第2回バイオインフォマティクス実習コース

横浜市大　先端医科学研究センター
バイオインフォマティクス研究室
室長　　田村智彦
准教授　　中林潤
免疫学　　藩龍馬
小泉真一

- マイクロアレイデータの可視化
- 樹形図
- 散布図、MA-Plot
- ヒートマップ

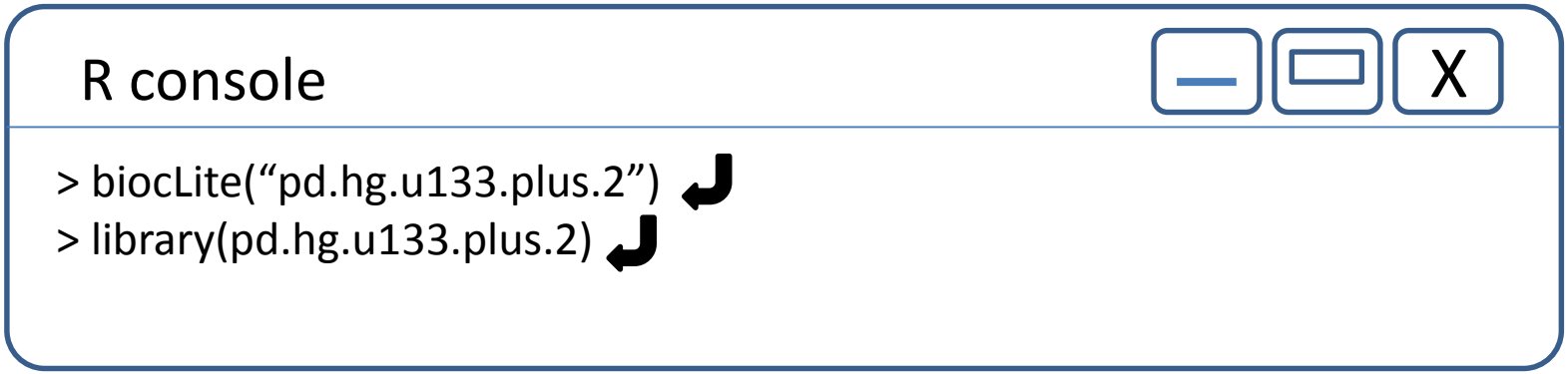
