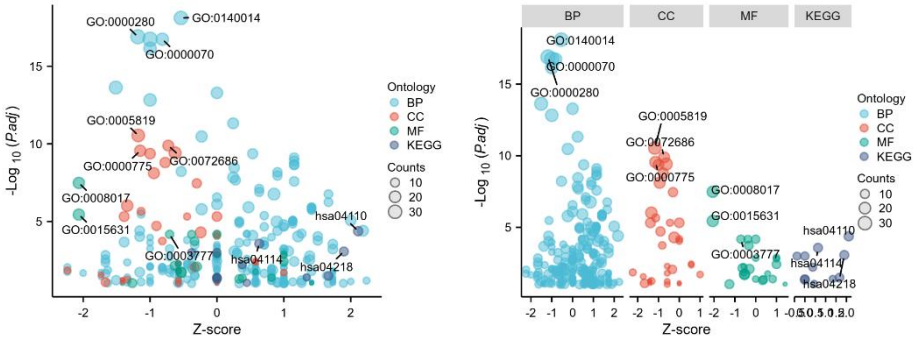
# 功能聚类 - GOKEGG 联合 FC 气泡图




网址：https://www.xiantao.love

更新时间：2023.02.13

目录

# 基本概念

- 富集分析：简单而言，就是取一部分有功能注释的分子与所有有功能注释的分子去比较（超几何分布检验），确定这一部分分子中都涉及了哪些功能作用。注意：单独几个分子做富集分析意义并不大。
- GO（Gene Ontology，基因本体）数据库：把基因的功能分成了三类：生物过程（biological process, BP）、细胞组分（cellular component, CC）、分子功能（molecular function, MF）。利用 GO 数据库，可以得到目标基因在 CC, MF 和 BP 三个层面上有什么关联。
- KEGG（Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes）数据库：一种通路数据库，收集了很多通路相关的数据库。通路数据库还包括 wikipathway，reactome 等。
- 超几何分布检验：超几何分布（hypergeometric）是统计学上一种离散概率分布。它描述了在 N 个物件中指定 M 个种类的物件，不放回的抽取 n 个，成功抽中指定类型物件的个数（k）的事件。
- 富集分析联合 logFC：就是在富集分析的基础上，利用提供的分子的 logFC，计算每个条目对应的 zscore，初步判断对应的条目是正调节（zscore 为正）还是负调节（zscore 为负）。zscore 计算方法见下：

$$zscore = \frac{(Up - Down)}{\sqrt{Counts}}$$

  - 其中，这里的 Up Down 代表对应条目分子的 logFC 为正以及为负分别对应数量，Counts 代表条目对应的分子总数（这里不是指 Z-score 标准化，是 GOplot 包所使用的概念和提供的方法）

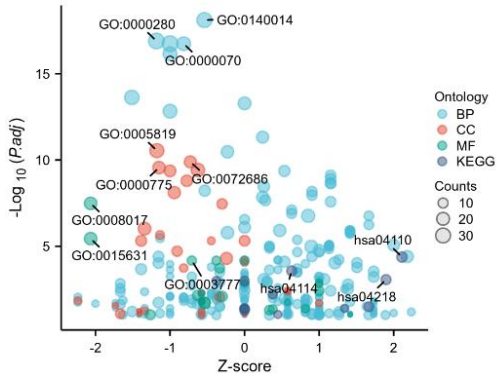
（注意：相对于 GOKEGG 富集分析模块，这个模块只是在同样的富集方法的基础上，另外再计算了每个条目对应的 zscore 值）

# 应用场景

本模块为【 GO|KEGG 联合 FC 】富集分析后结果的可视化展示。

注意：模块需要先进行【 GO|KEGG 联合 FC 】富集分析并 保存结果后，此处的云端数据才会有结果记录，然后才能进行可视化的操作。主要基本参数中有 ID 列表 输入框，可以将对应云端数据记录的富集分析表格中的感兴趣的 ID 列复制到此处，进行可视化。

