysa biz tek genle ilgilenmiyoruz, butun genler icin bunu yapmak istiyoruz. Eger programlama dillerine asinaysaniz `for` loop larini duymussunuzdur. Bunlar ayni islemin defalarca ayni ya da farkli inputlar icin tekrarlanmasini saglar. R'da da for loop yazabiliriz bunun icin kullanilacak fonksiyon `for`. Bizse for yerine R'a ozgu *apply fonksiyonlari olarak gecen fonksiyonlardan biri olan `sapply()` fonksiyonu ile bunu yapacagiz. Ilk olarak butun gen isimlerini almaliyiz. Bunu sadece `rownames()` ile alamiyoruz cunku isimler tekrar ediyor. Onun yerine her degerin sadece bir kere tekrar edilmesini `unique()` fonksiyonu ile saglayacagiz.

```
genisimleri = unique(rownames(expr))
nrow(expr)
```

```
## [1] 28448
```

```
length(genisimleri)
```

```
## [1] 17160
```

Sadece 17bin gen var. Yani her gen cok defa tekrar ediliyor olmak zorunda degil. Eger tekrar edilmeyen bir geni subset edersek, 'sutun ortalamalarini ver' demek icin kullanacagimiz `colMeans` fonksiyonu calismaz, cunku bir matris degil bir vektor soz konusu olacak. Bunun icin bir de `if` fonksiyonunu ogrenmeliyiz. `if` bir kodu ancak belli kosullar altinda calistiracaktir. Bu sayede eger bir defa geciyorsa sunu yap, birden fazla kez tekrar ediliyorsa sunu yap seklinde bir kod yazmamiz mumkun olacak. If'e cok kisa bir ornek:

```
vektorum = c('elma','muz','armut')
if('cilek'%in%vektorum){
  print('cilek var!')
} else if('elma' %in% vektorum){
  print('elma var!')
} else{
  print('ne cilek ne elma var :(')
}
```

```
## [1] "elma var!"
```

daha iyi anlayabilmemiz icin bir ornek daha:

```
vektorum = c('elma','muz','armut')
if('muz'%in%vektorum){
  print('muz var!')
} else if('elma' %in% vektorum){
  print('elma var!')
} else{
  print('ne cilek ne elma var :(')
}
```

```
## [1] "muz var!"
```

hem elma hem muz olmasina ragmen sadece birinci komut calisti. Bunun sebebi `else` komutu ancak ilk kodumuz yanlissa calisacak olmasi.

Simdi de cok kisa `sapply()` nasil calisiyor buna bakalim:

```
sapply(c(1:10),function(i){
  i * 2
})
```

```
##  [1]  2  4  6  8 10 12 14 16 18 20
```

```
sapply(c(1:10),function(i){
  i * (i-1)
})
```

```
##  [1]  0  2  6 12 20 30 42 56 72 90
```

Simdi biraz ileri duzey gibi gorunmesi muhtemel bir kod yazacagiz ama basamak basamak inceleyince anlasilmasi kolay olacaktir:

```
genexpr = sapply(genisimleri, function(gen) {
  i = rownames(expr)%in%gen
  if(sum(i)>1){
    colMeans(expr[i,])
  } else if(sum(i)==1){
    expr[i,]
  }
})
```

```
genexpr[1:5,1:5]
```

```
##                 CTSD      EEF2      VIM        GSN     RPN2
## GSM749899 -0.8124619 1.5620237 1.784125 -0.6578933 1.658038
## GSM749900 -1.3310489 1.4339156 1.566502 -1.1007844 1.528385
## GSM749901 -1.2447029 0.9832866 1.696743 -1.0306526 1.286318
## GSM749902 -1.2017866 0.7393814 2.150507 -0.8413292 1.153392
## GSM749903 -1.1041998 0.2957918 1.953699 -0.7242716 0.789019
```

satir-sutun yer degistirmis durumda. bunu yine transpoze ederek duzeltebiliriz:

```
genexpr = t(genexpr)
```

```
genexpr[1:5,1:5]
```

```
##       GSM749899 GSM749900  GSM749901  GSM749902  GSM749903
## CTSD -0.8124619 -1.331049 -1.2447029 -1.2017866 -1.1041998
## EEF2  1.5620237  1.433916  0.9832866  0.7393814  0.2957918
## VIM   1.7841245  1.566502  1.6967431  2.1505070  1.9536987
## GSN  -0.6578933 -1.100784 -1.0306526 -0.8413292 -0.7242716
## RPN2  1.6580375  1.528385  1.2863177  1.1533917  0.7890190
```

```
dim(genexpr)
```