コマンド入力時の注意事項

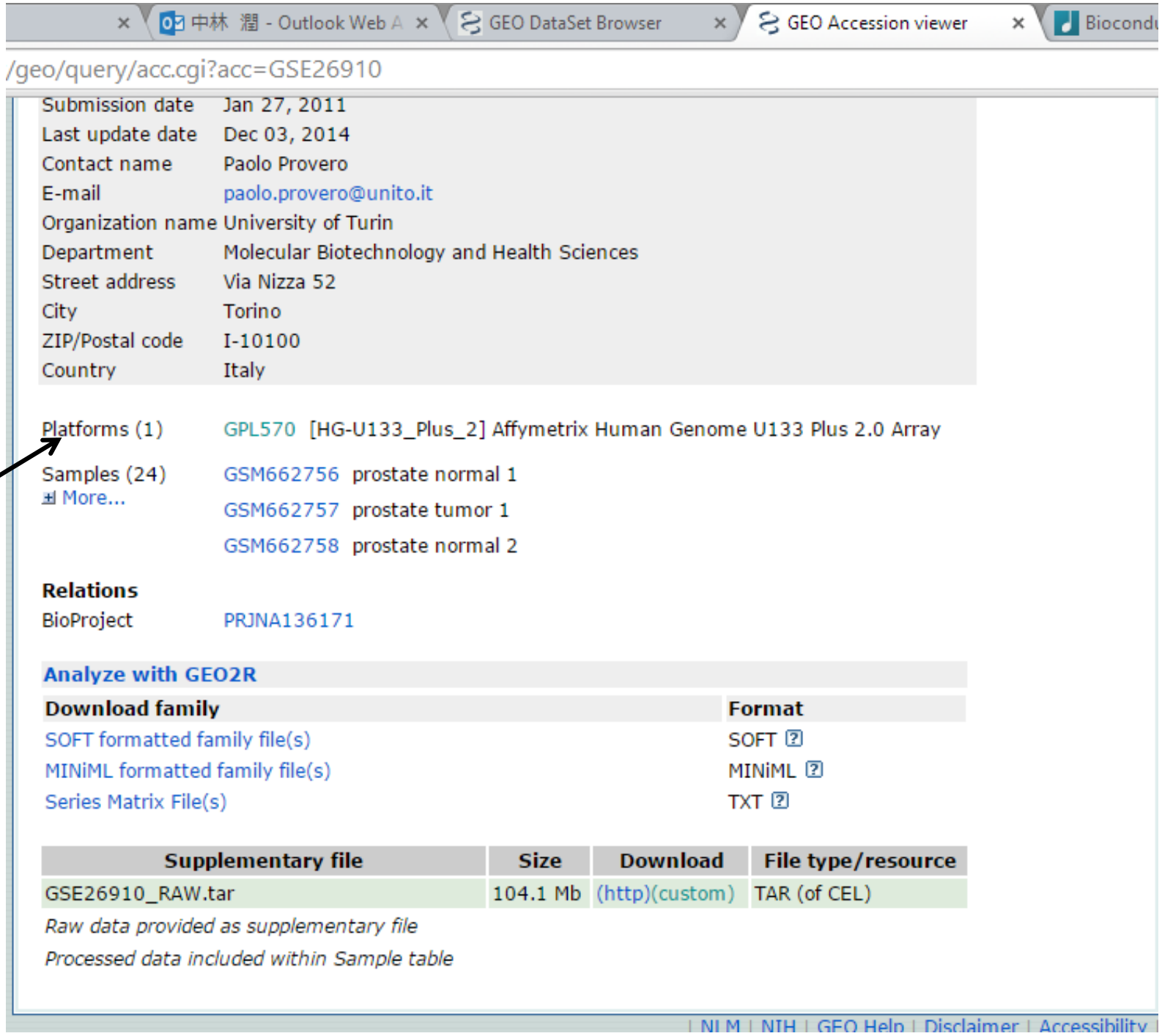
a) 大文字、小文字は区別する
b) スペースは入力する必要ない
c) 配布資料中の ↵ はenterキー
d) 配布資料中の“¥”はバックスラッシュ
e) ↑キーで入力のやり直しができる