# 主要结果




通过气泡图展示 GOKEGG 联合 FC 富集分析的所有结果，可以通过参数设置需要标注的 ID 号。

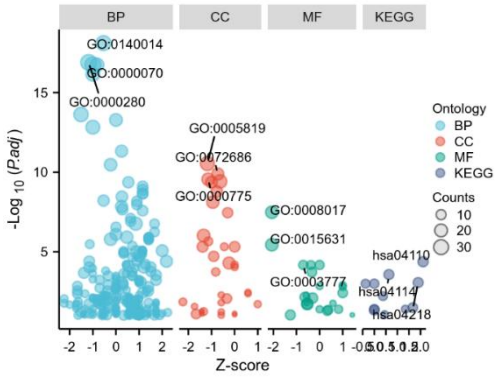
- 图中展示的是富集得到的所有的结果。点的颜色为所选择的 颜色映射 内容。（如上图，对应类别(Ontology)，注意有分面参数）
- 图中点的大小为所选择的 大小映射 内容。（如上图，对应类目包含 ID 的数量 ）
- 横坐标（x 轴）为 zscore 值：
  - zscore 的计算方法来自 GOplot 包，计算方法见下：

$$zscore = \frac{(Up - Down)}{\sqrt{Counts}}$$

其中，这里的 Up Down 代表对应条目分子的 logFC 为正以及为负分别对应数量，Counts 代表条目对应的分子总数。

  - 如果 zscore 为正，说明对应的条目可能是正调节，如果为负，对应条目可能是负调节；绝对值越大，说明高表达分子和低表达分子的数量差相对比较大，说明调节程度可能更高。
  - 注意，zscore 仅仅只能作为一种可能性参考，因为计算的方法中，是没有考虑条目内的分子对这个条目是正调节还是负调节（GOKEGG 库里面也并没有记录每个条目每个分子是对这个条目是正还是负调节的数据信息，这个是没有办法合并进去计算的）

- 纵坐标为所选择的 y 轴映射 内容（如上图，对应类目的校正后 p 值(padj) ）。
  - 注意统计检验值均做 -log10(value) 处理（如果值越大说明对应 ID 的可靠性越高，p 值越小）
- 分面示例，由分面中 分面映射 参数决定，可以按照 类别(Ontology) 进行分面：




默认标注各类别的 top 几个结果（默认 满足校正后 p 值<0.05），分面是对应的数据库或者分类。可以挑选在满足阈值下的 top 的类目，或者一些感兴趣的类目。

# 云端数据


这里的云端数据与历史记录汇总【 GOKEGG 联合 FC 】富集分析模块的数据记录是保持一致的，可以在历史记录中找到相应的数据记录。

根据需要可视化的项目 选择好对应的云端数据记录。默认使用最近生成的分析记录。

# 参数说明

（说明：标注了颜色的为常用参数。）

## ID 列表


- 标注 ID：想要在图中进行标注的条目 ID 号，默认为对应云端数据结果中每个类目的前几个条目，可以根据需要进行输入修改。注意：输入的 ID 来自所选云端数据记录的结果，需要先在历史记录中找到对应的记录，下载 excel 结果，复制想要展示的 ID 到这个输入框中，一行代表一个。最多支持 1 张图同时绘制 20 个类目。

# 样式


- ID 展示：ID 名称过长时，可以根据需要选择换行模式。可选择 ID 号、全名(自动换行)、全名(一行 20 长度)、全名(一行 30 长度)、全名(一行 40 长度)、全名(一行 50 长度)、全名(一行 60 长度)、全名(一行 70 长度)、全名(一行 80 长度)、全名(不换行)。
- y 轴映射：主要影响 y 轴的取值，具体数值可以通过**历史记录**中找到对应的记录，下载 excel 结果查看。可选择 基因比例(GeneRatio)、p 值(pvalue)、校正后 p 值(padj)、q 值(qvalue)(错误率)、包含 ID 的数量。
- 颜色映射：主要影响点的颜色范围，注意映射内容的数值类型，数值型数据为渐变色，分类型数据为单个颜色。可选择 zscore 值、p 值(pvalue)、校正后 p 值(padj)、q 值(qvalue)(错误率)、类别(Ontology)、无。
- 大小映射：主要影响点的大小，可选择 包含 ID 的数量、无。
- 形状映射：主要影响点的形状，可选择 类别(Ontology)、无。

