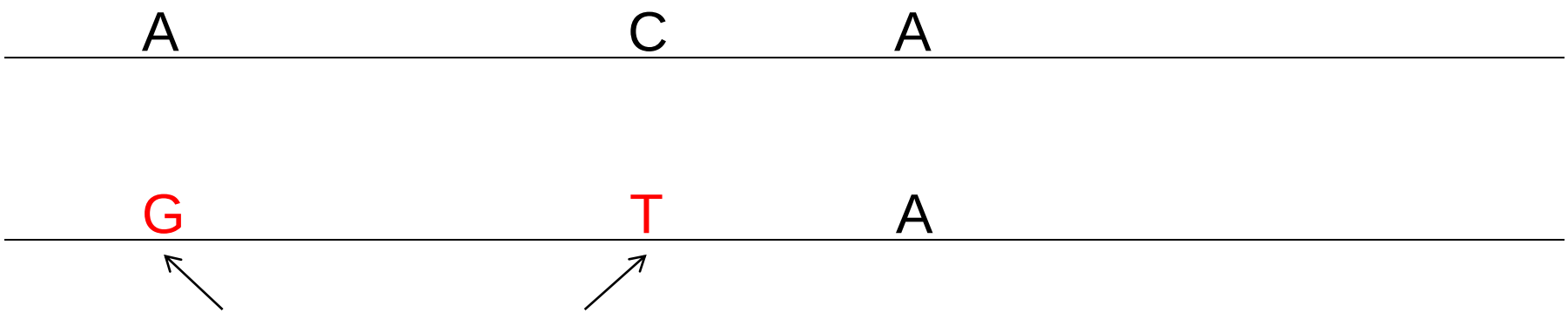
Занятие 4
if, for, apply, merge
тесты ассоциации

12 марта 2014

Артем Артемов

Биологическая задача

- Найти аллельные варианты, которые отличают популяцию европейцев и африканцев
- Для каждого человека можем узнать:
  - К какой расе принадлежит?
  - Присутствует ли данный аллельный вариант* в данном месте последовательности ДНК?

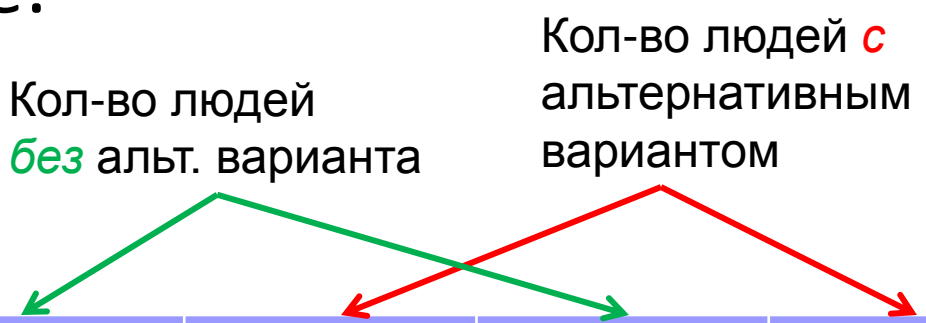


*в гетеро- или гомозиготном состоянии

Биологическая задача

- Задача: какие генетические варианты (мутации) отличают популяцию европейцев и африканцев
- Исходные данные:

