

Oznamy

- Dnes posledná prednáška, po prednáške cvičenia pre biológov
- Budúci štvrtok 10.12.:
 - posledné cvičenia pre informatikov
 - cvičenia pre biológov začnú 15:40
- Štvrtok 17.12.:
 - nepovinné prezentácie journal clubu v čase prednášky (chceme?)
 - cvičenia pre informatikov nebudú
 - cvičenia pre biológov dohodneme
- Termíny na konci semestra
 - správy zo journal clubu piatok 18.12.
 - DÚ3 utorok 22.12.

Skúška

Hlavná časť je **písomná**:

- Treba získať aspoň polovicu bodov
- Zadanie a odovzdávanie v Moodle, čas 3 hodiny
- MS teams: pokyny, otázky, oznamy
- Na stránke budú ukážky jednoduchých príkladov, cca 50% bodov
 - v prípade záujmu pred skúškou konzultačné hodiny
- Zvyšné príklady budú prekvapením, v minulosti sa vyskytli:
 - Krátke príklady na pochopenie základných pojmov
 - Pre informatikov: navrhnete/modifikujte algoritmus alebo model
 - Pre biológov: usudzovanie z konkrétnych výsledkov, výber metódy pre daný problém
- **Termín?**

Písomná skúška

- Môžete odovzdať pdf vytvorené v editore alebo písať na papier, odfotiť, konvertovať do pdf.
- Povolené pomôcky:
 - Materiály na stránke predmetu (poznámky, prezentácie, skriptá)
 - Vaše vlastné poznámky z predmetu
 - Textové a grafické editory
 - Softvér na digitalizáciu papierových riešení
 - Jednoduchá kalkulačka (hardvér alebo softvér)
 - MS Teams na komunikácii s vyučujúcimi
 - Moodle na čítanie zadaní a odovzdanie riešení
- Zakázané pomôcky:
 - Komunikácia s inými osobami než vyučujúcimi
 - Iné webstránky
 - Iný softvér (napr. špecializované bioinformatické programy)

Ústna skúška

- Videohovor cez MS Teams
- Koná sa po písomnej časti, vypíšeme termíny počas niekoľkých dní
- Budeme diskutovať o odovzdanej písomke
- Mali by ste vedieť podrobne zdôvodniť vaše odpovede
- Kvalita ústnej časti môže mierne ovplyvniť body zo skúšky
- Ak nebudeme vedieť vysvetliť vaše odpovede, môžeme vás hodnotiť Fx

Opravný termín skúšky bude mať buď rovnakú formu ako riadny alebo bude čisto ústny.

Ak súhlasíte, dátumy opravných termínov dohodneme s tými, ktorých sa budú týkať

Polymorfizmus a populačná genetika

Tomáš Vinař

3.12.2020



Populačná genetika

- Rôzne jedince toho istého druhu nemajú identický genóm
- Tieto rozdiely vplývajú na fenotyp (výzor, správanie, choroby, . . .)
- Genómy viacerých jedincov môžeme sekvenovať a porovnávať s referenčnou verziou

Možné aplikácie populačnej genetiky:

- Úloha jednotlivých genetických rozdielov
- História a charakter populácie (podpopulácie, migrácia, historická veľkosť populácie)

SNPy (Single Nucleotide Polymorphisms)

- SNP: jednobázová variabilita medzi jedincami ($> 1\%$ jedincov)
- Obvykle iba dve formy: **väčšinová** a **menšinová** alela
- Aj malá zmena v DNA môže spôsobiť veľké fenotypické zmeny

Systematické mapovanie SNPov:

Projekt 1000 ľudských genómov 2008-2015

identifikácia $> 95\%$ SNPov s aspoň 1% frekvenciou menšinovej alely pomocou NGS sekvenovania

Mapovanie asociácií (Trait/Disease Association Mapping)

- Znaky (a choroby) vznikajú kombináciou genetických a environmentálnych vplyvov
- Cieľ: Identifikovať genetické vplyvy
 - Ako fungujú choroby?
 - Aký je risk dedičného faktoru choroby?
 - Vývoj nových liekov, ich správne cielenie (farmakogenomika)

Napr. mutácie v génoch rodiny cytochrómu P450 majú vplyv na odbúravanie liekov v pečeni, ovplyvňujú veľkosť potrebnej dávky

Odbočka: diploidné genómy

- Človek je **diploidný**: má v bunke po dva chromozómy 1...22 plus pohlavné chromozómy X,X alebo X,Y
- Jeden chromozóm z páru od matky, jeden od otca
- Pre daný SNP s alelami a , A môže byť **homozygot** (aa alebo AA), alebo **heterozygot** (aA)
- Ak nejaká choroba zapríčinená alelou a , tak sa môže prejaviť iba pri homozygotoch aa , alebo aj pri heterozygotoch aA , alebo môže byť pri aa silnejšia ako pri aA
- **Haplotyp**: kombinácia aliel rôznych SNPov na tom istom chromozóme (zdedená od jedného rodiča)
Diploidný jedinec má teda dva haplotypy

Testovanie asociácie jedného SNPu

Kontingenčná tabuľka - počet haplotypov

Veľkosť psa vs. alela na pozícii chr15:44,228,468

	pôvodná alela	odvodená alela	spolu
malý pes (< 9 kg)	14	535	549
veľký pes (> 31 kg)	339	38	377
spolu	353	573	926



[Sutter a kol. 2007]

Štatisticky testujeme či sú riadky a stĺpce nezávislé (nulová hypotéza).

Ak nevytlúčime nulovú hypotézu, nepreukázali sme súvis SNPu s veľkosťou (môže ale existovať, možno treba viac dát)

Ak ju vylúčime, našli sme asociáciu, nemusí však ísť o príčinu

Testovanie nezávislosti v kontingenčnej tabuľke

	pôvodná alela	odvodená alela	spolu
malý pes	14	535	549
veľký pes	339	38	377
spolu	353	573	926

Fisherov test: (Fisher's exact test) presný výsledok z hypergeometrického rozdelenia

Chí-kvadrát (χ^2) test: obľúbený približný test, vhodný ak máme vysoké počty

Používajú sa aj zložitejšie štatistické metódy/modely (napr. diploidný genóm, príbuzenské vzťahy, ...)

