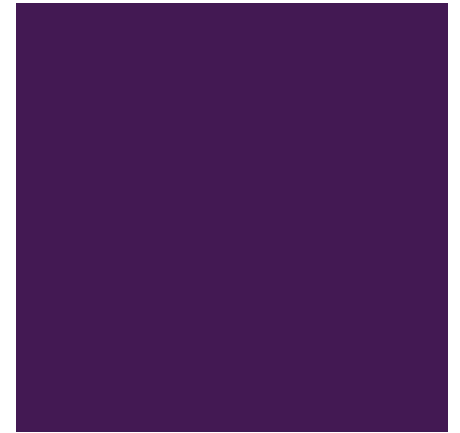
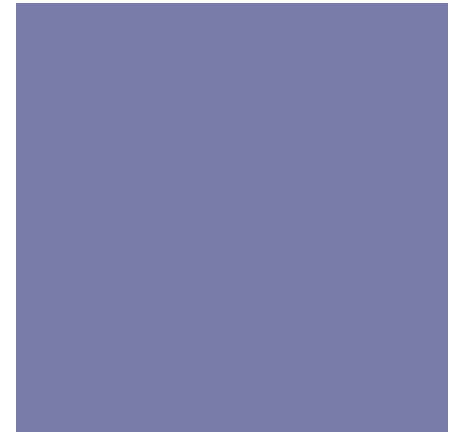


+

*if, for, apply,
merge*

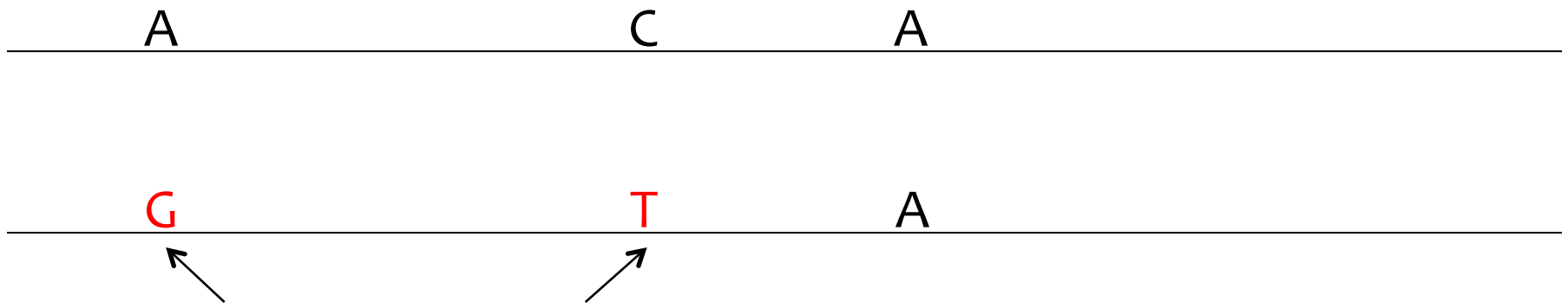
тесты

ассоциации



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?



присутствие аллельного варианта
(«мутация»)

*в гетеро- или гомозиготном состоянии

Биологическая задача

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

> `variant_counts`

Кол-во людей **без** альт. варианта

Кол-во людей **с** альтернативным вариантом

Хромосома	Координата	EA_ref	EA_alt	AA_ref	AA_alt
chr6	292452	4028	27	2089	12
chr6	292461	4100	1	2117	0

... `variant_counts.csv`

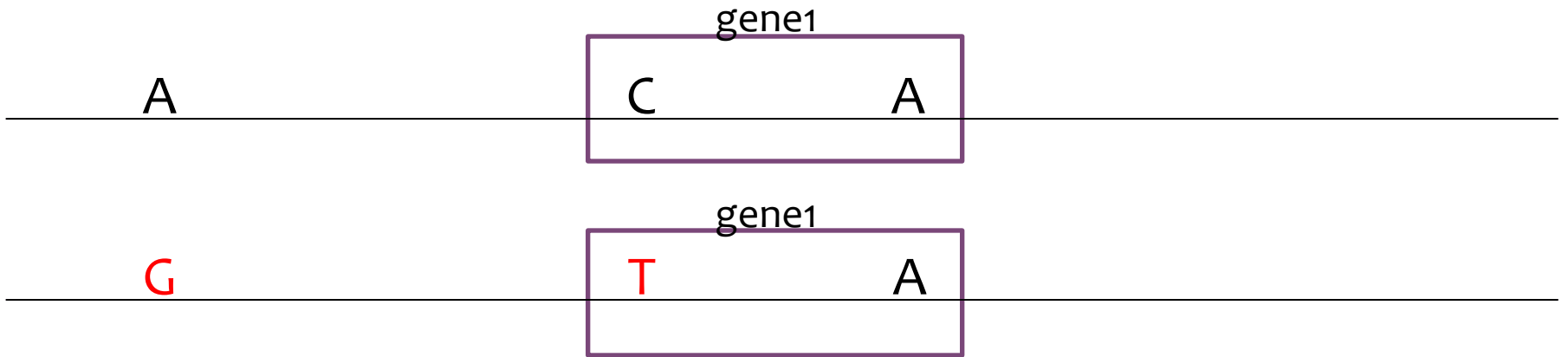
Европейцы

Африканцы

3/39

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, χ^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*