> variant_counts



Хромосома Координата

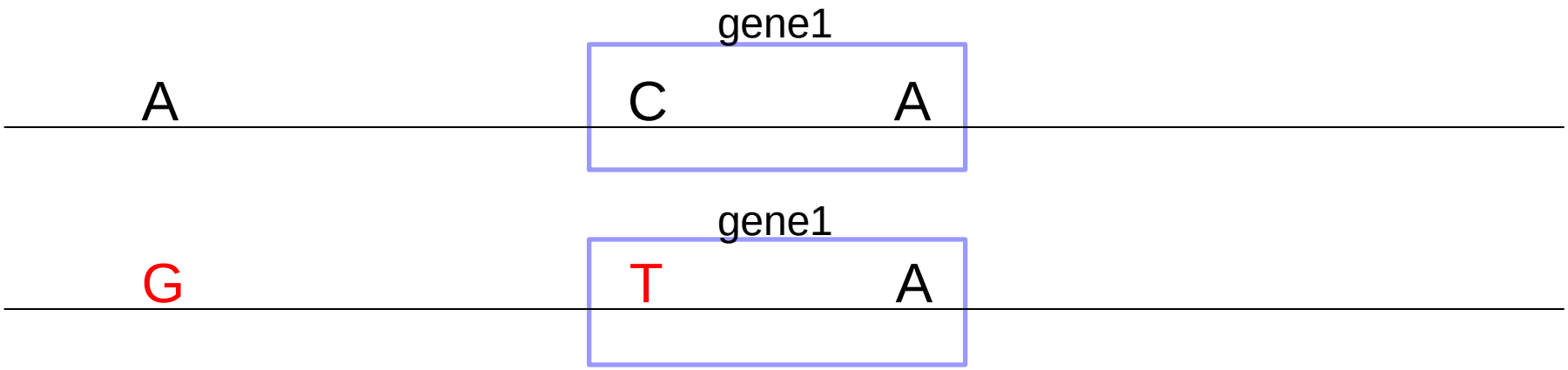
chr	pos	EA_ref	EA_alt	AA_ref	AA_alt
chr6	292452	4028	27	2089	12
chr6	292461	4100	1	2117	0
…					

variant_counts.csv

Европейцы **Африканцы**

Биологическая задача

- Второй шаг – понять, в каких генах эти расположены наиболее значимые мутации



>variant_genes

Хромосома	Координата	Гены
chr	**pos**	**genes**
chr6	292452	DUSP22
chr6	292461	DUSP22
…		

variant_genes.csv

Что нужно для решения такой задачи?

- Какая нужна статистика?
  - Проверка гипотезы об ассоциации. Точный тест Фишера, Хи^2
- Как посчитать что-то для всех строк таблицы?
  - Условия и циклы (*if*, *for*)
  - Функции, применение их к элементам вектора, рядам и колонкам матрицы
- Как объединить две таблицы?
  - SQL-подобные операции с таблицами: merge, aggregate

Точный тест Фишера

Хи^2

ПРОВЕРКА ГИПОТЕЗЫ ОБ АССОЦИАЦИИ

Тесты ассоциации

У некоторых объектов есть два свойства, про которые, в простейшем случае, можно сазать «да» или «нет», например, больной – здоровый, носитель мутации – не носитель, курит – не курит. Связаны ли эти свойства?

Примеры задач:

- Ассоциирована ли определенная мутация с болезнью
- Верно ли, что на биофаке значимо большая доля девушек, чем на ВМК?

Тесты ассоциации. Мутация, ассоциированная с болезнью

```
> gwas=matrix(c(3324,1896,2676,2104), nrow=2, ncol=2)
> gwas
     [,1] [,2]
[1,] 3324 2676
[2,] 1896 2104
> colnames(gwas)=c("reference", "mutant")
> rownames(gwas)=c("Healthy", "Diseased")
> gwas
         reference mutant
Healthy       3324   2676
Diseased      1896   2104
```

Таблица сопряженности

Здоровый (контроль)

Больной

Носитель мутации*

Не-носитель мутации

* Пояснение «для биологов»: подразумеваем, например, что носитель мутации = носитель болезни (т.е. мутантный аллель - доминантный)

Тест Фишера и Хи^2

```
> fisher.test(gwas)

   Fisher's Exact Test for Count Data

data:  gwas
p-value = 4.874e-15
alternative hypothesis: true odds ratio is not equal to 1
95 percent confidence interval:
 1.271049 1.494857
sample estimates:
odds ratio
   1.378354

> chisq.test(gwas)

   Pearson's Chi-squared test with Yates' continuity correction

data:  gwas
X-squared = 61.239, df = 1, p-value = 5.055e-15
```