Testovanie nezávislosti v kontingenčnej tabuľke χ^2 testom

	alela A	alela a	spolu
malý pes (m)	14	535	549
veľký pes (v)	339	38	377
spolu	353	573	926

V nulovej hypotéze (nezávislosť riadkov a stĺpcov) máme:

$$\Pr(A) = 353/926 = 0.381, \Pr(a) = 0.619$$

$$\Pr(m) = 549/926 = 0.593, \Pr(v) = 0.407$$

$$\Pr(A, m) = \Pr(A) \Pr(m) = 0.226$$

$$\Pr(a, m) = \Pr(a) \Pr(m) = 0.367$$

$$\Pr(A, v) = \Pr(A) \Pr(v) = 0.155$$

$$\Pr(a, v) = \Pr(a) \Pr(v) = 0.252$$

Podľa nulovej hypotézy by sme teda čakali, že 926 haplotypov bude v tabuľke rozdelených v pomeroch 0.226:0.367:0.155:0.252

Testovanie nezávislosti v kontingenčnej tabuľke χ^2 testom

Skutočná tabuľka

$O_{i,j}$ (observed):

	A	a	spolu
malý	14	535	549
veľký	339	38	377
spolu	353	573	926

Očakávané podľa nulovej hypotézy

$E_{i,j}$ (expected):

	A	a	spolu
malý	209.3	339.8	549
veľký	143.5	233.4	377
spolu	353	573	926

Spočítame veličinu $\chi^2 = \sum_{i \in \{m,v\}} \sum_{j \in \{A,a\}} \frac{(O_{i,j} - E_{i,j})^2}{E_{i,j}}$

$$\chi^2 = (14 - 209.3)^2 / 209.3 + (535 - 339.8)^2 / 339.8 + (339 - 143.5)^2 / 143.5 + (38 - 233.4)^2 / 233.4 = 724.3$$

χ^2 je určitá miera rozdielnosti tabuliek O a E .

Platí, že $\chi^2 \geq 0$ a χ^2 je nula, iba ak sa tabuľky úplne zhodujú.

Testovanie nezávislosti v kontingenčnej tabuľke χ^2 testom

$O_{i,j}$ (observed):

	A	a	spolu
malý	14	535	549
veľký	339	38	377
spolu	353	573	926

$E_{i,j}$ (expected):

	A	a	spolu
malý	209.3	339.8	549
veľký	143.5	233.4	377
spolu	353	573	926

Spočítame veličinu $\chi^2 = \sum_{i \in \{m,v\}} \sum_{j \in \{A,a\}} \frac{(O_{i,j} - E_{i,j})^2}{E_{i,j}} = 724.3$

Ak platí nulová hypotéza, χ^2 je približne z rozdelenia $\chi^2(1)$,
t.j. **chí kvadrát s jedným stupňom voľnosti**.

1 stupeň: ak poznáme E a 1 políčko z O , zvyšok O vieme dopočítať.

Šanca, že pri nulovej hypotéze nám náhodne vyjde $\chi^2 \geq 724.3$ je $1.6 \cdot 10^{-159}$ (P-hodnota)

Na **odmietnutie nulovej hypotézy** často používame
prah $P < 0.05$, t.j. $\chi^2 > 3.841$

Závislosť medzi dvoma rôznymi SNPmi

Uvažujme SNP s alelami p/P a ďalší SNP s alelami q/Q .
Nameriame počty haplotypov pq, PQ, pQ, Pq

Príklad: 2000 haplotypov (1000 jedincov)

	Q	q	
P	474	611	$\chi^2 = 184.78$, P-hodnota $4.4 \cdot 10^{-42}$
p	142	773	

Stĺpce a riadky teda nie sú nezávislé, medzi SNPmi je závislosť

Príklad 2: Podobné pomery počtov, ale iba 30 haplotypov:

	Q	q	
P	7	9	$\chi^2 = 3.0867$, P-hodnota 0.07893
p	2	12	

Nulovú hypotézu nevyhlúčime pre prah $P < 0.05$ ($\chi^2 > 3.841$)

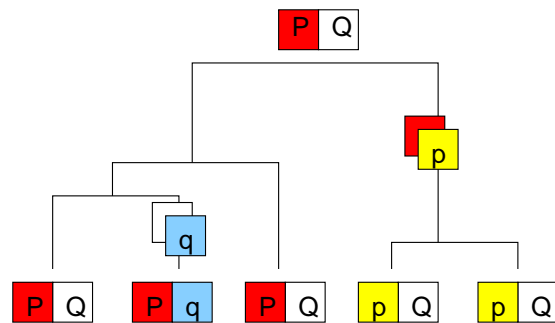
Ale pozor, pre takéto malé hodnoty χ^2 **nepresný**

Ako vzniká závislosť medzi dvoma rôznymi SNPmi

Na rozdielnych chromozómoch:

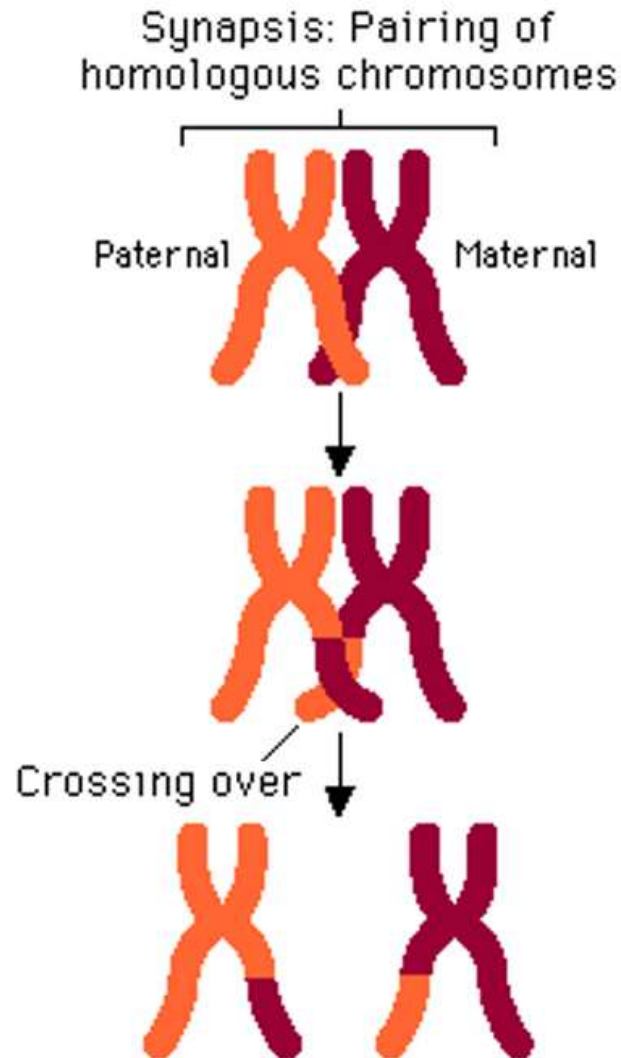
- Pravdepodobnosti výskytu jednotlivých alel sú nezávislé
- $\Pr(pq) = \Pr(p) \Pr(q)$, $\Pr(PQ) = \Pr(P) \Pr(Q)$, atď
- **väzbová rovnováha, linkage equilibrium (LE)**