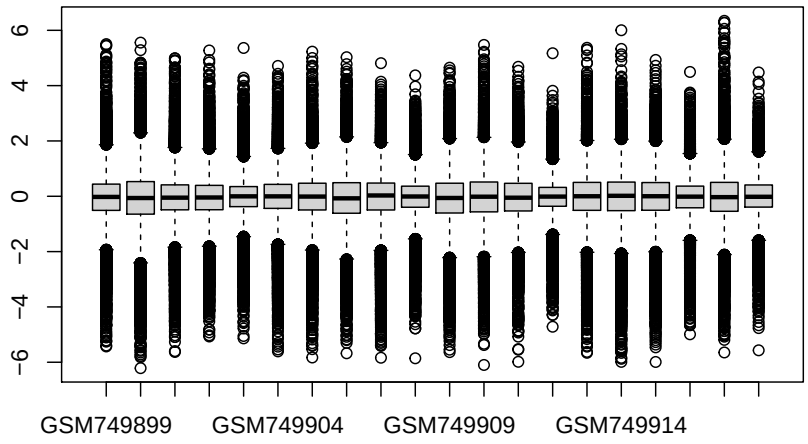
```
## [1] 17160   269
```

Artik her gen icin bir satirimiz var!

5.4 Quantile Normalization

Son olarak bu gen ifade matrixinde bir normalizasyon metodu uygulayalim. Burada amacimiz farkli ornekler arasindaki olasi teknik varyasyonu ortadan kaldirmak. Uygulayacagimiz normalizasyonun adi 'quantile normalization' - bunun sonunda tum orneklerin dagilimlari ayni olacak - genler farkli degerler alacak ama genlerin dagilimi ayni olacak. Normalizasyon oncesi ilk bir kac bireyin dagilimina bakalim.

```
boxplot(genexpr[,1:20])
```



Gordugunuz gibi ortalamalari hemen hemen ayni olsa da (bunun sebebi verinin zaten baska bir yontemle kismen normalize edilmis olmasi), Dagilimlar farkli.

Normalizasyon icin Rda olmayan bir fonksiyon kullanacagiz, bunun icin de `preprocessCore` paketini yuklememiz gerekiyor:

```
BiocManager::install("preprocessCore")
```

```
library(preprocessCore)
```

Fonksiyonumuzun adi `normalize.quantiles()`

```
genexpr_qn = normalize.quantiles(genexpr)
dim(genexpr_qn)
```

```
## [1] 17160   269
```

```
genexpr_qn[1:5,1:5]
```

```
##            [,1]       [,2]       [,3]       [,4]       [,5]
## [1,] -0.4993920 -0.6776740 -0.7796459 -0.8040486 -0.8587960
## [2,]  1.0141904  0.8355595  0.6704056  0.5563232  0.2924776
## [3,]  1.1413791  0.9140343  1.1026208  1.4685350  1.5103426
## [4,] -0.4112961 -0.5602207 -0.6620208 -0.5704519 -0.6015157
## [5,]  1.0659865  0.8908564  0.8555507  0.8361596  0.6749602
```