Тест Фишера и Хи^2

- Другой (иногда более удобный) способ – передавать не четырехпольные таблицы, а два логических вектора, соответствующие двум свойствам, между которыми ищем ассоциацию

```
> people=data.frame(mutant=c(T,F,F,F,T,T,F,T),
  diseased=c(T,F,F,F,F,T,T,T))
> fisher.test(people$mutant, people$diseased)
```

- Удобный способ получить 4-польную таблицу:

```
> xtabs(~ mutant + diseased, data=people)
        diseased
Mutant FALSE TRUE
 FALSE     3    1
  TRUE     1    3
```

Точный тест Фишера

	не мутант	мутант	ВСЕГО
здоровый	a	b	a+b
больной	c	d	c+d
ВСЕГО	a+c	b+d	n

Отношение рисков (odds ratio)

$$OR = \frac{P(\text{больной}|\text{мутант})}{P(\text{здоровый}|\text{мутант})} \Big/ \frac{P(\text{больной}|\text{не мутант})}{P(\text{здоровый}|\text{не мутант})} = \frac{d}{b} \Big/ \frac{c}{a} = \frac{da}{bc}$$

Точный тест Фишера (Fisher exact test):
Сколько способов разложить n независимых элементов по 4 ячейкам с данным количеством элементов? p-value – сумма вероятностей таблиц с не меньшим OR.

Тест Хи^2 (Chi-squared)

- Не рекомендуется использовать, если хотя бы в одной ячейке меньше 5-7 образцов
- **H0**: Предположение независимости. Например,

p(больной & мутант) = p(больной)*p(мутант)

Тест Хи^2:

Посчитаем значение в каждой ячейке в предположении независимости, это будет ожидаемое значение.

Далее по всем ячейкам суммируем

$$\chi^2 = \sum \frac{(O-E)^2}{E} \sim \chi^2_{\text{d.f.=(nrow-1)(ncol-1)}}$$

матрицы

списки

СТРУКТУРЫ ДАННЫХ (КОНТЕЙНЕРЫ)

Матрицы

- На вид трудно отличить от data frame
- «Двумерный вектор»
- Все элементы одного типа

Матрицы заполняются по колонкам:

```
> m <- matrix(c(1:6), nrow=2, ncol=3)
> m
     [,1] [,2] [,3]
[1,]    1    3    5
[2,]    2    4    6
```

Или по рядам (аргумент **byrow=T**)

```
> m <- matrix(c(1:6), nrow=2, ncol=3, byrow=T)
> m
     [,1] [,2] [,3]
[1,]    1    2    3
[2,]    4    5    6
```

```
> as.matrix(1:3)
     [,1]
[1,]    1
[2,]    2
[3,]    3
```

Матрицы

- Обращение к элементам – как в data frame

```
> m[2,3]
[1] 6
> m[2,]
[1] 2 4 6
> m[,3]
[1] 5 6
> m[2,3] = 1
```

```
> m
     [,1] [,2] [,3]
[1,]    1    3    5
[2,]    2    4    6
```

Матрицы

```
> m <- matrix(nrow=2, ncol=3)
> m
     [,1] [,2] [,3]
[1,]   NA   NA   NA
[2,]   NA   NA   NA
> dim(m)
[1] 2 3
> attributes(m)
$dim
[1] 2 3
```

Атрибут ***dim*** – размер матрицы
См. также nrow, ncol

Матрицы

Матрица – это вектор с атрибутом ***dim***

```
> v <- 1:6
> dim(v)
NULL
> dim(v) <- c(2,3)
> v
     [,1] [,2] [,3]
[1,]    1    3    5
[2,]    2    4    6
> is.matrix(v)
[1] TRUE
```

Матрицы

```
> a <- c(1:3)
> b <- c(11:13)
> cbind(a, b)  # “column bind”
     a  b
[1,] 1 11
[2,] 2 12
[3,] 3 13
> rbind(a, b)  # “row bind”
  [,1] [,2] [,3]
a    1    2    3
b   11   12   13
```

