

Laboratoria nr.5

Cel zajęć: dla danych z laboratoriów nr. 3 znajdź geny, które uległy zróżnicowanej ekspresji

1. Wczytywanie danych mikromacierzowych – www.cs.put.poznan.pl/aswiercz/m_lab3/

SlideNumber	Name	FileName	Cy3	Cy5
1	31	252111310223_morph31.gpr	Control	CdCl2
2	32	252111310223_morph32.gpr	Control	CdCl2
3	33	252111310223_morph33.gpr	Control	CdCl2
4	31	252111310223_morph31ds.gpr	CdCl2	Control
5	32	252111310224_morph32ds.gpr	CdCl2	Control
6	33	252111310224_morph33ds.gpr	CdCl2	Control

Wczytaj za pomocą funkcji `readTargets` powyższą tabelę, która znajduje się w pliku 'targets_agilent_Cd.txt' i zapisz ją w tabeli **targets**. Następnie za pomocą funkcji `read.maimages` wczytaj dane zapisane w **targets** podając jako źródło „*genepix.custom*” i zapisz je w obiekcie **RG**.

```
RG$genes=readGAL("gal_do_annotacji2.gal")
RG$printer <- getLayout(RG$genes)
```

Zastosuj korekcję tła **normexp** oraz `offset=50`. Znormalizuj dane za pomocą funkcji **loess**. Sprawdź czy dane zostały poprawnie znormalizowane **plotMA**.

2. Na podstawie podręcznika użytkownika do pakietu *limma* zaprojektuj macierz eksperymentu (*design matrix*) – funkcja **modelMatrix** . Wyświetl macierz.

Przeprowadź testowanie statystyczne, i znajdź geny, które uległy zróżnicowanej ekspresji. Wykorzystaj w tym celu model liniowy: moderated t-test i Bayesowską analizę wariancji - **ImFit**, **eBayes**. Skorzystaj z materiałów dostępnych na stronie(od slajdu 25).

Jakiego typu jest obiekt, który powstał przy użyciu funkcji **eBayes**? Jakie pole z tego obiektu świadczy o tym czy gen uległ zróżnicowanej ekspresji, czy też nie?

3. Wyświetl ile genów przeszło próg p-value = 0.01, a ile 0.05? Pamiętaj o zastosowaniu redukcji *false positive*, czyli korekcji Benjamini-Hochberg (BH). Możesz użyć w tym celu funkcji **decideTests**. Zobacz podsumowanie dla wyniku tej funkcji (**summary**), i wyświetl diagram Venna (**vennDiagram**).

Narysuj **volcanoplot** dla wyniku funkcji **eBayes**. Jaka jest interpretacja tego wykresu? W którym miejscu znajdują się punkty o największej różnicowej ekspresji genów?

4. Zapisz do zmiennej **top1(top5)** wszystkie geny, które uległy zróżnicowanej ekspresji przy progu $p=0.01(0.05)$. Pamiętaj o korekcji BH. (**topTable**). Jak duże są to tabele?

Na podstawie tabeli **top1** zapisz do zmiennej **top1UP** wszystkie geny, które uległy podwyższonej ekspresji, a do zmiennej **top1DOWN**, te które uległy obniżonej ekspresji. (**\$logFC**)

Zapisz do plików geny, które uległy zróżnicowanej ekspresji ($p=0.01$), podwyższonej oraz obniżonej.

5. Podaj poszczególne polecenia w języku R, oraz zrzuty ekranu z sesji.