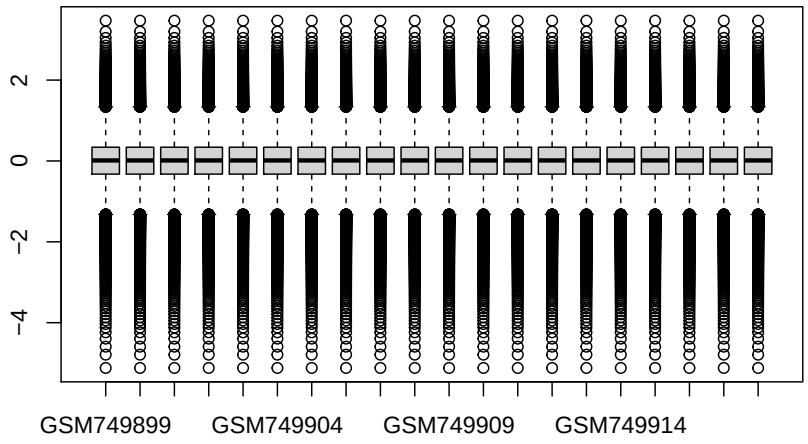
Gordugunuz gibi bu fonksiyon ne yazik ki satir sutun isimlerimizi sildi. Ama bunlarin ilk matrisimizle ayni oldugunu biliyoruz cunku bir subset islemi yapmadik. Eski satir-sutun isimlerimizi yeni matrisimize aktaralim:

```
dimnames(genexpr_qn) = dimnames(genexpr)
genexpr_qn[1:5,1:5]
```

```
##       GSM749899  GSM749900  GSM749901  GSM749902  GSM749903
## CTSD -0.4993920 -0.6776740 -0.7796459 -0.8040486 -0.8587960
## EEF2  1.0141904  0.8355595  0.6704056  0.5563232  0.2924776
## VIM   1.1413791  0.9140343  1.1026208  1.4685350  1.5103426
## GSN  -0.4112961 -0.5602207 -0.6620208 -0.5704519 -0.6015157
## RPN2  1.0659865  0.8908564  0.8555507  0.8361596  0.6749602
```

Tekrar dagilimlara bakacak olursak:

```
boxplot(genexpr_qn[,1:20])
```



Gordugunuz gibi dagilimlar birebir esit oldu. Bundan sonraki asamalarda bu veriyi kullanacagiz.

5.5 Ornek bilgisini duzenleme

Son olarak, bir de orneklerle ilgili bilgilerin yer aldigi (yas, biyolojik cinsiyet) bir tablomuz var. Ama bu verinin de duzenlenmesi gerekiyor.

```
metadata = read.csv('./data/metadata.csv')
head(metadata)
```

```
##           X    title geo_accession characteristics_ch1 characteristics_ch1.1
## 1 GSM749899 HB_18_34     GSM749899     array batch: 10     age: -0.498630137
## 2 GSM749900 HB_22_35     GSM749900     array batch: 18     age: -0.498630137
## 3 GSM749901 HB_16_29     GSM749901      array batch: 1     age: -0.498630137
## 4 GSM749902 HB_17_91     GSM749902      array batch: 8     age: -0.498630137
## 5 GSM749903 HB_18_16     GSM749903      array batch: 9     age: -0.479452055
## 6 GSM749904 HB_16_62     GSM749904      array batch: 3     age: -0.479452055
##   characteristics_ch1.2 characteristics_ch1.3        characteristics_ch1.4
## 1               Sex: F             race: AA postmortem interval (pmi): 3
## 2               Sex: F             race: AA postmortem interval (pmi): 1
## 3               Sex: M             race: AA postmortem interval (pmi): 1
## 4               Sex: M             race: AA postmortem interval (pmi): 4
## 5               Sex: M             race: AA postmortem interval (pmi): 2
## 6               Sex: M             race: AA postmortem interval (pmi): 4
##   characteristics_ch1.5          characteristics_ch1.6   characteristics_ch1.7
## 1             ph: NULL rna integrity number (rin): 9.7      smoke at death: No
## 2             ph: 6.21 rna integrity number (rin): 9.8      smoke at death: No
## 3             ph: NULL rna integrity number (rin): 9.6      smoke at death: No
## 4             ph: NULL rna integrity number (rin): 9.8      smoke at death: No
## 5             ph: NULL   rna integrity number (rin): 9 smoke at death: Unknown
## 6             ph: NULL rna integrity number (rin): 9.8      smoke at death: No
```