+ Проверка гипотезы об
ассоциации

Точный тест Фишера

χ^2

Тесты ассоциации

У некоторых объектов есть два свойства, про которые, в простейшем случае, можно сказать «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

↑
Не-носитель мутации

←
Носитель мутации*



Таблица
сопряженности

← Здоровый (контроль)

← Больной

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

Тест Фишера и χ^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 χ^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)

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

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 χ^2 (Chi-squared)

- Не рекомендуется использовать, если хотя бы в одной ячейке меньше 5-7 образцов

- **Но:** Предположение независимости. Например,

$$p(\text{больной} \ \& \ \text{мутант}) = p(\text{больной}) * p(\text{мутант})$$

Тест χ^2 :

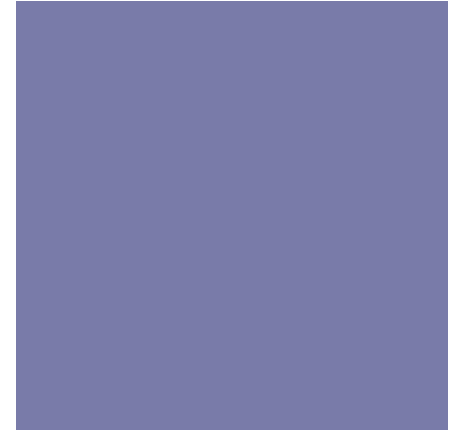
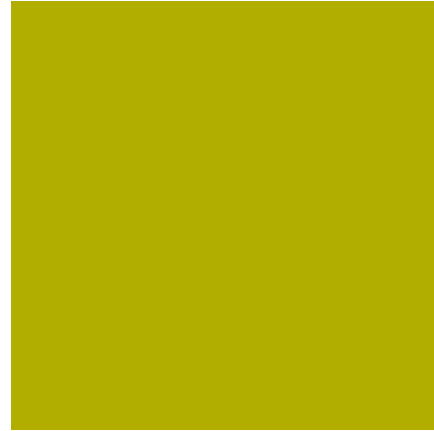
Посчитаем значение в каждой ячейке в предположении независимости, это будет ожидаемое значение.


Далее по всем ячейкам суммируем

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



QUIZ TIME





Согласно данным социологических опросов среди женщин, 18 женщин придерживаются диеты, 9 не придерживаются. То же исследование среди мужчин показало, что 5 мужчин, отвечавших на вопросы о питании, придерживаются диеты, а 18 не придерживаются.

Используя точный тест Фишера, проверьте, есть ли ассоциация между полом и склонностью следить за своим питанием.

В ответе приведите p-value и odds-ratio.



+ «Программирование»

Условия и циклы
Функции и apply

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,]))
```

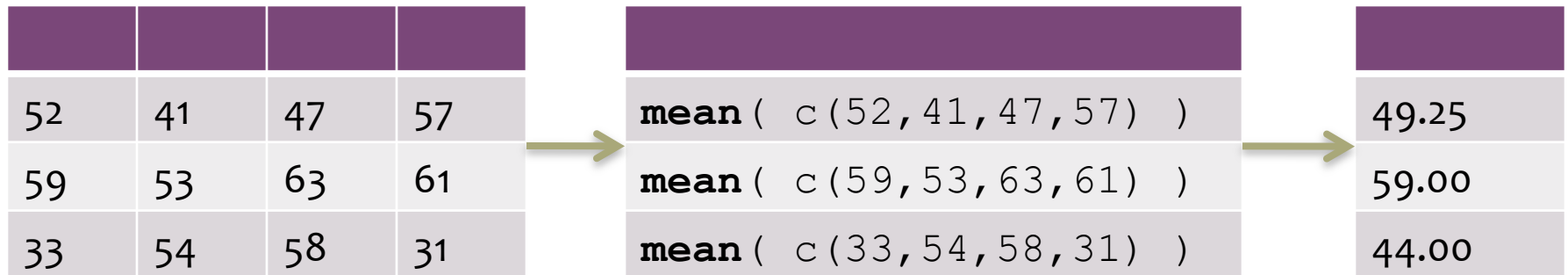
```
+ }
```

```
> 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)`

Именованный аргумент



- 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 χ^2

```
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

```
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  
}
```

Значение по умолчанию



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 #список, каждый элемент – результат работы функции
```

```
[[2]]
```

```
[1] 6
```

```
[[3]]
```

```
[1] 3
```