Blízko seba na tom istom chromozóme:



- Málokedy mutácia na to istom mieste 2x, zriedkavá rekombinácia
- Kombinácie nie sú úplne náhodné
- Korelácie medzi SNPmi
⇒ **väzbová nerovnováha, linkage disequilibrium (LD)**

Rekombinácia



Cca 1-3 **rekombinácie** v 1 ľudskom chromozóme počas meiózy (tvorba pohlavných buniek)

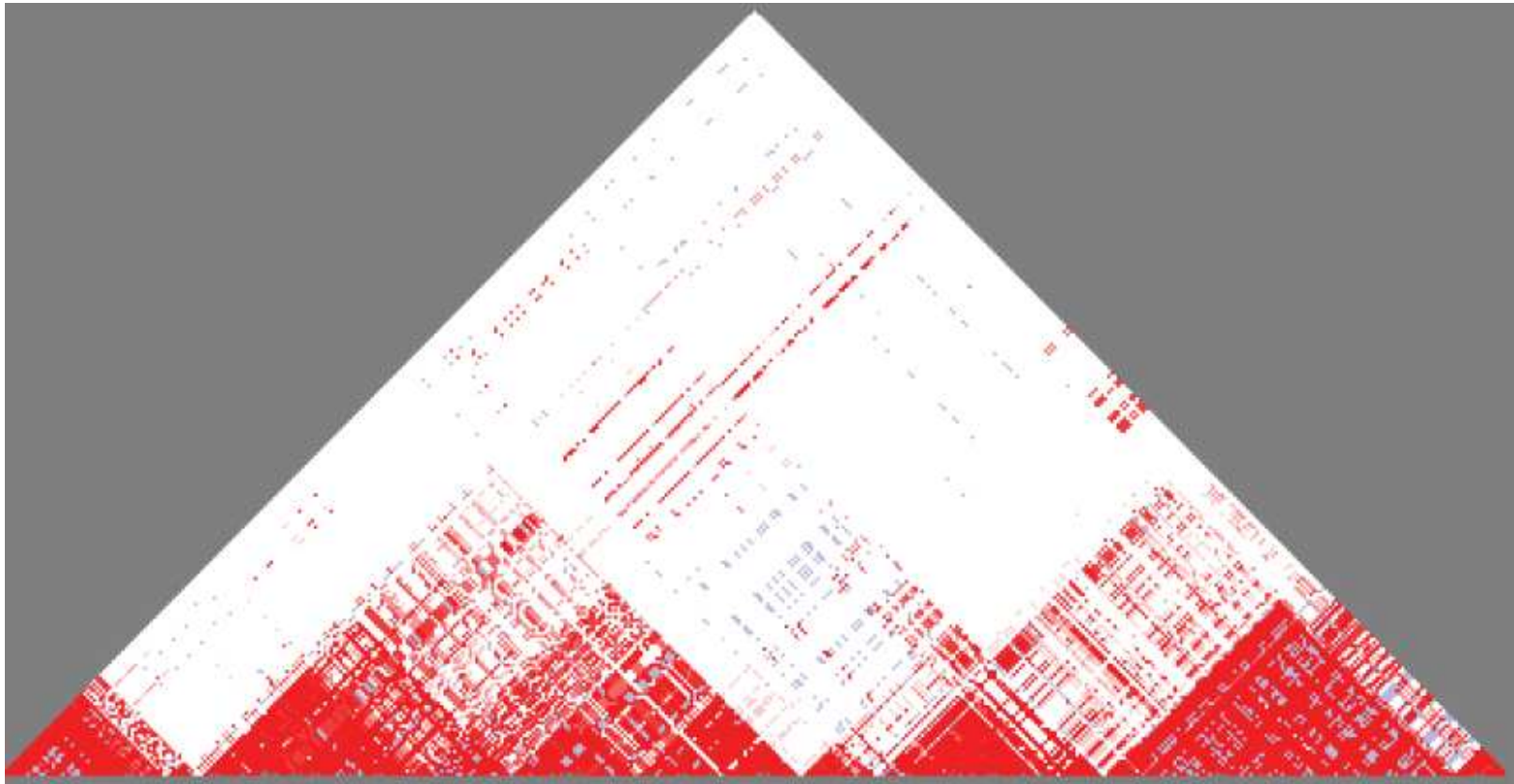
Rekombinácia znižuje LD

Ak predpokladáme rovnomernú rekombináciu:

- Čím vzdialenejšie SNPy, tým nižšie LD
- Čím staršie SNPy, tým nižšie LD
- Ďalšie aspekty: štruktúra populácie, prirodzený výber, rekombinačné hotspoty