## 点


- 填充色：点的填充色颜色选项，取决于 颜色映射 参数所选择的内容，展示数值型内容时，修改第一和第二色卡作为数值从小到大的渐变色；展示分类型内容（如 类别）时，有多少个功能类别会提取多少个颜色，最多支持修改 4 个颜色。受配色方案全局性修改。
- 描边色：点的描边色颜色选项，取决于 颜色映射 参数所选择的内容，展示数值型内容时，修改第一和第二色卡作为数值从小到大的渐变色；展示分类型内容（如 类别）时，有多少个功能类别会提取多少个颜色，最多支持修改 4 个颜色。受配色方案全局性修改。
- 样式：点的样式类型，取决于 形状映射 参数所选择的内容，可选择 圆形、正方形、菱形、三角形、倒三角，多选后不同的分组中点的类型也会有不同。
- 大小比例：点的相对大小，取决于 大小映射 参数所选择的内容。
- 不透明度：点的透明度。0 为完全透明，1 为完全不透明。

## 标注


- 文字不重叠：是否文字强制不重叠
- 标注大小：标注的字体大小

## 分面


- 分面映射：主要影响图形的分面展示，默认 不映射，可以按照类别（对应的数据库或者分类）分面。可选择 类别(Ontology)、不映射。
- 分面方向：按照什么方式排列分面。可选择 按列、按行。
- 分面颜色：分面的标题背景色颜色选项，当 分面映射 参数为类别时，有多少个功能类别会提取多少个颜色，最多支持修改 4 个颜色。默认灰色，不受配色方案全局性修改。

- 文字大小：分面标题的文字大小。

## 标题

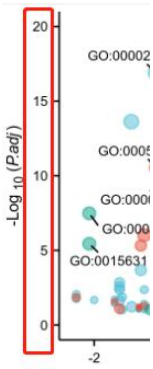

- 大标题：大标题文本
- x 轴标题：x 轴标题文本
- y 轴标题：y 轴标题文本
- 补充：在要换行的中间插入\n。如果需要上标，可以用两个英文输入法下的大括号括住，比如 {{2}}；如果需要下标，可以用两个英文输入法下的中括号括住，比如 [[2]]。

## 图注(Legend)

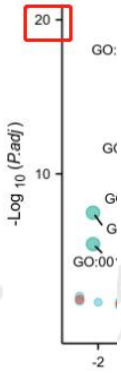

- 是否展示：是否展示图注
- 图注标题：可以添加图注标题
- 图注位置：可选择 默认、右、上、下。

## 坐标轴

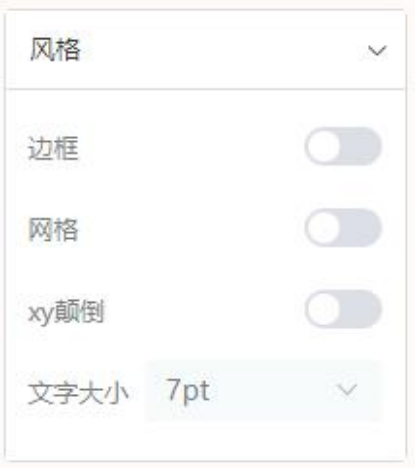

- x 轴标注旋转：支持对 x 轴文字进行旋转。适合于 x 轴文字过长的时候。（注意无论是否进行 xy 颠倒，均修改图形横坐标）
- 主要图对应的 y 轴范围+刻度:(注意:范围的修改如果超过原本值范围的 20%会失效)
  - 如果只是想要修改范围，可以只输入两个范围值，比如 0,20