答え合わせ

- 課題　GSE26910からデータを取得し、正規化、ファイルへの出力を行う
- 足りないライブラリ

pd.hg.u133.plus.2





platform Human Genome U133 Plus 2.0

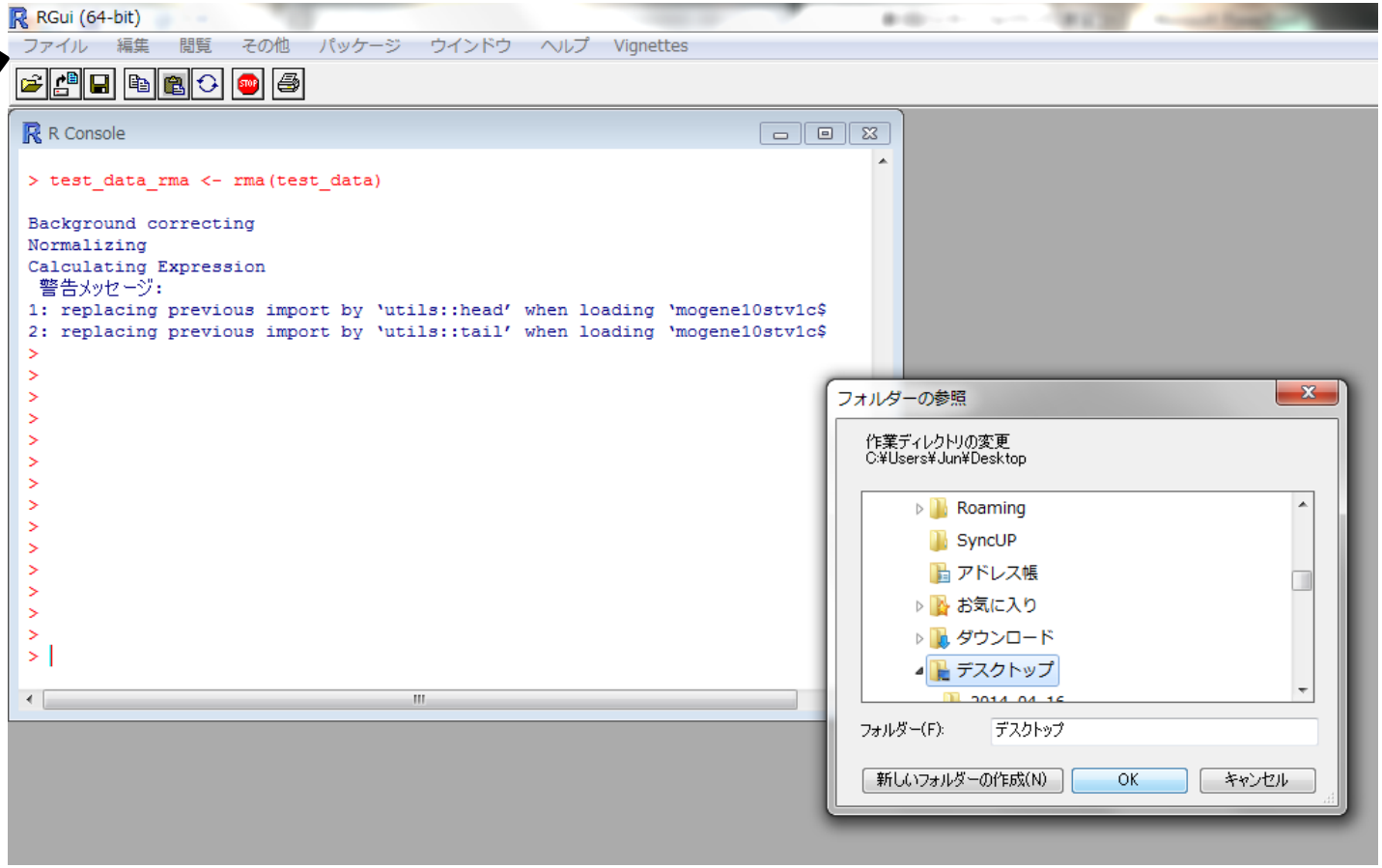
- PC起動　各自のアカウントでログイン
- R起動　スタートメニュー　4.統計解析ツール
- Proxyの設定

