Genetische Statistik

Präsenzübung 6: Visualisierung statistischer Konzepte

Dr. Janne Pott (janne.pott@uni-leipzig.de)

December 07, 2021

Fragen

Gibt es Fragen zu

- Vorlesung?
- Übung?
- Seminar?

Plan heute

Besprechung von RBlatt 4

- Verwandtschaft
- XY-Plots
- PCA

Anschließend / Falls noch Zeit

- Blatt 4 - A2 (Heritabilität)
- Blatt 4 - A1 (Populationsgenetik)

Abschnitt 1

Verwandtschaft

Aufgabe 1: Verwandtschaft - Hintergrund (1)

Paarweise Schätzung von Verwandtschaft:

$$\hat{k}_{i,j} = \frac{1}{M} \sum_{m=1}^{M} \frac{(g_{m,i} - 2 * p_{m,B})(g_{m,j} - 2 * p_{m,B})}{4 * p_{m,B} * p_{m,A}}$$

mit

- M als Anzahl der betrachteten biallelischen SNPs (Allel A und B)
- $p_{m,B}$ als Allelfrequenz des SNPs m bezüglich Allel B
- $g_{m,i}$ als Genotyp des SNPs m von Person i bezüglich Allel B

Aufgabe 1: Verwandtschaft

a) Verwandtschaftsmatrix mittels Matrix-Operation bestimmen. Stimmt dieses Produkt mit K überein?

b) Warum gilt:

$$\hat{k}_{i,i} \approx 0.5$$

c) Wie viele paarweise Verwandtschaften (von Grad 1,2, ... , unverwandt) beobachten Sie?

d) Welche Familienstruktur könnte die beobachteten Verwandtschaftsbeziehungen erklären?

Aufgabe 1: Verwandtschaft - Lösung a

```
n=ncol(genotypes)
m=nrow(genotypes)
h=(genotypes-matrix(2*allelfreq,m,n))/
  sqrt(m*matrix(4*allelfreq*(1-allelfreq),m,n))
H=t(h)%*%(h)

table(round(H,4)==round(K,4))
```

```
##
## TRUE
##  100
```

Aufgabe 1: Verwandtschaft - Lösung a & b

- H und K sind identisch.
- Für die paarweise Verwandtschaft braucht man nur die obere Dreiecksmatrix.
- Auf der Diagonalen selbst sollte immer 0.5 stehen, das ist für den Kinship-Schätzer Identität oder eineigige Zwillinge.

$k_{i,j}$	Interpretation
0.5	Eineigige Zwillinge / Identität
0.25	erstgradige Verwandtschaft (z.B. Eltern-Kind, Geschwister)
0.125	zweitgradige Verwandtschaft (z.B. Halbgeschwister, Großeltern-Enkel, Onkel/Tante-Nichte/Neffe)

Aufgabe 1: Verwandtschaft - Lösung c

Anzahl Verwandtschaften:

- n-gradig: 18 unverwandte Paare
- 2-gradig: 12 mal Großeltern-Enkel, Onkel/Tante-Nichte/Neffe oder Halbgeschwister
- 1-gradig: 15 mal Eltern-Kinder oder Geschwister

Aufgabe 1: Verwandtschaft - Lösung c

Tabelle 2: Kinship Schätzer

	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	
S1	0.496	-0.002	0.001	-0.002	0.243	0.243	0.245	0.248	0
S2	NA	0.501	0.000	0.001	0.244	0.245	-0.002	-0.002	0
S3	NA	NA	0.500	-0.003	-0.001	-0.002	0.247	0.252	-0
S4	NA	NA	NA	0.500	0.000	0.001	-0.001	-0.003	0
S5	NA	NA	NA	NA	0.488	0.238	0.120	0.119	0
S6	NA	NA	NA	NA	NA	0.490	0.121	0.120	0
S7	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0.492	0.244	0
S8	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0.498	0
S9	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0
S10	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	

Aufgabe 1: Verwandtschaft - Lösung c

Tabelle 3: Verwandschaftsgrade

	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10
sample1	NA	0	0	0	1	1	1	1	1	1
sample2	NA	NA	0	0	1	1	0	0	0	0
sample3	NA	NA	NA	0	0	0	1	1	0	0
sample4	NA	NA	NA	NA	0	0	0	0	1	1
sample5	NA	NA	NA	NA	NA	1	2	2	2	2
sample6	NA	NA	NA	NA	NA	NA	2	2	2	2
sample7	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1	2	2
sample8	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	2	2
sample9	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1
sample10	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA

Aufgabe 1: Verwandtschaft - Lösung d

Interpretation 1: Ein Vater (1) hat mit drei verschiednen Müttern (2, 3, 4) je zwei Kindern (5 - 10).