- 如果同时想要修改范围+刻度，可以输入比如：0,10,20,20。注意，此时最大和最小值会被当做范围值，不会作为刻度，如果需要刻度，需要类似于 20 那样同时写两次。




## 风格



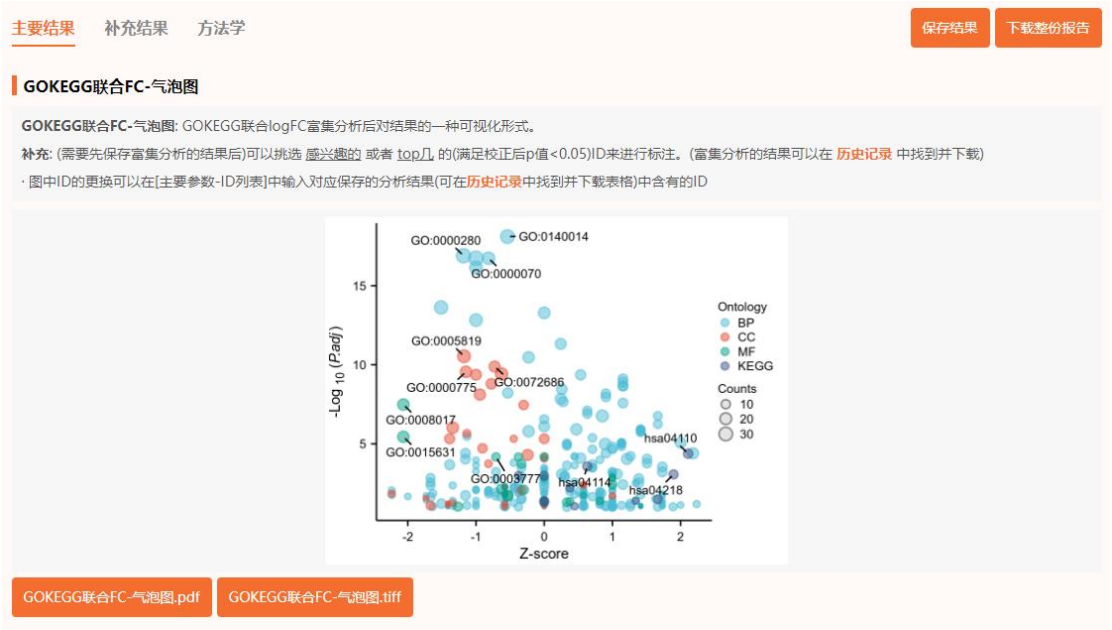
- 外框：是否添加外框
- 网格：是否添加网格
- xy 颠倒：可以颠倒 xy 轴
- 文字大小：针对图中所有文字整体的大小控制