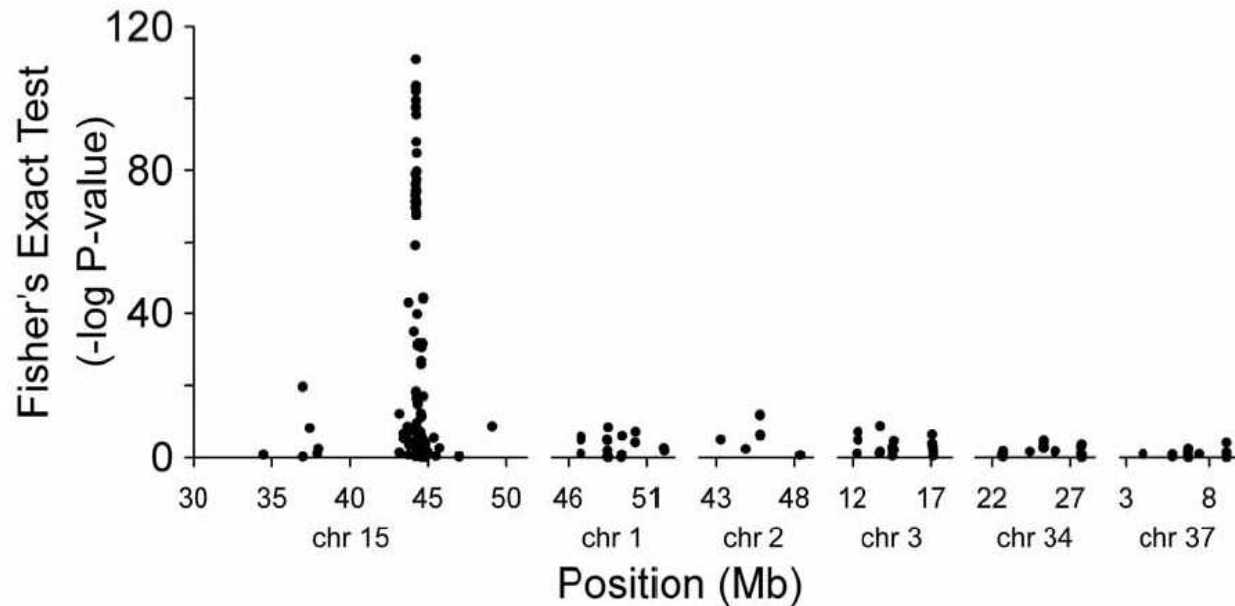
Väzbová nerovnováha (LD) v ľudskom genóme

[The International HapMap Consortium, 2005]



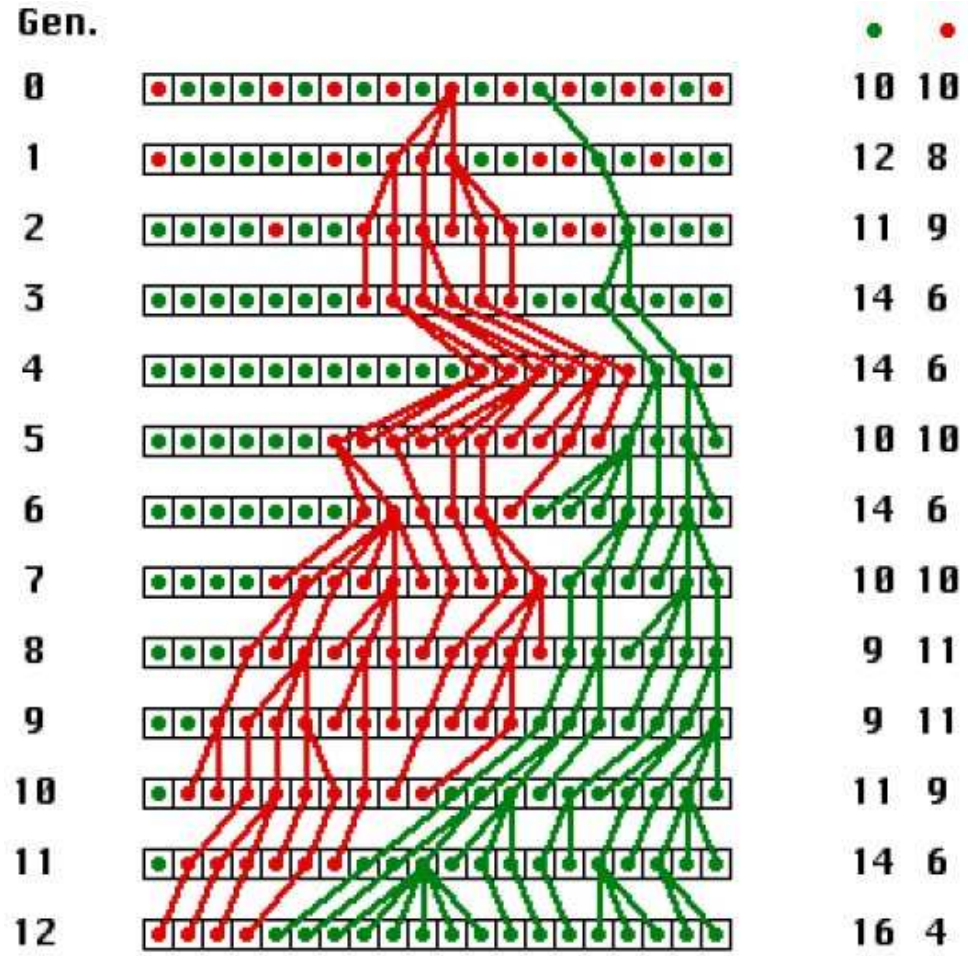
Región ENm014 (500kB, chr 7), 90 ľudí Utah

Späť k psom: Hľadanie asociácií v celom genóme (Whole-Genome Association Scan, WGAS)



- V prípade štúdie veľkosti psov: WGAS identifikoval 84 kB región
- Pozíciu ďalej treba spresniť ďalšími experimentami
- **Malé LD bloky** \Rightarrow potreba veľkého rozlíšenia SNPov
- **Veľké LD bloky** \Rightarrow príliš veľké výsledné regióny

Základný model populačnej genetiky: Wright-Fisherov model



Životný cyklus SNPov vo Wright-Fisherovom modeli

- Populácia N jedincov (stabilná veľkosť)
- Jedinec = jedna alela (A or a)
- Nová generácia vzniká “skopírovaním” náhodného rodiča (random mating), bez vplyvu prirodzeného výberu
- X_t : počet jedincov s alelou a v generácii t
- **Markovovský reťazec** so stavmi $X_t \in \{0, 1, \dots, N\}$