Interpretation 2: Eine Mutter (1) hat mit drei verschiednen Vätern (2, 3, 4) je zwei Kindern (5 - 10).

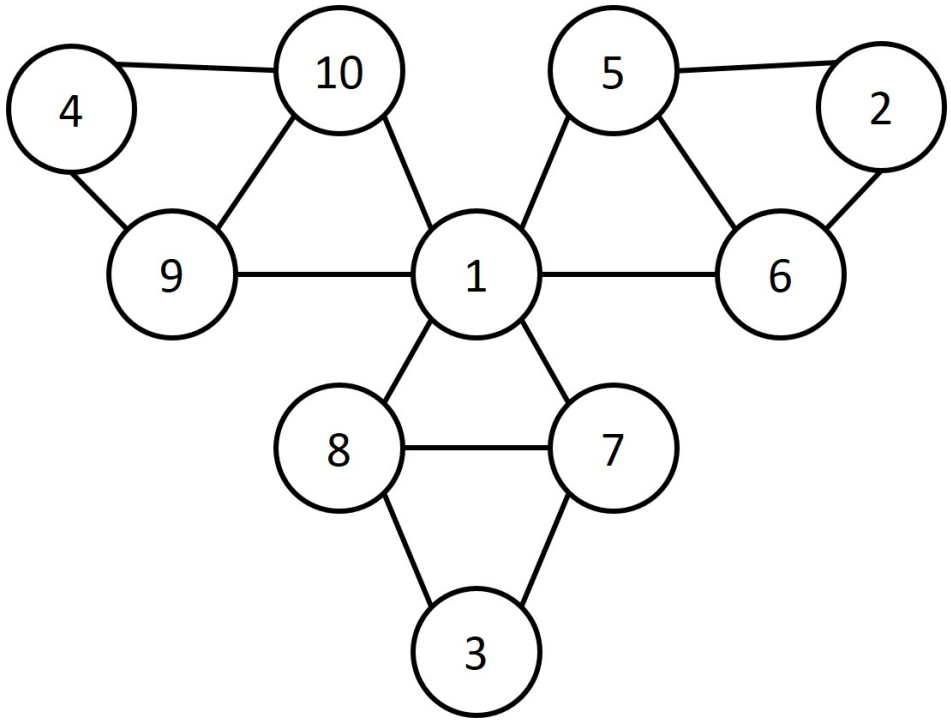


Abbildung 1: Graphische Darstellung der Verwandtschaftsbeziehungen

Abschnitt 2

XY-Plot

Aufgabe 2: XY-Plot - Hintergrund (1)

In genetischen Studien gibt es zwei Quellen für das Geschlecht:

- Datenbankgeschlecht: wie im Fragebogen angegeben, insbesondere auch divers
- Genetisches Geschlecht: im Genotyp-Calling bestimmt (Intensität der SNPs auf Chr. X & Y)

Mit dem XY-Plots kann man Probenvertauschungen und genetische Ausreißer entdecken. Grundannahmen:

- Intensität von X-SNPs in Frauen doppelt so stark wie in Männern
- Intensität von Y-SNPs in Frauen nur Hintergrundrauschen
- Heterozygotenrate in Frauen etwa 25%, in Männern 0%

Aufgabe 2: XY-Plot

a) Gesamtintensitäten pro Sample für X und Y bestimmen

b) Plots:
   i. X-Intensität – Y-Intensität
   ii. X-Intensität – X-Heterozygosität
   iii. Y-Intensität – X-Heterozygosität

Aufgabe 2: XY-Plot - Lösung a)

```
# Mittelwert pro SNP und Sample
all<-seq(from=1,to=dim(intent)[1],by=2)
data.a<-intent[all,]
data.b<-intent[all+1,]
dataInt<-(data.a+data.b)/2

# mittlere Intensitäten pro Chromosom
dataIntX<-dataInt[,1:200]
dataIntY<-dataInt[,201:300]
IntX<-rowMeans(dataIntX)
IntY<-rowMeans(dataIntY)

# Normierung der Intensitäten nach dem 75%-Quantil
IntX2<-IntX/boxplot(IntX,plot=F)$stats[4]
IntY2<-IntY/boxplot(IntY,plot=F)$stats[4]

myDat<-data.frame(samples,IntX,IntY,IntX2,IntY2,heteroRate)
```