Bu veriyi kullanarak, ayni probeset-gen eslestirmesi icin yaptigimiz gibi yas ve biyolojik cinsiyet icin birey bilgisi vektoru olusturalim:

```
yas = setNames(metadata$characteristics_ch1.1, metadata$geo_accession)
head(yas)
```

```
##           GSM749899           GSM749900           GSM749901           GSM749902
## "age: -0.498630137" "age: -0.498630137" "age: -0.498630137" "age: -0.498630137"
##           GSM749903           GSM749904
## "age: -0.479452055" "age: -0.479452055"
```

```
class(yas)
```

```
## [1] "character"
```

```
cinsiyet = setNames(metadata$characteristics_ch1.2, metadata$geo_accession)
head(cinsiyet)
```

```
## GSM749899 GSM749900 GSM749901 GSM749902 GSM749903 GSM749904
##  "Sex: F"  "Sex: F"  "Sex: M"  "Sex: M"  "Sex: M"  "Sex: M"
```

```
class(cinsiyet)
```

```
## [1] "character"
```

Bu veriler gordugunuz gibi karakter verileri ve formatlari pek iyi degil. Ornegin bu yas verisiyle yapabileceklerimiz sinirli cunku numerik degil. Ilk olarak basta yazan 'age:' kismindan kurtulmamiz lazim ki bu yas verisini kullanabilelim. Ayni sekilde biyolojik cinsiyeti de 'F' veya 'M' haline, hatta daha iyisi 'kadin' ve 'erkek' haline getirelim.

5.5.1 Yas verisinin duzenlenmesi

Basta yazan 'age:' yazisinin ortadan kaldirilmasi icin bir kac secenek var. Bunlardan en basiti `gsub` fonksiyonu. Bu fonksiyon, bir karakter vektorunde belli karakterlerin degistirilmesini saglar:

```
gsub('range','','Bioinforange')
```

```
## [1] "Bioinfo"
```

```
gsub('range','conference','Bioinforange')
```

```
## [1] "Bioinfoconference"
```

Bu sekilde 'age:' yazisini silebiliriz:

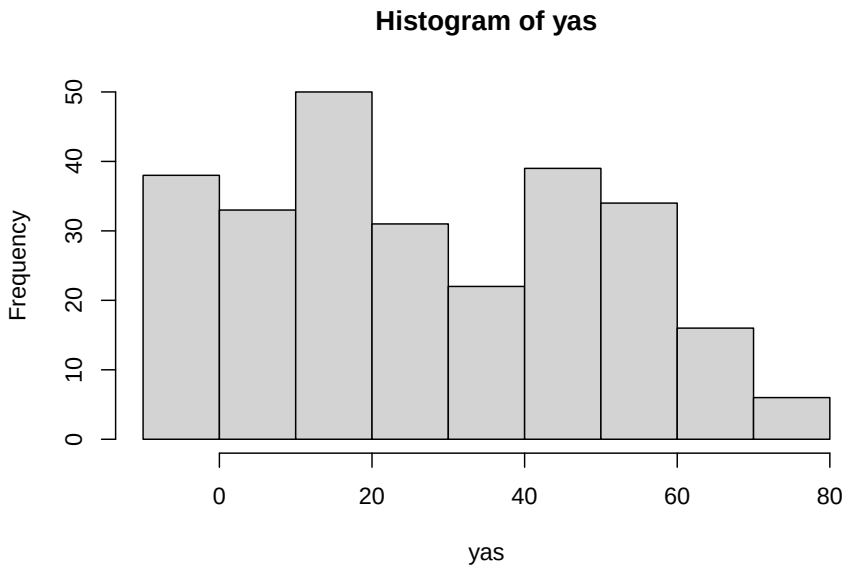
```
yas = gsub('age: ','',yas)
head(yas)
```

```
##      GSM749899      GSM749900      GSM749901      GSM749902      GSM749903
## "-0.498630137" "-0.498630137" "-0.498630137" "-0.498630137" "-0.479452055"
##      GSM749904
## "-0.479452055"
```

Ancak gordugunuz gibi, veri hala karakter. Bunu numerik yapmak icin `as.numeric()` kullaniriz:

```
yas = setNames(as.numeric(yas),names(yas))
```

```
hist(yas)
```



Daha net bir sekilde verinin ozetini gormek istersek `summary()` fonksiyonunu kullanabiliriz:

```
summary(yas)
```

```
##    Min. 1st Qu.  Median    Mean 3rd Qu.    Max.
## -0.4986  5.3452 24.2658 27.7920 46.9671 78.2274
```

Dogum oncesi zamandan 78 yasina kadar bireyler var ve ortalamamiz 27.7.