正規化後の遺伝子発現ファイル

- 課題配布フォルダ→GSE40493→GSE40493_Normalized.txt

- 各自のデスクトップフォルダ→GSE40493フォルダにコピー

作業ディレクトリを変更



ファイルメニューから“ディレクトリの変更”を選択
各自のデスクトップ→GSE40493フォルダを選択

ファイルの読み込み

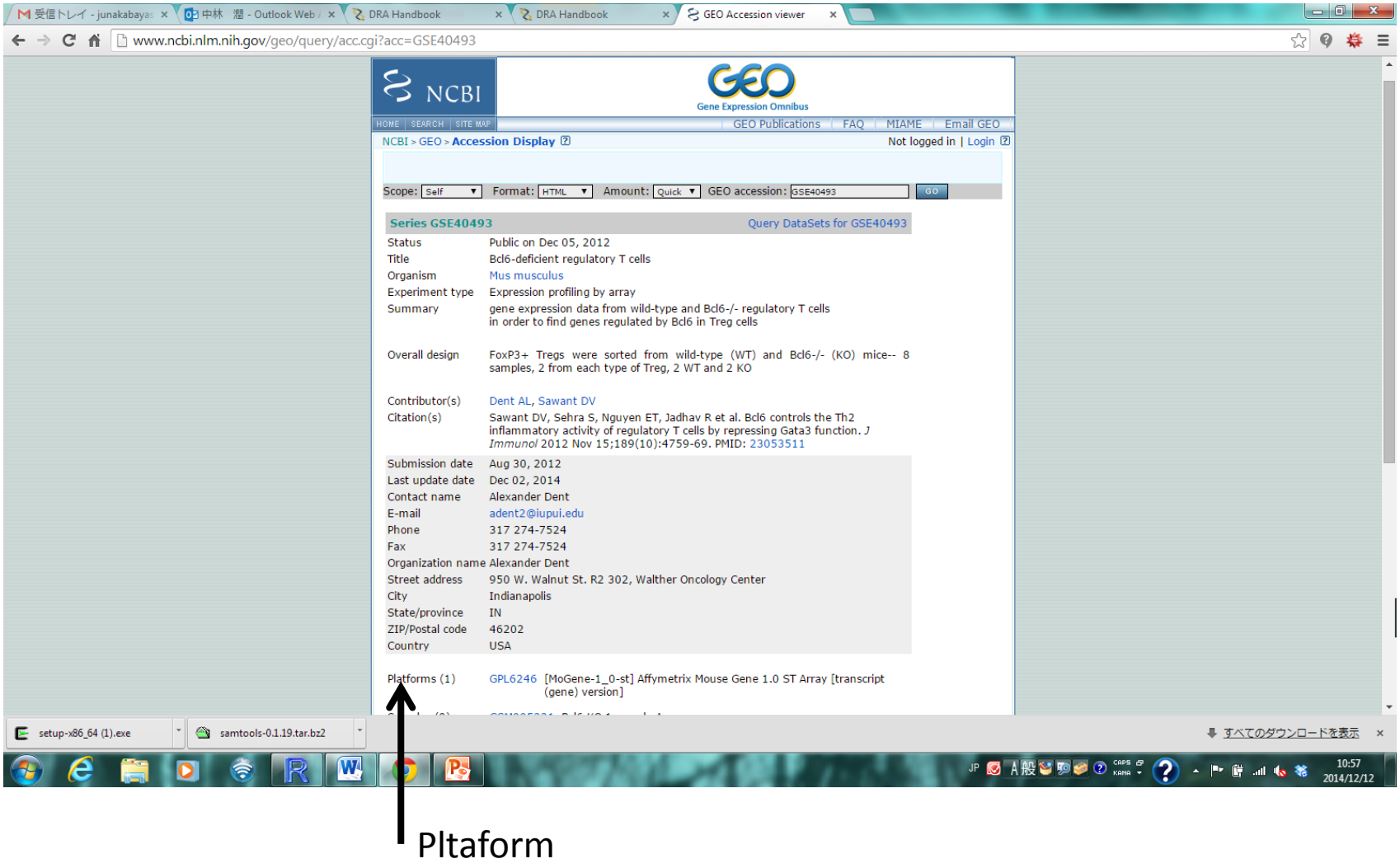
R console


```
> x <- read.table(“GSE40493_Normalize.txt”, header=T, sep=“¥t”)
> head(x)
```