Aufgabe 2: XY-Plot - Lösung a)

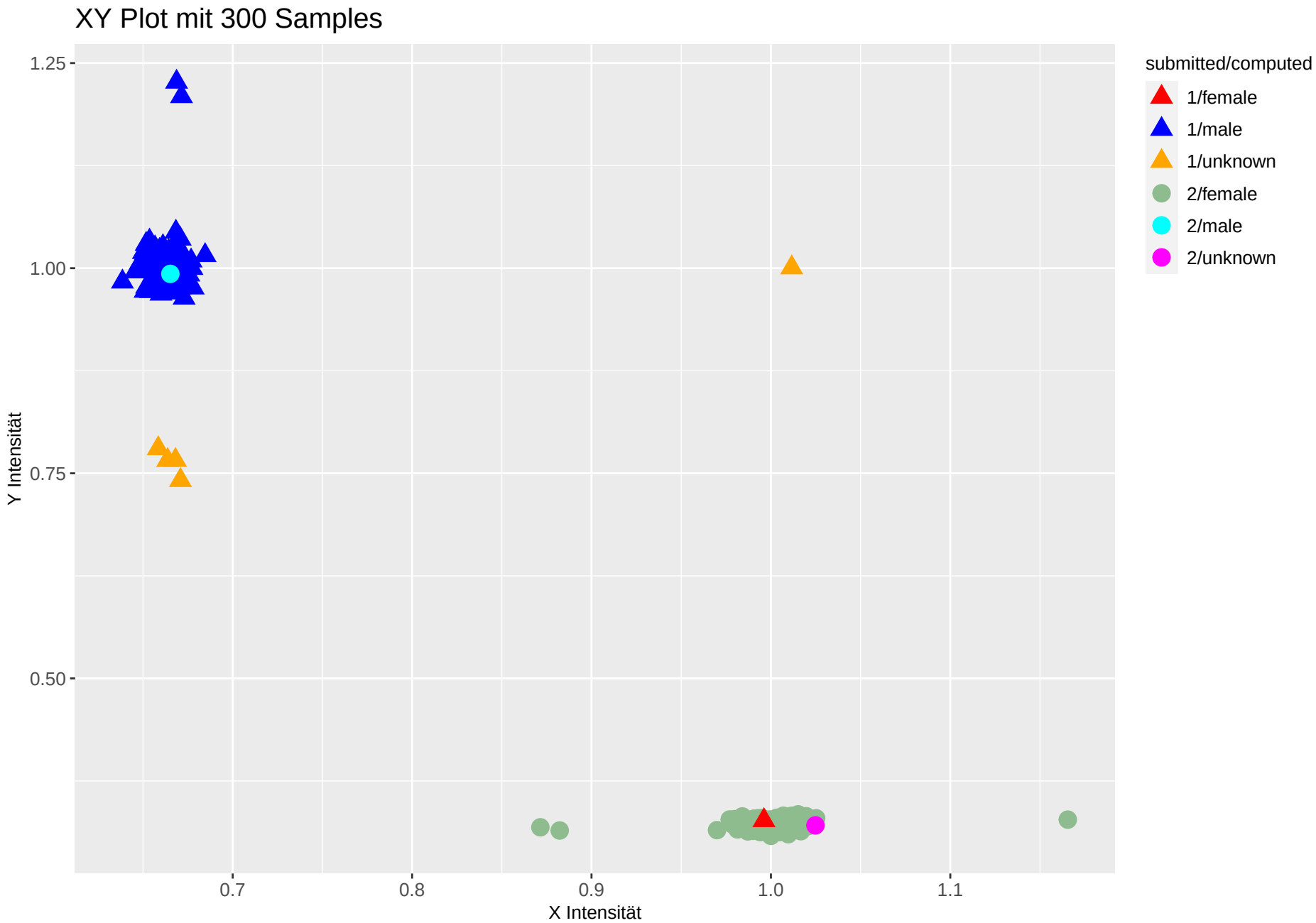
	sampleID	sex_datenbank	sex_computed	IntX
1:intA	1	male	male	779.373
2:intA	2	female	female	1164.601
3:intA	3	male	male	780.787