5.5.2 Biyolojik cinsiyet verisinin duzenlenmesi

Bu sefer sadece 2 biyolojik cinsiyet mumkun oldugundan daha farkli bir yol izleyebiliriz. Ama oncelikle, sadece iki secenek oldugundan emin olalim.

```
unique(cinsiyet)
```

```
## [1] "Sex: F" "Sex: M" "Sex: 5"
```

Bir de '5' var, bu muhtemelen veri girisinde bir hata demek ama bu bireyi en azindan cinsiyet icin inceleyemeyecegimiz anlamina geliyor. Ilk olarak bu veriye sahip olan bireyi hem bu veriden hem expression verisinden hem de yas verisinden cikaralim.

```
cikart = names(cinsiyet[(cinsiyet %in% 'Sex: 5')])
cinsiyet = cinsiyet[!names(cinsiyet) %in% cikart]
yas = yas[!names(yas) %in% cikart]
genexpr_qn = genexpr_qn[,!colnames(genexpr_qn) %in% cikart]
```

Ayni probeset-gen eslesmesi yapmak icin kullandigimiz gibi bir vektor olusturalim:

```
cinsiyetMap = setNames(c('Kadin','Erkek'),c('Sex: F','Sex: M'))
cinsiyet = setNames(cinsiyetMap[cinsiyet],names(cinsiyet))
head(cinsiyet)
```

```
## GSM749899 GSM749900 GSM749901 GSM749902 GSM749903 GSM749904
##   "Kadin"   "Kadin"   "Erkek"   "Erkek"   "Erkek"   "Erkek"
```

Kac kadin kac erkek bireyin olduguna bakmak icin `table()` fonksiyonunu kullanabiliriz:

```
table(cinsiyet)
```

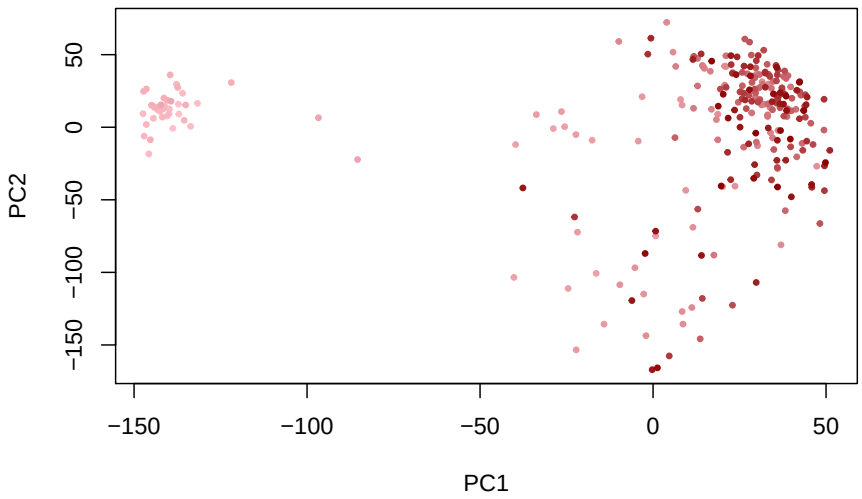
```
## cinsiyet
## Erkek Kadin
##   177    91
```

Chapter 6

Temel bilesenler analizi

```
tba = prcomp(t(genexpr_qn), scale. = T)
```

```
renkler = colorRampPalette(c('pink','darkred'))(length(yas))
renkler_sirali = renkler[rank(yas[rownames(tba$x)], ties.method = 'min')]
plot(x = tba$x[,1], y = tba$x[,2], pch = 19, cex = 0.5, col = renkler_sirali,
     xlab = 'PC1', ylab = 'PC2')
```