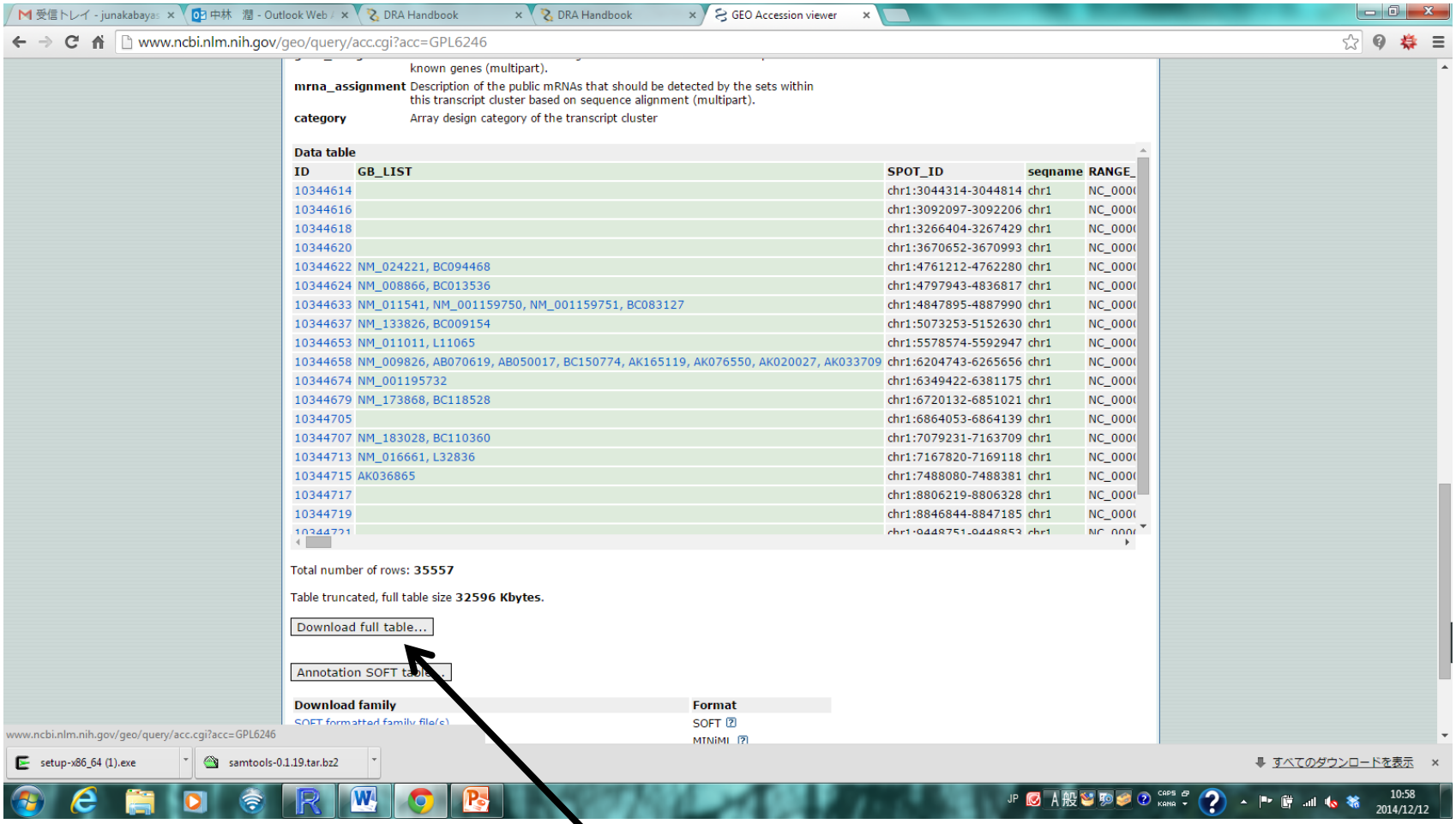
GEOデータベース

http://ncbi.nlm.nih.gov

Platform情報の取得



Platform情報の取得



Download full tableをクリック

array ID ⟷ その他の ID

Data table

ID	GB_LIST	SPOT_ID	seqname	RANGE_
10344614		chr1:3044314-3044814	chr1	NC_000(
10344616		chr1:3092097-3092206	chr1	NC_000(
10344618		chr1:3266404-3267429	chr1	NC_000(
10344620		chr1:3670652-3670993	chr1	NC_000(
10344622	NM_024221, BC094468	chr1:4761212-4762280	chr1	NC_000(
10344624	NM_008866, BC013536	chr1:4797943-4836817	chr1	NC_000(
10344633	NM_011541, NM_001159750, NM_001159751, BC083127	chr1:4847895-4887990	chr1	NC_000(
10344637	NM_133826, BC009154	chr1:5073253-5152630	chr1	NC_000(
10344653	NM_011011, L11065	chr1:5578574-5592947	chr1	NC_000(
10344658	NM_009826, AB070619, AB050017, BC150774, AK165119, AK076550, AK020027, AK033709	chr1:6204743-6265656	chr1	NC_000(
10344674	NM_001195732	chr1:6349422-6381175	chr1	NC_000(
10344679	NM_173868, BC118528	chr1:6720132-6851021	chr1	NC_000(
10344705		chr1:6864053-6864139	chr1	NC_000(
10344707	NM_183028, BC110360	chr1:7079231-7163709	chr1	NC_000(
10344713	NM_016661, L32836	chr1:7167820-7169118	chr1	NC_000(
10344715	AK036865	chr1:7488080-7488381	chr1	NC_000(
10344717		chr1:8806219-8806328	chr1	NC_000(
10344719		chr1:8846844-8847185	chr1	NC_000(
10344721		chr1:9448751-9448853	chr1	NC_000(