	IntY	IntX2	IntY2	heteroRate
1:intA	973.7237	0.6709741	0.9872946	0.00
2:intA	316.1990	1.0026228	0.3206059	0.22
3:intA	1003.1133	0.6721914	1.0170938	0.00

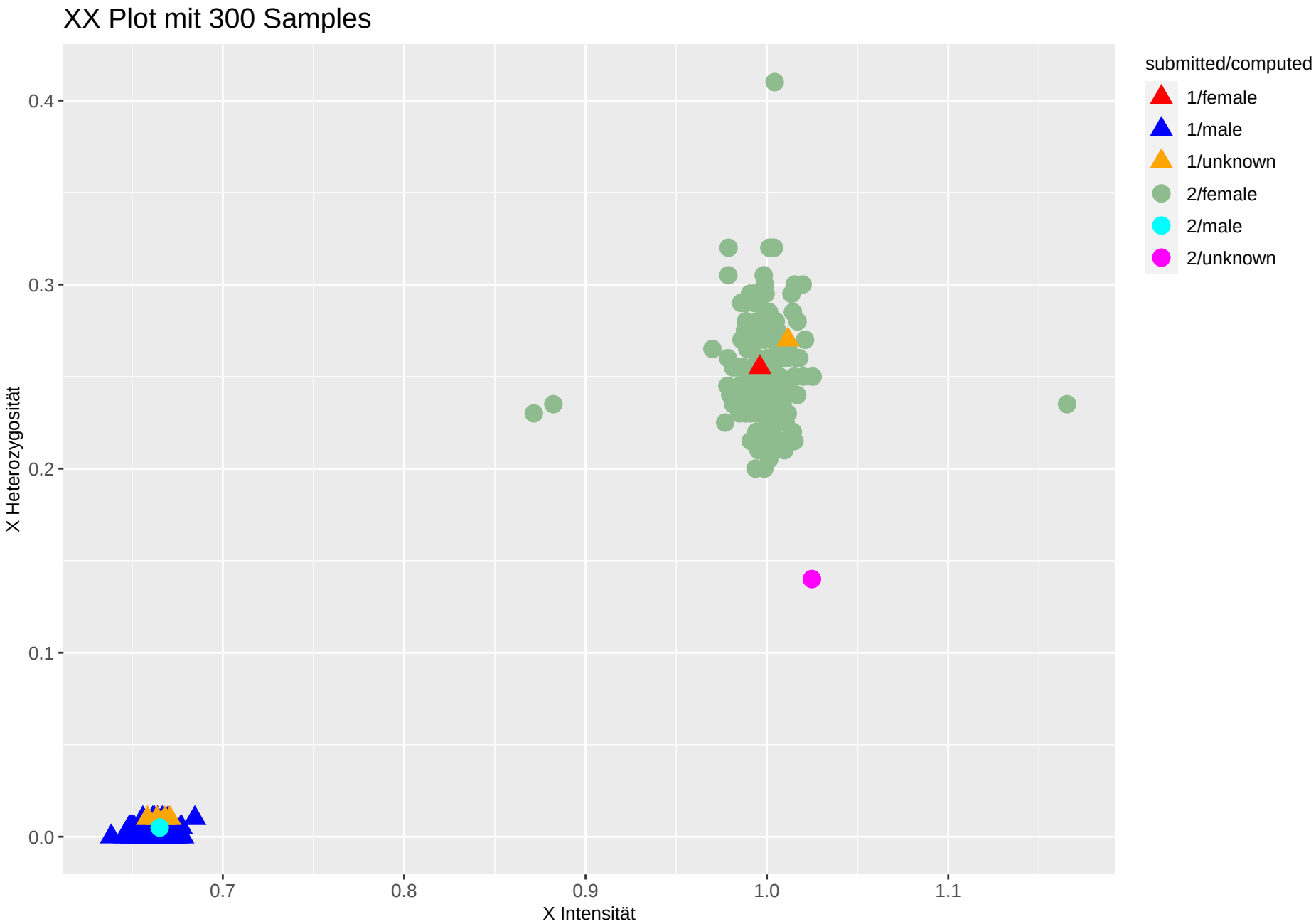
Aufgabe 2: XY-Plot - Lösung c)

```
myPlot1 <- ggplot() +
  geom_point(data=myDat,aes(x=IntX2,y=IntY2,color=sexLabel,
                            shape=sexLabel),size=4) +
  xlab("X Intensität") + ylab("Y Intensität") +
  ggtitle("XY Plot mit 300 Samples") +
  scale_colour_manual(name="submitted/computed",
                      values=c("red","blue","orange",
                               "darkseagreen","cyan","magenta")) +
  scale_shape_manual(name="submitted/computed",
                     values=c(17,17,17,19,19,19)) +
  theme(legend.justification=c(1,1),
        legend.text=element_text(size=10),
        legend.title=element_text(size=10)) +
  theme(axis.text=element_text(size=10),
        axis.title=element_text(size=10),
        plot.title=element_text(size=15))
```