Матрицы

Присваивание имен столбцам и колонкам:

```
> m <- matrix(c(1:6), nrow=2, ncol=3)
> m
     [,1] [,2] [,3]
[1,]    1    3    5
[2,]    2    4    6
> rownames(m) <- c("r1","r2")
> colnames(m) <- c("c1","c2","c3")
> m
   c1 c2 c3
r1  1  3  5
r2  2  4  6
```

Списки

- Список, в отличие от вектора, может хранить элементы разного типа
  - В частности, элементом может быть список

```
> L = list("A", c(1,2), 30)
Сравните: > v=c(v, 4)
> L1 = list(L, 40)
#->list(list("A",c(1,2),30),40)
> L [[ 4 ]] = 4
> L [[ length( L ) + 1 ]] = 4
```

```
> L
[[1]]
[1] "A"
[[2]]
[1] 1 2
[[3]]
[1] 30
```

список из 3 элементов

Каждый элемент – вектор (в R 1 элемент – вектор из самого себя)

Списки

- Как достать элемент списка

```
> L [ 3 ] #-> список (из 1 элемента)
[[1]]
[1] 30

> L [[ 3 ]]
#элемент (= вектор из 1 элемента)
[1] 30
```

Правило: одинарные скобки [] возвращают элемент того же типа, что и контейнер

- Как достать элемент из списка списков?

```
> L=list(10,list(11,12,13), 20, list(30))
#L[[2]] - тоже список
> L[[2]][[3]]
[1] 13
```

Списки

Сравните с выдачей любого теста, например t.test

- Именованные элементы

```
> L=list(10,20)
> L$abc=123
> L
[[1]]
[1] 10
[[2]]
[1] 20
$abc
[1] 123
```

```
> names(L)
[1] "" "" "abc"
> L[[3]]
[1] 123

> L$abc=123
[1] 123
> L$abc
[1] 123
> L[["abc"]]
[1] 123
```

Повторение: векторы, списки, матрицы и data frames

	элементы одного типа	элементы разных типов
1D	**Вектор** >v = c(1,2,3) >v = c(v, 4) >v [2] #-> вектор (из 1 элемента)	**Список** > L = list(1,2,3) > L1 = list(L, 4) #-> list(list(1,2,3), 4) > L [[length(L) + 1]] = 4 > L [2] #-> список (из 1 элемента) > L [[2]] #элемент (=вектор из 1 элемента)
2D	**Матрица** “2D вектор” >m=matrix(c(1,2,3,4), nrow=2) >m[,1] #колонка матрицы - вектор >m[2,] #ряд матрицы – вектор	**data frame** “список векторов (разных типов)” >df=data.frame(name=c(“A”, “B”, “C”), grade=c(5,5,4)) >df[,1] #колонка d.f- вектор >df[1,] #ряд d.f- тоже data frame (как и d.f, является списком). Почему не вектор?
nD	**array** “n-мерный вектор”	

Условия и циклы

Функции и apply

«ПРОГРАММИРОВАНИЕ»

Цикл *for*

- Пример из домашнего задания.

```
N_iter=20
y=rep(NA, N_iter)
for(i in 1:N_iter){
  rands=rnorm(2^i)
  y[i]=max(rands)
}
plot(2^(1:N_iter), y, type="l")
```

Вектор (в данном случае от **1** до **N_iter**)
i проходит все элементы вектора
Для каждого ***i*** выполняется код в **{ }**

- Совет: многострочные исходные коды удобно сохранять в файл, читать и выполнять из R:

```
> source("my_program.R")
```

for. Пример для таблицы

```
> head(grades)
   id write math science socst
1  70    52   41      47    57
2 121    59   53      63    61
3  86    33   54      58    31
```