## 图片


- 宽度：图片横向长度，单位为 cm
- 高度：图片纵向长度，单位为 cm
- 字体：可以选择图片中文字的字体

# 结果说明

## 主要结果




主要结果格式为图片格式，提供 PDF、TIFF 和 PPTX 格式下载，结果报告可以下载包括 pdf 以及说明文本的内容。

# 补充结果

可视化ID

当前模块可视化所选ID

| ONTOLOGY | ID | Description | GeneRatio | BgRatio | pvalue | p.adjust | qvalue | geneID |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| BP | GO:0140014 | mitotic nuclear division | 31/197 | 293/18800 | 2.61e-22 | 7.82e-19 | 6.71e-19 | BMP4/CCNB1/CDC20/... |
| BP | GO:0000280 | nuclear division | 35/197 | 446/18800 | 8.47e-21 | 1.27e-17 | 1.09e-17 | BMP4/CCNB1/CDC20/... |
| BP | GO:0000070 | mitotic sister chromatid se... | 24/197 | 171/18800 | 2.26e-20 | 1.83e-17 | 1.57e-17 | CCNB1/CDC20/CENPE... |
| CC | GO:0005819 | spindle | 26/203 | 402/19594 | 9.72e-14 | 2.88e-11 | 2.53e-11 | BIRC5/CCNB1/CDK1/... |
| CC | GO:0072686 | mitotic spindle | 17/203 | 160/19594 | 8.73e-13 | 1.29e-10 | 1.14e-10 | CDK1/CENPE/KIF11/... |
| CC | GO:0000775 | chromosome, centromeric r... | 19/203 | 227/19594 | 2.81e-12 | 2.77e-10 | 2.44e-10 | BIRC5/CCNB1/CENPE... |
| MF | GO:0008017 | microtubule binding | 19/192 | 272/18410 | 7.14e-11 | 3.28e-08 | 3e-08 | BIRC5/CENPE/KIF11... |
| MF | GO:0015631 | tubulin binding | 19/192 | 376/18410 | 1.57e-08 | 3.6e-06 | 3.3e-06 | BIRC5/CENPE/KIF11... |
| MF | GO:0003777 | microtubule motor activity | 8/192 | 67/18410 | 4.66e-07 | 6.74e-05 | 6.18e-05 | CENPE/KIF11/KIFC1... |
| KEGG | hsa04110 | Cell cycle | 11/95 | 126/8164 | 1.99e-07 | 4.18e-05 | 3.98e-05 | CCNA2/CCNB1/CDK1/... |
| KEGG | hsa04114 | Oocyte meiosis | 10/95 | 131/8164 | 2.55e-06 | 0.0003 | 0.0003 | CCNB1/CDK1/CDC20/... |
| KEGG | hsa04218 | Cellular senescence | 10/95 | 156/8164 | 1.22e-05 | 0.0009 | 0.0008 | CACNA1D/CCNA2/CCN... |

GOKEGG可视化ID.xlsx　GOKEGG可视化ID.docx

此表格提供当前可视化的 GOKEGG 联合 FC 富集分析结果，提供 Excel、Docx 格式下载。

## 方法学

所有分析和可视化均在 R 4.2.1 中进行

涉及的 R 包：ggplot2 包（用于可视化）

处理过程：使用 ggplot2 包对富集分析结果进行可视化。

# 如何引用

生信工具分析和可视化用的是 R 语言，可以直接写自己用 R 来进行分析和可视化即可，可以无需引用仙桃，如果想要引用仙桃，可以在致谢部分（Acknowledge）致谢仙桃学术（www.xiantao.love）。

方法学部分可以参考对应说明文本中的内容以及一些文献中的描述。

# 常见问题

## 1. 图中标注的 ID 能否更换别的 ID？可视化结果的 ID 从哪里获得？

答：

在“ID 列表”选项卡中，有标注 ID 的输入框：


选项框内**默认**选择对应云端记录结果中前几个条目，可以在此处选择想要标注的 ID。


注意：输入的 ID 来自所选云端数据记录的结果，需要先在历史记录中找到对应的记录，下载 excel 结果，复制想要标注的 ID 到这个输入框中，一行代表一个。最多同时支持 20 个。GOKEGG 联合 FC 气泡图展示的是所有的富集结果，需要标注的 ID 通过输入框修改。

| | A | B | C | D |
|---|---|---|---|---|
| 1 | ONTOLOGY | ID | Description | GeneRatio |
| 2 | BP | GO:0140014 | mitotic nucle | 31/197 |
| 3 | BP | GO:0000280 | nuclear divis | 35/197 |
| 4 | BP | GO:0000070 | mitotic siste | 24/197 |
| 5 | BP | GO:0048285 | organelle fiss | 36/197 |
| 6 | BP | GO:0000819 | sister chrom | 25/197 |
| 7 | BP | GO:0007059 | chromosome | 28/197 |
| 8 | BP | GO:1902850 | microtubule | 20/197 |
| 9 | BP | GO:0098813 | nuclear chro | 25/197 |
| 10 | BP | GO:0007052 | mitotic spinc | 17/197 |
| 11 | BP | GO:0007051 | spindle orga | 19/197 |