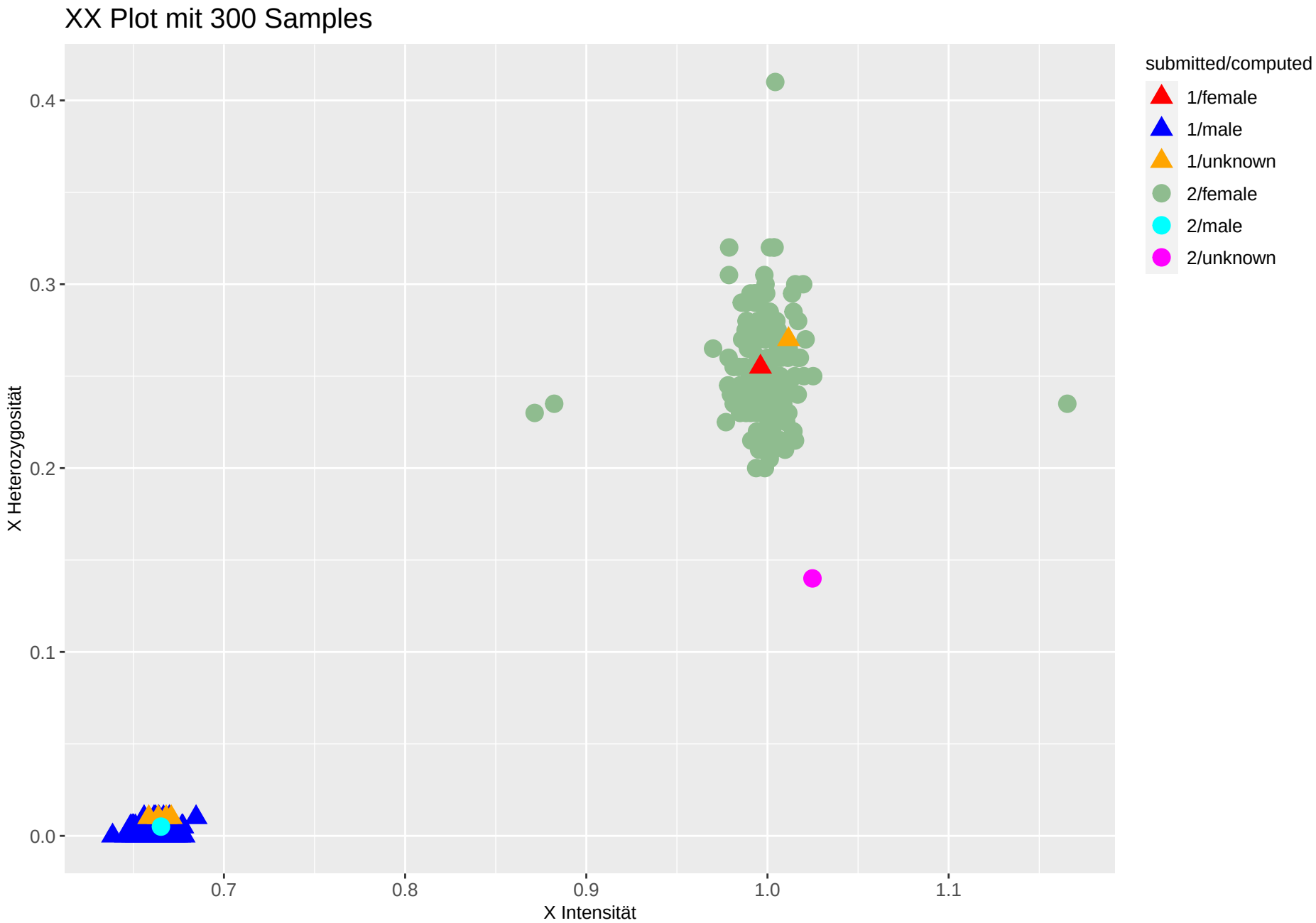
Aufgabe 2: XY-Intensity Plot



Aufgabe 2: X-Intensity-Heterozygosity Plot