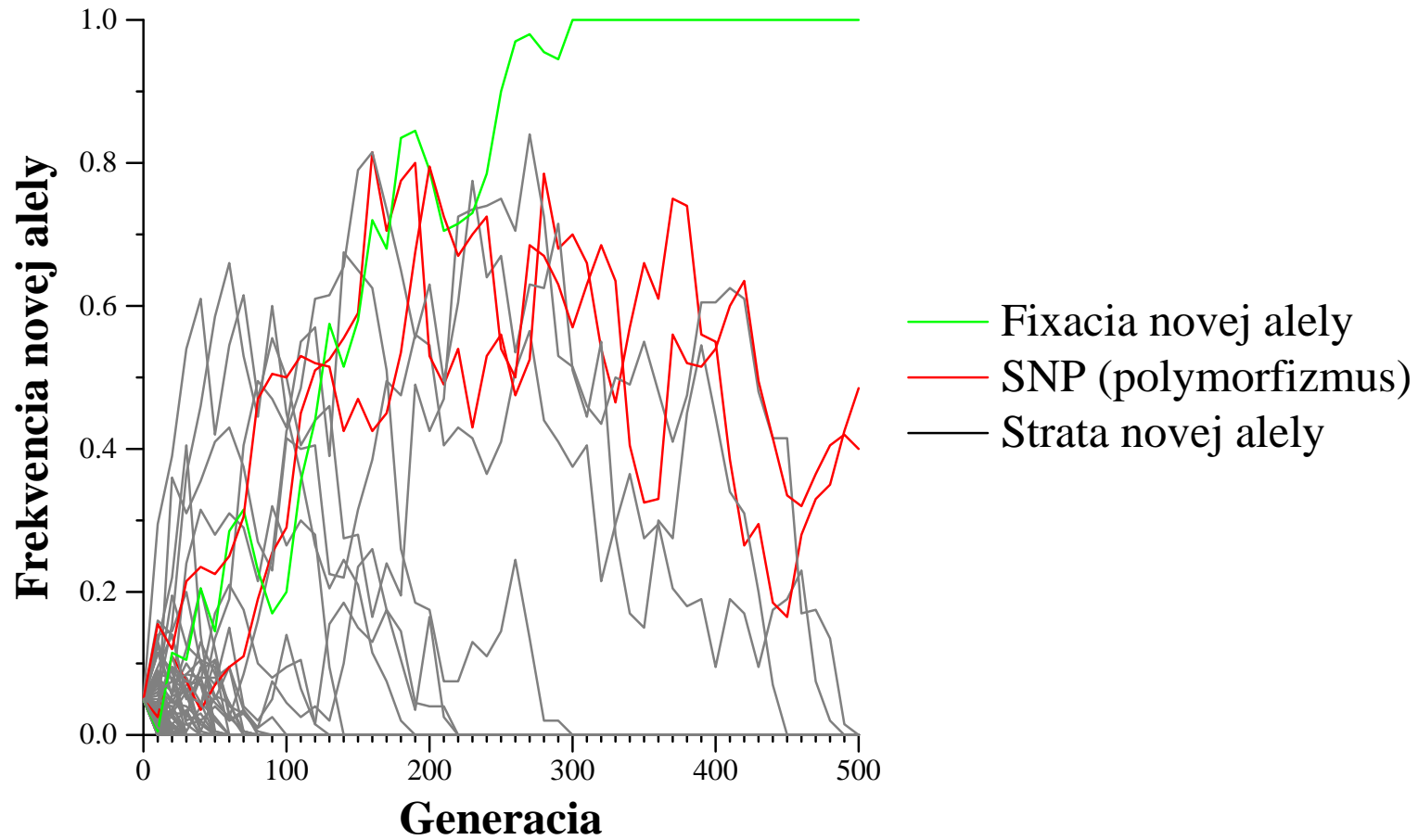
$$\Pr(X_t = j \mid X_{t-1} = i) = \left(\frac{i}{N}\right)^j \left(\frac{N-i}{N}\right)^{N-j} \binom{N}{j}$$

(Pravdepodobnosť, že v generácii t máme j kópií alely a , ak v generácii $t - 1$ ich bolo i)

- Stavy 0 and N sú **pohlujúce**

Náhodný genetický drift

$N = 200$, $X_0 = 10$, 500 generácií



Zložitejšie modely populácie

- **Mutácie** zavádzajú do populácie nové alely, ktoré po čase náhodným genetickým driftom zaniknú, alebo ovládnu populáciu (fixation).
- Rýchlosť procesu je ovplyvnená efektami ako **štruktúra populácie** alebo **prirodzený výber**
- \Rightarrow Zložitejšie pravdepodobnostné modely

Analýza histórie populácie na základe pravdepodobnostných modelov

Typické parametre pravdepodobnostného modelu:

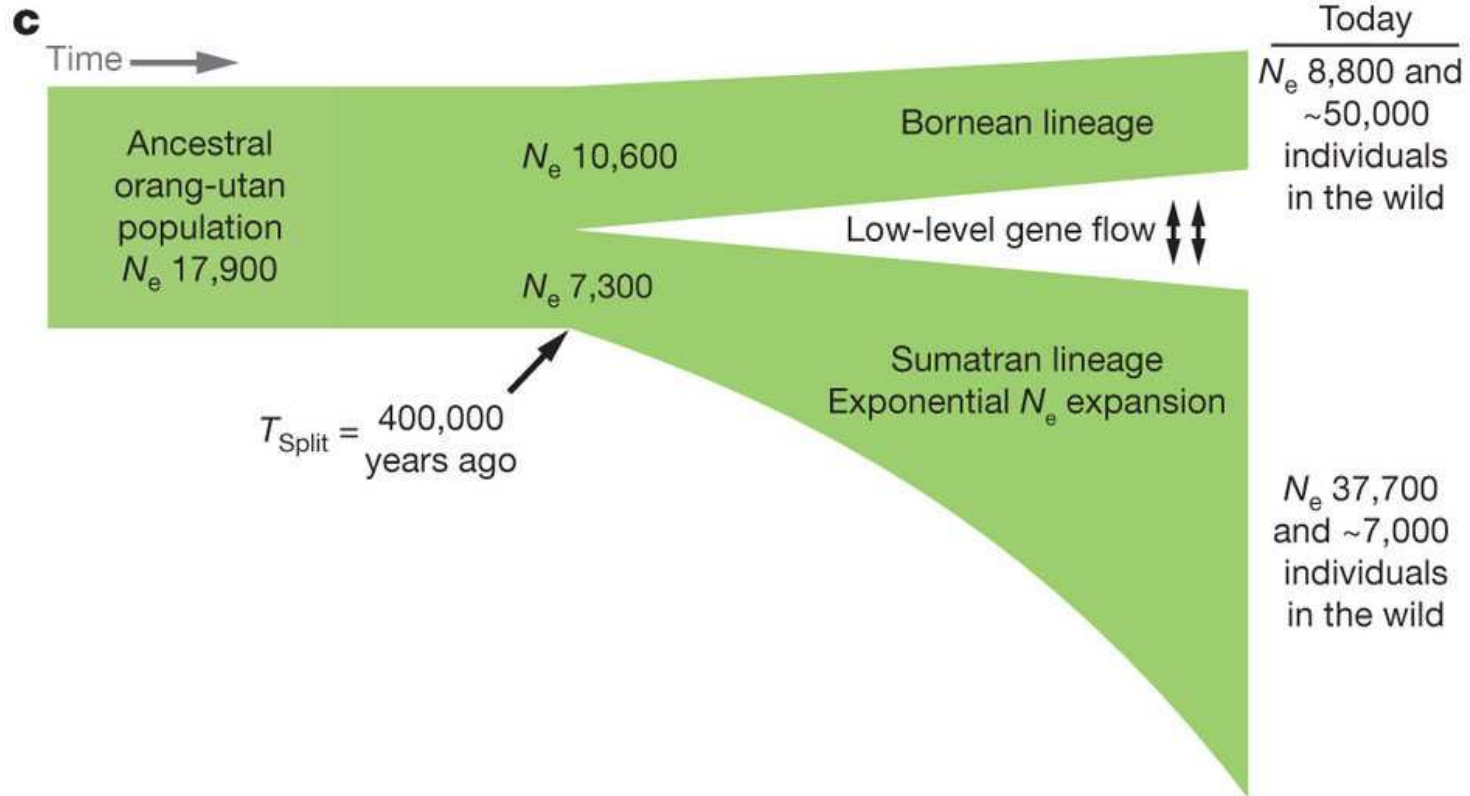
- efektívna veľkosť populácie
- frekvencia rekombinácie a mutácie