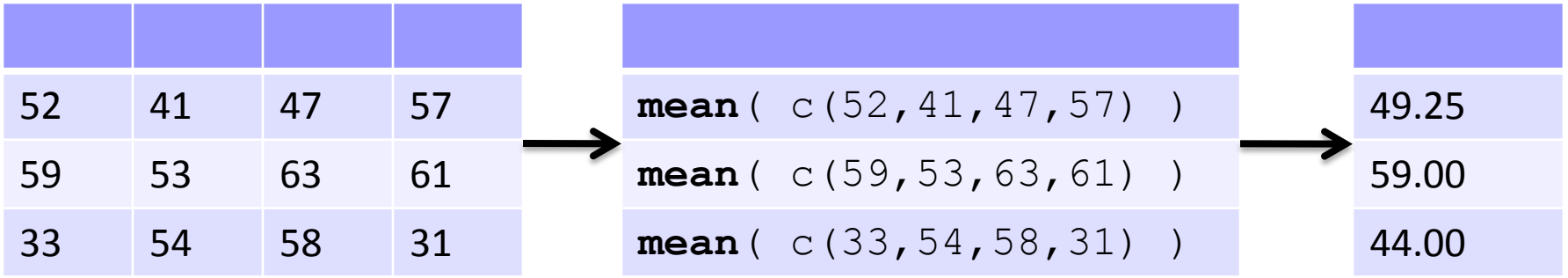
#посчитаем средний балл каждого студента и средний балл за каждый экзамен

```
> matrix_grades=as.matrix(grades[,2:ncol(grades)])

> meangrades=c()
> for(i in 1:nrow(grades)){
+     meangrades=c(meangrades, mean(matrix_grades[i,]))
+ }
> head(meangrades)
[1] 49.25 59.00 44.00 50.00 55.75 56.75
```

apply. Пример для таблицы

Применить функцию к каждому ряду или колонке data frame или элементу вектора.



Матрица или data frame

Функция

```
#средний балл каждого студента
> meangrades=apply(grades[,2:ncol(grades)], 1, mean)
> head(meangrades)
[1] 49.25 59.00 44.00 50.00 55.75 56.75
#средний балл по каждому экзамену
> examgrades=apply(grades[,2:ncol(grades)], 2, mean)
> head(examgrades)
  write    math science   socst
 52.775  52.645  51.850  52.405
```

Измерение (1-строки или 2-столбцы)

Функции – использование

- Имя функции со скобками – её вызов, в скобках аргументы. Функция может возвращать значение.


```
tt=t.test(a, b, paired=T)
```

- Имя функции без скобок можно использовать как имя переменной – посмотреть содержимое или передать как аргумент другой функции

```
> apply
function (X, MARGIN, FUN, ...) {
...
```

- Помимо стандартных функций (например, *mean, all, any*) можно передать *apply* свою функцию

Функции – создание

Создадим функцию, которая берет на вход вектор из 4 чисел, создает четырехпольную таблицу, выполняет тест Фишера или Хи^2

обычное присваивание

```
association.test <- function(v){
   m=matrix(v, nrow=2, ncol=2) #создаем матрицу
   res=fisher.test(m)
   return(res$p.value) ИЛИ res$p.value
}
```

Всегда возвращается последнее вычисленное значение, даже если не писать return

Функции – создание. *if* и аргумент по умолчанию

Значение по умолчанию

```
association.test <- function(v, test="fisher"){
   m=matrix(v, nrow=2, ncol=2) #создаем матрицу
   if ( test=="fisher" ){
        res=fisher.test(m)
   } else if( test== "chi2" ) {
        res=chisq.test(m)
   } else { return (NA) }
   return(res$p.value) ИЛИ res$p.value
}
```

условие

Другие разновидности *apply*

- Если на входе список (list), то
  `lapply, sapply`

```
> l=list(1, c(1,2,3), c(2,1))
> lapply(l, sum)
[[1]]
[1] 1
[[2]]
[1] 6
[[3]]
[1] 3
> sapply(l, sum)
[1] 1 6 3
```