**2. 为什么出来的图中少了 KEGG（或者 BP 或者 CC 或者 MF），明明已经选了 GO+KEGG？（为什么出来的图里面某个分类只有 1 个或者没有？）**

答：

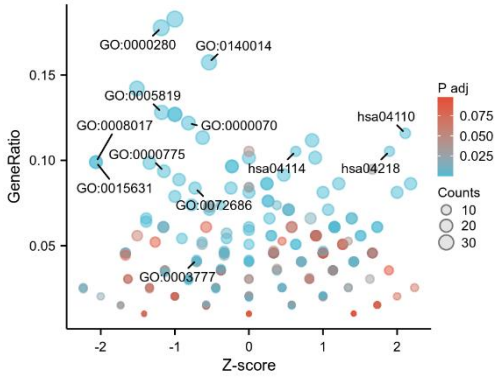
GOKEGG 可视化模块仅仅只是对已经完成 GOKEGG 富集分析的数据进行可视化，如果对应保存的数据中就不存在某些类（没有富集出来某些类），可视化是不可能会有这些类的。而在 GOKEGG 富集分析模块中，最终的结果表格只保留了满足较宽的阈值（p<0.1 以及 qvalue<0.2）的结果，而不满足这一较宽阈值下的条目都会被过滤，如果整个类（BP、CC、MF、KEGG）都不满足这个阈值，那么最终的表格中就会缺少这个类。

可以先检查 GOKEGG 富集分析的结果，在历史记录中找到保存的记录：

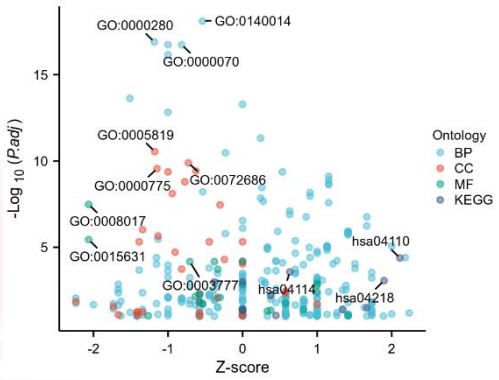

**3. 如何修改展示的数据？**

答：

可以通过样式中的 y 轴映射 、 颜色映射 和 大小映射 参数，下拉框选择 GOKEGG 富集分析结果中不同的结果指标进行展示。




上图：y 轴映射 - 基因比例(GeneRatio)，颜色映射 - 校正后 p 值(padj)




上图：大小映射 - 无

**4. 结果中 zscore 是什么，这个值能说明什么？**

答：

zscore 的计算方法来自 GOplot 包，计算方法见下：

$$zscore = \frac{(\text{Up} - \text{Down})}{\sqrt{\text{Counts}}}$$

其中，这里的 Up Down 代表对应条目分子的 logFC 为正以及为负分别对应数量，Counts 代表条目对应的分子总数。

如果 zscore 为正，说明对应的条目可能是正调节，如果为负，对应条目可能是负调节；绝对值越大，说明高表达分子和低表达分子的数量差相对比较大，说明调节程度可能更高。

注意，GOplot 提供的计算 zscore 方法是没有考虑分子在对应的条目里面是对这个条目正调节还是负调节的，也就存在如果有低表达的负调节的分子，在 zscore 里面是记为 down，但是因为负负得正，应该是对这个条目正调节，记为正才合理。GOplot 就只是提供了这个计算方法，而且 GOKEGG 库里面也并没有记录每个条目每个分子是对这个条目是正还是负调节的数据信息，尚且都还达不到这个粒度，所以这个 zscore 仅仅只能作为一种可能性参考。

**5. 能否上传自己的富集数据进行可视化?**

答：

自己的富集分析的结果可以上传到基础绘图点图模块进行可视化。