Parametre ovplyvňujú pozorované dáta:

- Frekvencie SNPov (frekvencia menšinovej alely)
- Heterozygocita u diploidných jedincov
- Počet a veľkosť LD blokov

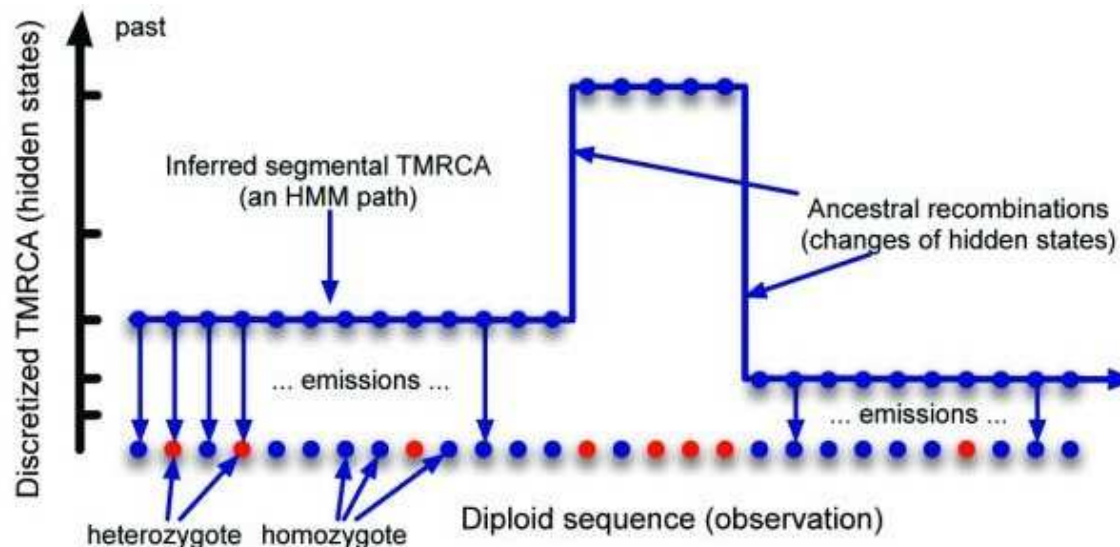
Štandardný prístup: Snažíme sa nájsť parametre modelu, ktoré najlepšie vysvetľujú pozorované dáta u osekvenovaných jedincov.

Príklad: Populačná história orangutánov



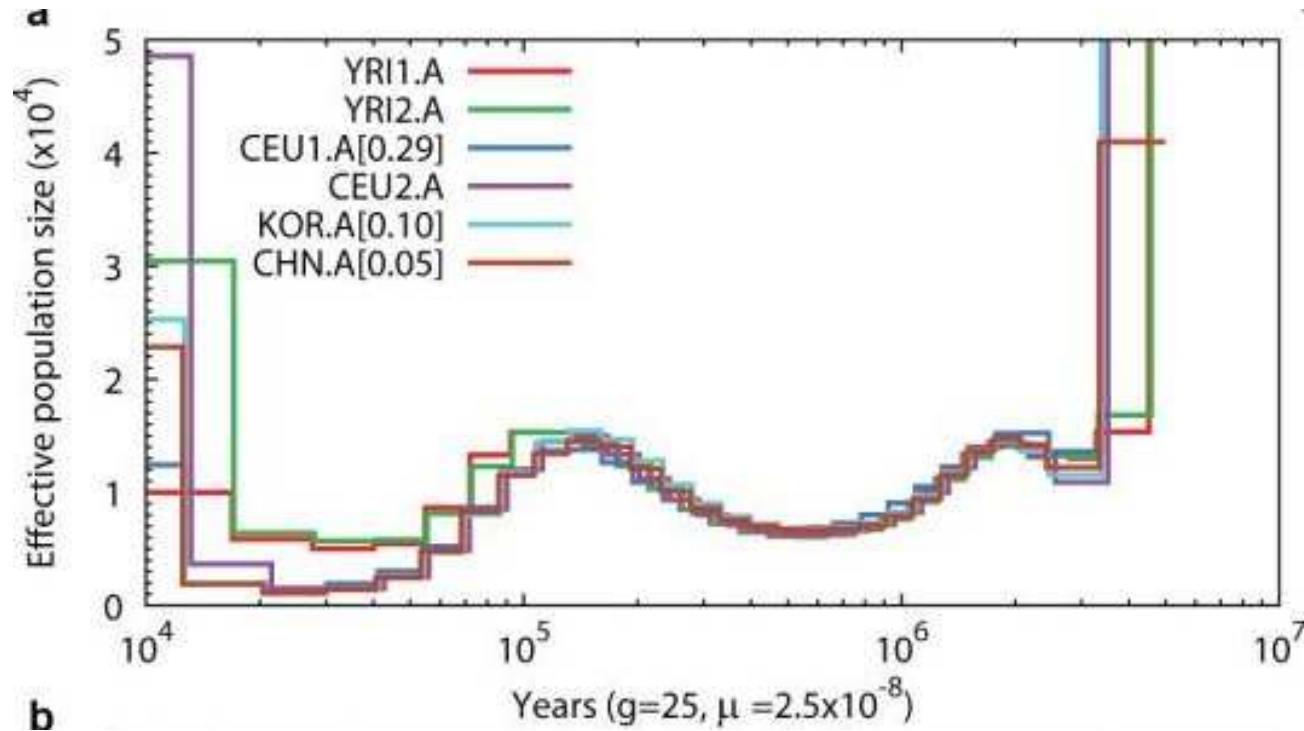
História ľudskej populácie z genómu jedinca (Li, Durbin 2011)