#список, каждый элемент – результат работы функции

См. также `unlist`

#Пытается «упростить» список. В данном случае свёл к вектору

Другие разновидности *apply*

- Более содержательные пример – а пусть функция выдает не один элемент, а вектор из двух

```
> lapply(l, function(x){return(c(min(x), max(x)))})
[[1]]
[1] 1 1
[[2]]
[1] 1 3
[[3]]
[1] 1 2
```

min

max

```
> sapply(l, function(x){return(c(min(x), max(x)))})
     [,1] [,2] [,3]
[1,]    1    1    1
[2,]    1    3    2
```

min

max

#В данном случае «упростил» до матрицы

Вернемся к мутациям

- Уже можем посчитать для каждой позиции (строки в таблице) p-value ассоциации соответствующего варианта с расой

```
apply(___, ___, association.test, test="fisher")
```

- Подсказка: все аргументы, которые apply не распознала как свои, передаются вызываемой функции
- Осталось понять, каким генам соответствуют мутации (сделать из двух таблиц одну)

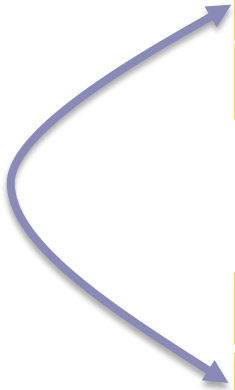
merge

aggregate, tapply

SQL-ПОДОБНЫЕ ОПЕРАЦИИ С ТАБЛИЦАМИ

merge

Студент	Факультет	Курс	Пол
Иванов			
Петров			



Студент	КР1	КР2	КР3
Иванов			
Сидоров			

Студент	Факультет	Курс	Пол	КР1	КР2	КР3
Иванов						

merge

- Пример: 2 таблицы
  - id -> оценки,
  - id -> метаданные студента
- Объединить таблицы в одну по идентификатору студента

```
> head(grades)
    id write math science socst
1   70    52   41      47    57
2  121    59   53      63    61
3   86    33   54      58    31
4  141    44   47      53    56
5  172    52   57      53    61
6  113    52   51      63    61
```

```
> head(metadata)
  id female race schtyp prog
1  1      1    1      1    3
2  2      1    1      1    3
3  3      0    1      1    2
4  4      1    1      1    2
5  5      0    1      1    2
6  6      1    1      1    2
```

merge

```
> meta_grades=merge(metadata, grades,
  by.x=c(1), by.y=c(1))
> head(meta_grades)
  id female race schtyp prog write math science socst
1  1      1    1      1    3    44   40      39    41
2  2      1    1      1    3    41   33      42    41
3  3      0    1      1    2    65   48      63    56
4  4      1    1      1    2    50   41      39    51
5  5      0    1      1    2    40   43      45    31
6  6      1    1      1    2    41   46      40    41
```

```
> meta_grades=merge(metadata,
  grades, by=c("id"))
> head(meta_grades)
  id female race schtyp prog write math science socst
1  1      1    1      1    3    44   40      39    41
2  2      1    1      1    3    41   33      42    41
3  3      0    1      1    2    65   48      63    56
4  4      1    1      1    2    50   41      39    51
5  5      0    1      1    2    40   43      45    31
6  6      1    1      1    2    41   46      40    41
```

```
> meta_grades=merge(metadata, grades,
  by=c("id"), all.x=F, all.y=T)
```

by может содержать несколько элементов

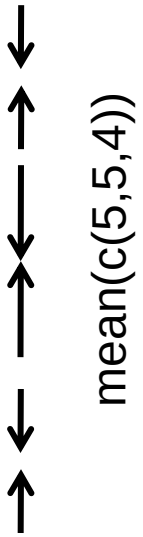
```
> head(grades)
  id write math science socst
1 70    52   41      47    57
2 121   59   53      63    61
3 86    33   54      58    31
4 141   44   47      53    56
5 172   52   57      53    61
6 113   52   51      63    61
> head(metadata)
  id female race schtyp prog
1  1      1    1      1    3
2  2      1    1      1    3
3  3      0    1      1    2
4  4      1    1      1    2
5  5      0    1      1    2
6  6      1    1      1    2
```