Chapter 7

Yasla degisim analizi

Diyelim ki sadece dogum sonrasi donemde 20 sonrasi yasta yasla degisen genlerle ilgileniyoruz. Bunun icin ilk olarak veriyi subset etmeliyiz. Yas'in 20den buyuk oldugu bireyleri almaliyiz:

```
subsamp = names(which(yas>=20))
subexp = genexpr_qn[,subsamp]
subyas = yas[subsamp]
```

```
yasladegisim = apply(subexp, 1, function(x){
  co = cor.test(x, subyas[colnames(subexp)], method = 'spearman')
  c(co$est, co$p.val)
})
```

```
dim(yasladegisim)
```

```
## [1]     2 17160
```

```
yasladegisim = t(yasladegisim)
head(yasladegisim)
```

```
##                rho
## CTSD   -0.03253336 0.6956624723
## EEF2   -0.12309924 0.1374343793
## VIM     0.28300932 0.0005395356
## GSN     0.11697104 0.1581010511
## RPN2   -0.22977129 0.0052073498
## POLR2A  0.01173037 0.8878589579
```

```
colnames(yasladegisim) = c('rho','p')
yasladegisim = cbind(yasladegisim, p.adjust(yasladegisim[,'p'], method= 'fdr'))
```

Hangi genler yasla istatistiksel olarak anlamli degisim gosteriyor?

```
anlamli = names(which(yasladegisim[,3]<=0.05))
table(yasladegisim[rownames(yasladegisim)%in%anlamli,1]>=0)
```

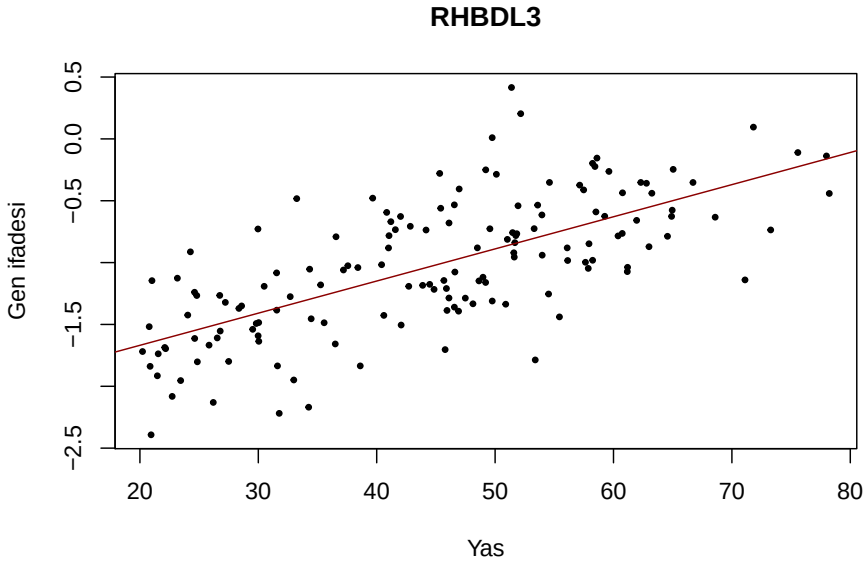
```
##
## FALSE  TRUE
##  1538  1418
```

Bunlardan 1419 tanesi artis yonunde anlamli degisim gosteriyor, 1538 tanesi ise dusus. Bunlardan en cok artis gostereni secip gorsellestirelim:

```
maxartis = names(which.max(yasladegisim[,1]))
yasladegisim[maxartis,]
```

```
##          rho            p
## 6.980232e-01 8.761466e-23 1.002312e-19
```

```
plot(x = subyas, y = subexp[maxartis,], pch = 19, cex = 0.5, xlab='Yas',
     ylab = 'Gen ifadesi', main = maxartis)
abline(lm(subexp[maxartis,]~subyas), col = 'darkred',cex = 2)
```



```
pdf('./yasladegisim.pdf')
plot(x = subyas, y = subexp[maxartis,], pch = 19, cex = 0.5, xlab='Yas',
     ylab = 'Gen ifadesi', main = maxartis)
abline(lm(subexp[maxartis,]~subyas), col = 'darkred',cex = 2)
dev.off()
```

```
## pdf
##   2
```

```
write.csv(x = yasladegisim, file = './yasladegisim.csv',quote = F,
          row.names = T)
```

Chapter 8

Biyolojik cinsiyete gore farklilik gosteren gen analizi

Diyelim ki sadece dogum sonrasi donemde 20 sonrasi ve 40 yas oncesi yasta kadin ve erkekler arasinda farkli gen ifadesi gosteren genlerle ilgileniyoruz.

```
subsamp = names(which(yas>=20 & yas<40))
subexp = genexpr_qn[,subsamp]
subyas = yas[subsamp]
subcins = cinsiyet[subsamp]
table(subcins)
```

```
## subcins
## Erkek Kadin
##    41    12
```