- **Parametre modelu:** história vývoja efektívnej veľkosti ľudskej populácie v čase
- **Pozorované štatistiky:**
 - rozdelenie veľkostí rekombinačných blokov
 - rozdelenie časov ku najbližšiemu spoločnému predkovi (TMRCA)



Príklad: História ľudskej populácie z genómu jedinca

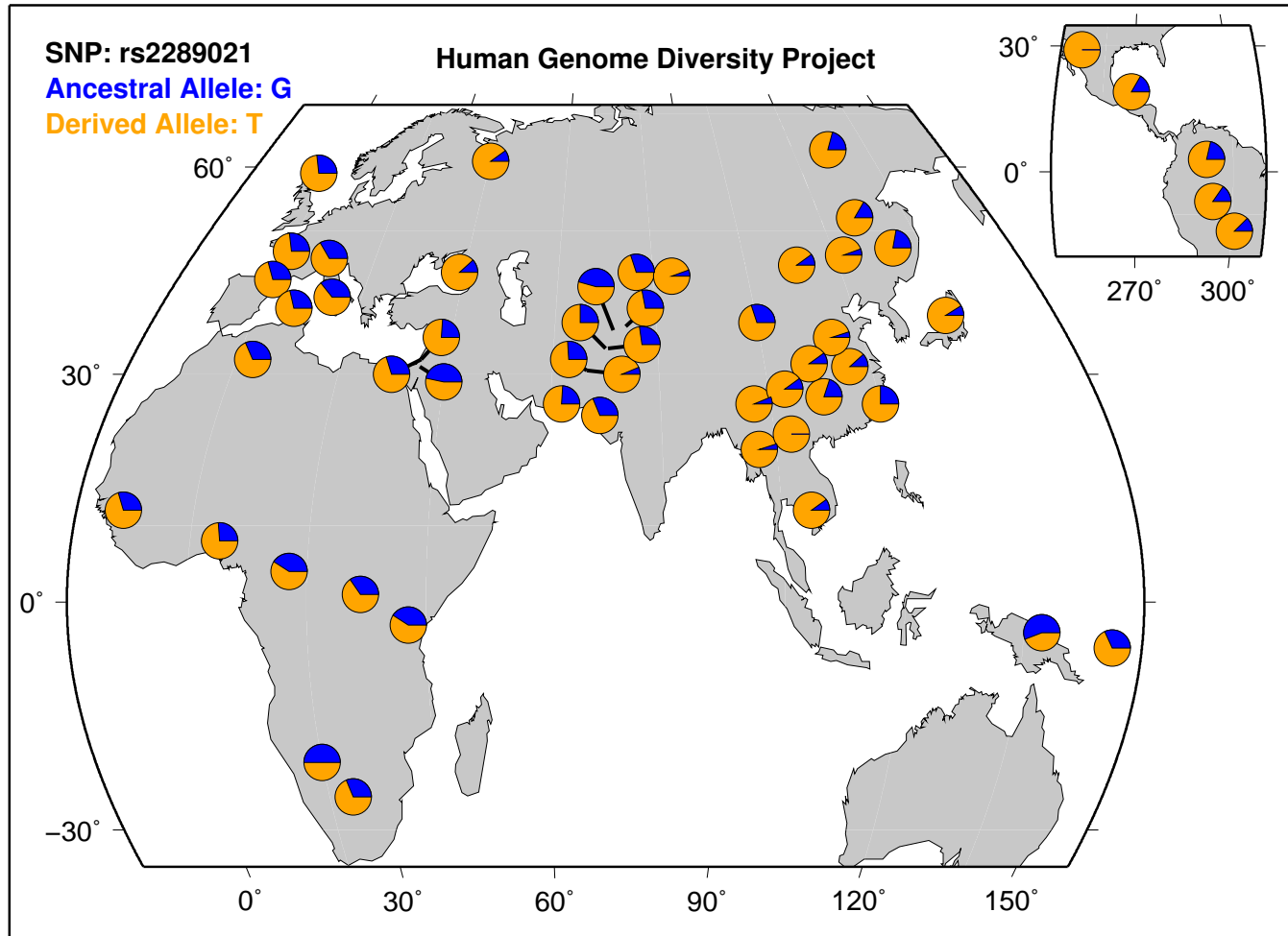
Úloha: Nájdi históriu vývoja efektívnej veľkosti ľudskej populácie, ktorá najlepšie vysvetľuje pozorované štatistiky