В итоговой табл – все эл-ты второй таблицы. Там, где не нашлось пары, заполняется NA

aggregate

- Объединение рядов с одинаковыми значениями определенных столбцов

id студента	Факультет	Оценка
1	ФББ	5
2	ФББ	4
3	ВМК	5
4	ВМК	5
5	ВМК	4
6	Биофак	5
7	Биофак	4



Group	Оценка
ФББ	4.5
ВМК	4.67
Биофак	4.5

aggregate

```
> mean_race=aggregate(meta_grades[,6:9],
  by=list(meta_grades$race), FUN=mean)
> mean_race
  Group.1    write     math  science    socst
1       1 46.45833 47.41667 45.37500 47.79167
2       2 58.00000 57.27273 51.45455 51.00000
3       3 48.20000 46.75000 42.80000 49.45000
4       4 54.05517 53.97241 54.20000 53.68276
> mean_gender=aggregate(meta_grades[,6:9],
  by=list(meta_grades$female), FUN=mean)
> mean_gender
  Group.1    write     math  science    socst
1       0 50.12088 52.94505 53.23077 51.79121
2       1 54.99083 52.39450 50.69725 52.91743
```

aggregate

```
> mean_gender_race=aggregate(meta_grades[,6:9],
  by=list(meta_grades$female,
  meta_grades$race), FUN=mean)
> mean_gender_race
  Group.1 Group.2    write     math  science    socst
1       0       1 44.38462 49.23077 45.53846 45.69231
2       1       1 48.90909 45.27273 45.18182 50.27273
3       0       2 55.66667 58.66667 53.00000 47.66667
4       1       2 58.87500 56.75000 50.87500 52.25000
5       0       3 47.00000 45.28571 46.71429 49.00000
6       1       3 48.84615 47.53846 40.69231 49.69231
7       0       4 51.29412 54.19118 55.38235 53.42647
8       1       4 56.49351 53.77922 53.15584 53.90909
```

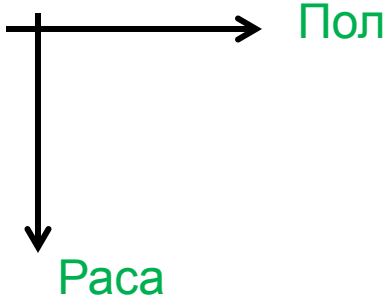
tapply

- Похожая идея, но для векторов
- На входе – **вектор** (а не таблица) и список (длины N) из векторов факторовов той же длины
- На выходе – N-мерный вектор

```
> mean_race=tapply(meta_grades$math, list(meta_grades$race), FUN=mean)
> mean_race
       1        2        3        4
47.41667 57.27273 46.75000 53.97241
```

← раса

```
> mean_race=tapply(meta_grades$math, list(meta_grades$race, meta_grades$female), FUN=mean)
> mean_race
          0        1
1 49.23077 45.27273
2 58.66667 56.75000
3 45.28571 47.53846
4 54.19118 53.77922
```



Ещё раз про домашнее задание

variant_counts.csv

Для каждой строки посчитать:
добавить как столбцы к data frame

chr	pos	EA_ref	EA_alt	AA_ref	AA_alt	P-value **Fisher**	P-value **X2**	Odds ratio
chr6	292452	4028	27	2089	12			
chr6	292461	4100	1	2117	0			

… …

Объединить таблицы
по 2 общим полям

chr	pos	genes
chr6	292452	DUSP22
chr6	292461	DUSP22

… *variant_genes.csv*

…	gene	…	P-value
	DUSP22		1e-10
	DUSP22		1e-5
	HLA-A		1e-13
	HLA-A		1e-10

Группировать
по генам, взяв
min *p-value*

…	gene	…	P-value
	DUSP22		1e-10
	HLA-A		1e-13