Total number of rows: **35557**

Table truncated, full table size 22596 Kbytes

Platform情報の取得

- 課題配布フォルダ→BioInfoJishu→GPL_6246-21513_ID_NAME
- 各自のデスクトップのGSE40493フォルダにコピー

IDファイルの読み込み
アレイIDと遺伝子名の関連付け

R console

```
> id <- read.table("GPL6246-21513_ID_NAME.txt", header=T, sep="¥t")

> head(id)

> x_id <- merge(id, x, by.x="ID", by.y="X")

> head(x_id)
```

merge(A, B, by.x="Aの項目", by.y="Bの項目")
AとBを項目Aと項目Bとで関連付け

階層的クラスタリングと樹形図

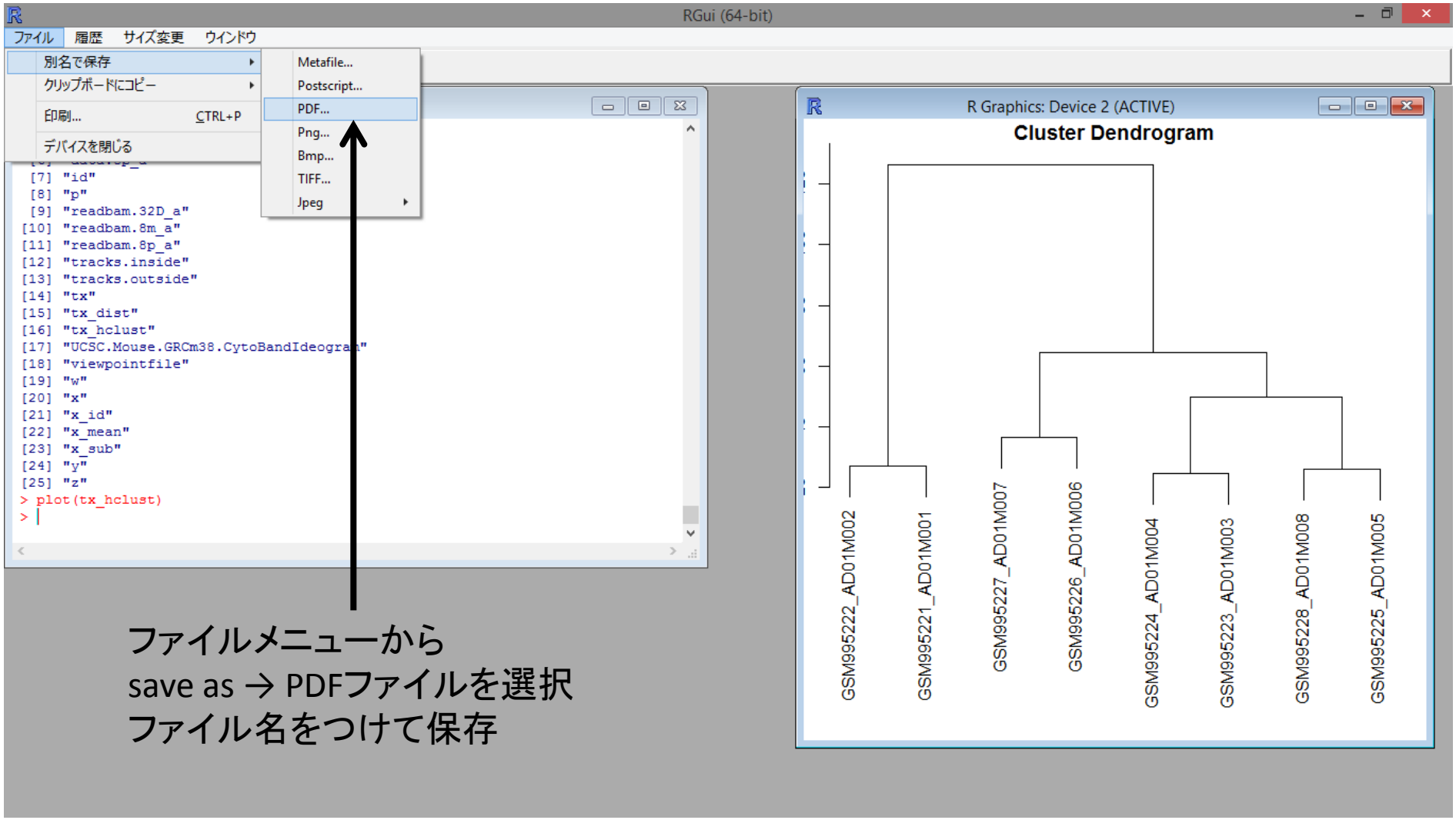
距離行列
階層的クラスタリング
樹形図

R console

```
> tx <- t(x_id[,3:10])
> tx_dist <- dist(tx)
> tx_cluster <- hclust(tx_dist)
> plot(tx_cluster)
```

天地行列 t(行列)
距離行列 dist(行列)
hclust(距離行列)

図のPDFファイルを保存



ファイルメニューから
save as → PDFファイルを選択
ファイル名をつけて保存

散布図

plot(x値, y値, option)
option : type = “p” or “l” or “b”
xlab = “x軸名”
ylab = “y軸名”
pch = ・の種類 （数字）
col = “色”

R console

```
> plot(x_id[,3], x_id[,4], xlab=“KO1_1”, ylab=“KO1_2”, main = “Scatter Plot”, pch=20)
> plot(x_id[,3], x_id[,7], xlab=“KO1_1”, ylab=“WT1_1”, main = “Scatter Plot”, pch=20)
```

MA-Plot

R console

```
> plot((x_id[,4] + x_id[,3]) / 2, x_id[,4] – x_id[,3], xlab=“A”, ylab=“M”,