Štruktúra populácie

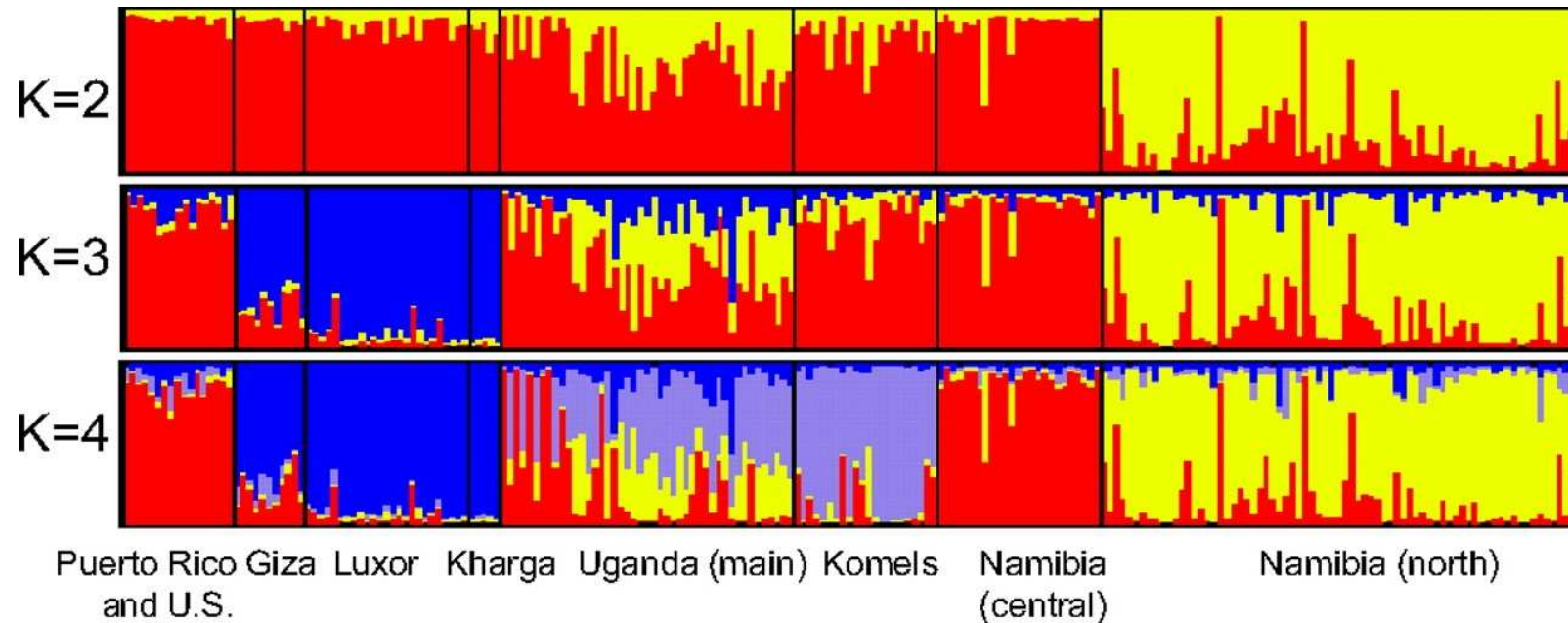
- Doteraz sme predpokladali, že nová generácia vzniká **náhodným párovaním** (random mating)
- Väčšina organizmov sa vyvíja v **subpopuláciách**, s obmedzeným prenosom genetického materiálu medzi subpopuláciami
- Frekvencie toho istého SNPu v dvoch subpopuláciách môžu byť značne odlišné
- ⇒ “falošné” korelácie medzi SNPami (napr. aj medzi chromozómami), ak pracujeme s viacerými subpopuláciami naraz
- ⇒ chybné výsledky pri LD a WGAS

Príklad: frekvencie alel jedného konkrétneho SNPu u ľudí v rôznych častiach sveta



zdroj: genome.ucsc.edu

Štruktúra populácie psov



Boyko et al. PNAS 2009; software STRUCTURE Pritchard et al. Genetics 2000

- Program STRUCTURE rozdelí populáciu na K subpopulácií (farby)
- Každý stĺpec je jedinec z populácie
- Pomer farieb zodpovedá pomeru SNPov z každej z K populácií

Ako funguje STRUCTURE?

- **Vstup:** Vzorka haplotypov X , ktorú chceme rozdeliť do K subpopulácií
- Definujeme stochastický model s nasledujúcimi premennými:
 - $P_{i,j}$ - frekvencia SNPu j v subpopulácii i
 - Q_i - aká časť SNPov v haplotype i patrí ku ktorej subpopulácii
 - $Z_{i,j}$ - priradenie subpopulácie SNPu j v haplotype i
- Model definuje $\Pr[X | P, Q, Z]$ a apriórne rozdelenie pre P, Q
- **Výstup:** $E[Q | X]$

Algoritmus Markov Chain Monte Carlo (MCMC)

- Premenné:
 - $P_{i,j}$ - frekvencia SNPu j v populácii i
 - $Z_{i,j}$ - priradenie subpopulácie SNPu j v haplotype i
 - Q_i - aká časť SNPov v haplotype i patrí ku ktorej populácii
- Začni s hodnotami $P^{(0)}, Z^{(0)}, Q^{(0)}$. V každej ďalšej iterácii získame novú náhodnú vzorku:
 - Vyber náhodnú vzorku $P^{(i)}, Q^{(i)}$ z distribúcie $\Pr(P, Q | X, Z^{(i-1)})$
 - Vyber náhodnú vzorku $Z^{(i)}$ z distribúcie $\Pr(Z | X, P^{(i)}, Q^{(i)})$
- Pre vhodné m, c , priemer postupnosti

$$Q^{(m)}, Q^{(m+c)}, Q^{(m+2c)}, \dots$$

konverguje k hodnote $E[Q | X]$

Zhrnutie

- **SNPy (single nucleotide polymorphisms)** priebežne vznikajú a zanikajú v populáciách
- Ich frekvencia ovplyvnená navyše prirodzeným výberom
- Bez rekombinácie korelácia medzi SNPmi na tom istom chromozóme (**linkage disequilibrium**)
- Rekombinácie vytvárajú v genóme LD bloky
- Prítomnosť LD blokov vplýva na výsledky mapovania asociácií znakov (**whole-genome association mapping**)
- Pravdepodobnostné modely veľkosti LD blokov, frekvencií alel, heterozygocity a pod. nám môžu veľa prezradiť o **histórii populácie**
- Pri analýzach treba brať do úvahy **štruktúru populácie**, ktorú možno odhadnúť pomocou výpočtových metód

Ďalšie typy polymorfizmov

- **Krátke indely**
- **Mikrosatelity a minisatelity** (jednoduché krátke opakujúce sa sekvencie)
13 lokusov ako štandardný “odtlačok” pre porovnávanie DNA vzoriek na súdoch v USA
- **Transpozóny** (Alu, LINE, SINE)
Alu má cca milión kópií, cca 1 nová kópia na 20 novorodencov
- **Veľké úseky s variabilnou multiplicitou** (Large scale copy number variations)