См. также `unlist`

```
> sapply(l, sum)
```

```
[1] 1 6 3
```

#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(1, function(x){return(c(min(x), max(x)))})
```

```
[[1]]
```

```
[1] 1 1
```

```
[[2]]
```

```
[1] 1 3
```

```
[[3]]
```

```
[1] 1 2
```

```
> sapply(1, function(x){return(c(min(x), max(x)))})
```

```
 [,1] [,2] [,3]
```

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

```
[2,]  1   3   2
```


#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)



+ SQL-подобные Операции с
таблицами

merge

aggregate, tapply

merge



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	schttyp	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	schttyp	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	schttyp	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

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

↓
↑
↓
↑
↓
↑

$\text{mean}(c(5,5,4))$

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 факторов той же длины
- На выходе – N-мерный вектор

```
> mean_race=tapply(meta_grades$math,  
list(meta_grades$race), FUN=mean)
```

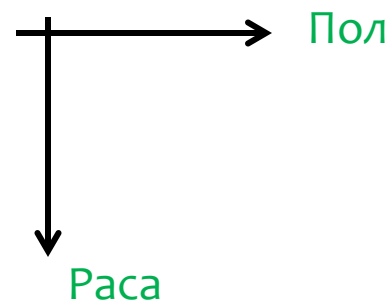
```
> mean_race
```

```
      1      2      3      4 ← раса  
47.41667 57.27273 46.75000 53.97241
```

```
> mean_race=tapply(meta_grades$math,  
list(meta_grades$race, meta_grades$female),  
FUN=mean)
```

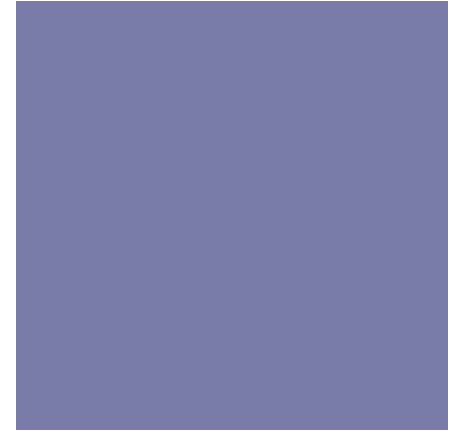
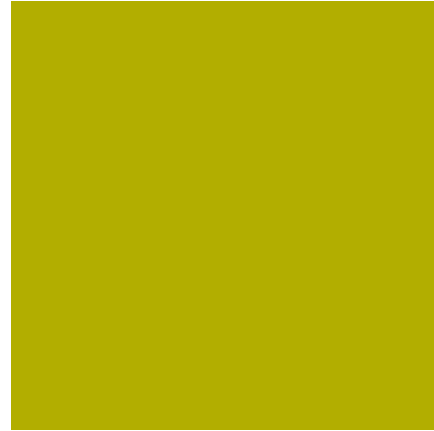
```
> mean_race
```


```
      0      1  
1 49.23077 45.27273  
2 58.66667 56.75000  
3 45.28571 47.53846  
4 54.19118 53.77922
```





QUIZ TIME





В таблице в файле `variant_counts.csv` приведены позиции (`pos`) в шестой хромосоме человека, в которых у исследуемых людей могут быть мутации. Для каждой позиции указано количество людей (из исследуемой выборки), принадлежащих к европейской (EA) или африканской (AA) популяции, где присутствует (`alt`) и отсутствует (`ref`) мутация (подробнее см. слайд 3). То есть, например, столбец “EA_ref” содержит количество людей из европейской популяции, у которых нет мутации в данной позиции. А столбец “AA_alt” содержит количество людей из африканской популяции, у которых есть мутация в данной позиции.

В другой таблице (`variant_genes.csv`) приведено соответствие между позициями (`pos`), потенциально содержащими мутацию, и генами (`genes`), в которые эти позиции попадают (только для тех позиций, которые попадают в какой-то ген).

(Один ген может содержать несколько позиций и одна позиция может быть отнесена к нескольким генам).

Для каждой позиции вычислить p -value Фишера ассоциации наличия мутации с принадлежностью к одной из популяций (поскольку позиций много, это может занять некоторое время).

Для каждого гена найти минимальное значение p -value среди всех позиций, попадающих в данный ген. Назовем его p -value для данного гена. Чему равно p -value для гена HLA-A?

* про практическое задание

variant_counts.csv

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

Для каждой строки посчитать:
добавить как столбцы к data frame

P-value Fisher	P-value X ²	Odds ratio

Объединить таблицы по
2 общим полям

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

chr	pos	genes
chr6	292452	DUSP22
chr6	292461	DUSP22

... variant_genes.csv

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

Группировать
по генам, взяв
min p-value



Воспользуйтесь данными из предыдущего задания.
Какой ген имеет p-value в интервале ($1e-54$, $2e-54$).

Напишите имя гена ровно так, как оно указано в исходных данных (например, AARS2).