+ main = “MA-Plot”, ylim = c(-7, 7), pch=20)
> plot((x_id[,7] + x_id[,3]) / 2, x_id[,7] – x_id[,3], xlab=“A”, ylab=“M”,
+ main = “MA-Plot”, ylim = c(-7, 7), pch=20)
```

WT1の平均値とKO1の平均値の行列を生成
WT/KO > 2の遺伝子を選別

R console

```
> x_mean <- cbind((x_id[,3] + x_id[,4]) / 2, ↵
+ (x_id[,7] + x_id[,8]) / 2) ↵
> x_mean <- data.frame(x_mean) ↵
> rownames(x_mean) <- x_id$GeneName ↵
> colnames(x_mean) <- c("KO", "WT") ↵
> head(x_mean) ↵
> x_sub <- subset(x_mean, x_mean$WT / x_mean$KO > 1.1)↵
> nrow(x_sub)↵
> head(x_sub)↵
```

cbind(ベクトル1, ベクトル2, …)

Bioconductor, biocLiteの設定

R console

```
> source("http://bioconductor.org/biocLite.R")↵
```

Bioconductor
バイオインフォマティクス関連のパッケージを配布しているサイト

biocLite.R
バイオインフォマティクス関連のパッケージをインストールするインストーラ
パッケージ間の依存関係やバージョンの整合性を調整してくれる。

package “gplots”
heatmap.2

R console

```
> biocLite(“gplots”)
> library (gplots)
> heatmap.2(as.matrix(x_sub), trace = “none”, density.info = “none”,
+ col = greenred(75), cexCol = 2.0, cexRow = 0.25)
```

課題

- GSE26910のデータについても樹形図、散布図、MA-plot、ヒートマップを描いてください。

第3回

日時：平成27年1月26日（月）17：00〜

「マイクロアレイデータ解析 3」

- 発現変動遺伝子の抽出
- オントロジー解析