Kadin ve erkek sayisindaki fark cok fazla. Hem erkek hem de kadinlarin icinden rastegele 10ar birey secip analiz yapalim (- rastgele secim yapmayi gostermek icin!).

```
erkek = sample(names(which(subcins == 'Erkek')),10,replace = F)
kadin = sample(names(which(subcins == 'Kadin')),10,replace = F)
subsamp = c(erkek,kadin)
subexp = genexpr_qn[,subsamp]
subyas = yas[subsamp]
subcins = cinsiyet[subsamp]
table(subcins)
```

```
## subcins
```

```
## Erkek Kadin
##    10    10
```

```
cinsiyetfark = apply(subexp, 1, function(x){
  tres = t.test(x~subcins)
  c(tres$statistic, tres$p.value)
})
```

```
dim(cinsiyetfark)
```

```
## [1]     2 17160
```

```
cinsiyetfark = t(cinsiyetfark)
head(cinsiyetfark)
```

```
##                  t
## CTSD   -0.79374171 0.4378954
## EEF2    0.30360979 0.7651888
## VIM    -0.13151477 0.8968374
## GSN     0.06478236 0.9490770
## RPN2    0.26329298 0.7957976
## POLR2A  0.41606459 0.6825590
```

```
colnames(cinsiyetfark) = c('t','p')
cinsiyetfark = cbind(cinsiyetfark,p.adjust(cinsiyetfark[,'p'],method= 'fdr'))
```

Hangi genler yasla istatistiksel olarak anlamli degisim gosteriyor?

```
anlamli = names(which(cinsiyetfark[,3]<=0.05))
length(anlamli)
```

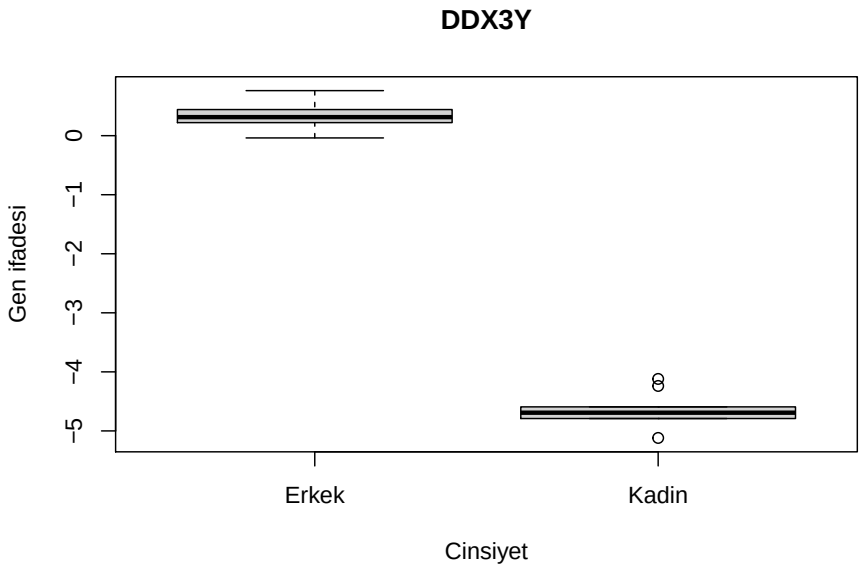
```
## [1] 12
```

Sadece 12 gen anlamli fark gostermis.

```
maxfark = names(which.max(abs(cinsiyetfark[,1])))
cinsiyetfark[maxfark,]
```

```
##            t            p
## 4.350552e+01 1.584095e-18 2.718308e-14
```

```
boxplot(subexp[maxfark,]~subcins, ylab = 'Gen ifadesi', main = maxfark,
        xlab = 'Cinsiyet')
```



Figur kaydetmek:

```
pdf('./cinsiyetfark.pdf')
boxplot(subexp[maxfark,]~subcins, ylab = 'Gen ifadesi', main = maxfark,
        xlab = 'Cinsiyet')
dev.off()
```

```
## pdf
##   2
```