Aufgabe 2: Y-Intensity-Heterozygosity Plot



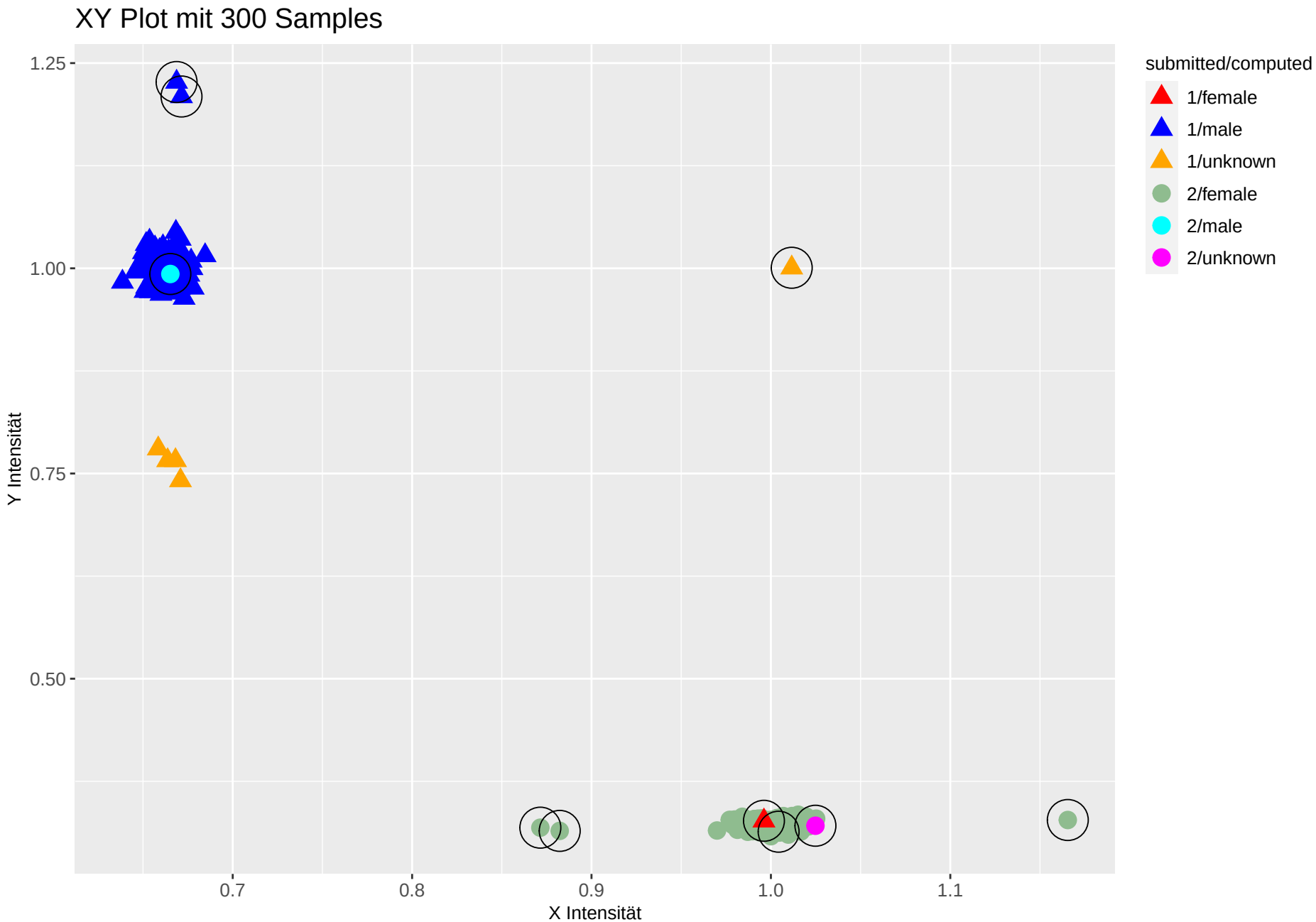
Aufgabe 2: XY-Plots - Lösung b)

Man kann folgende Ausreißer erkennen:

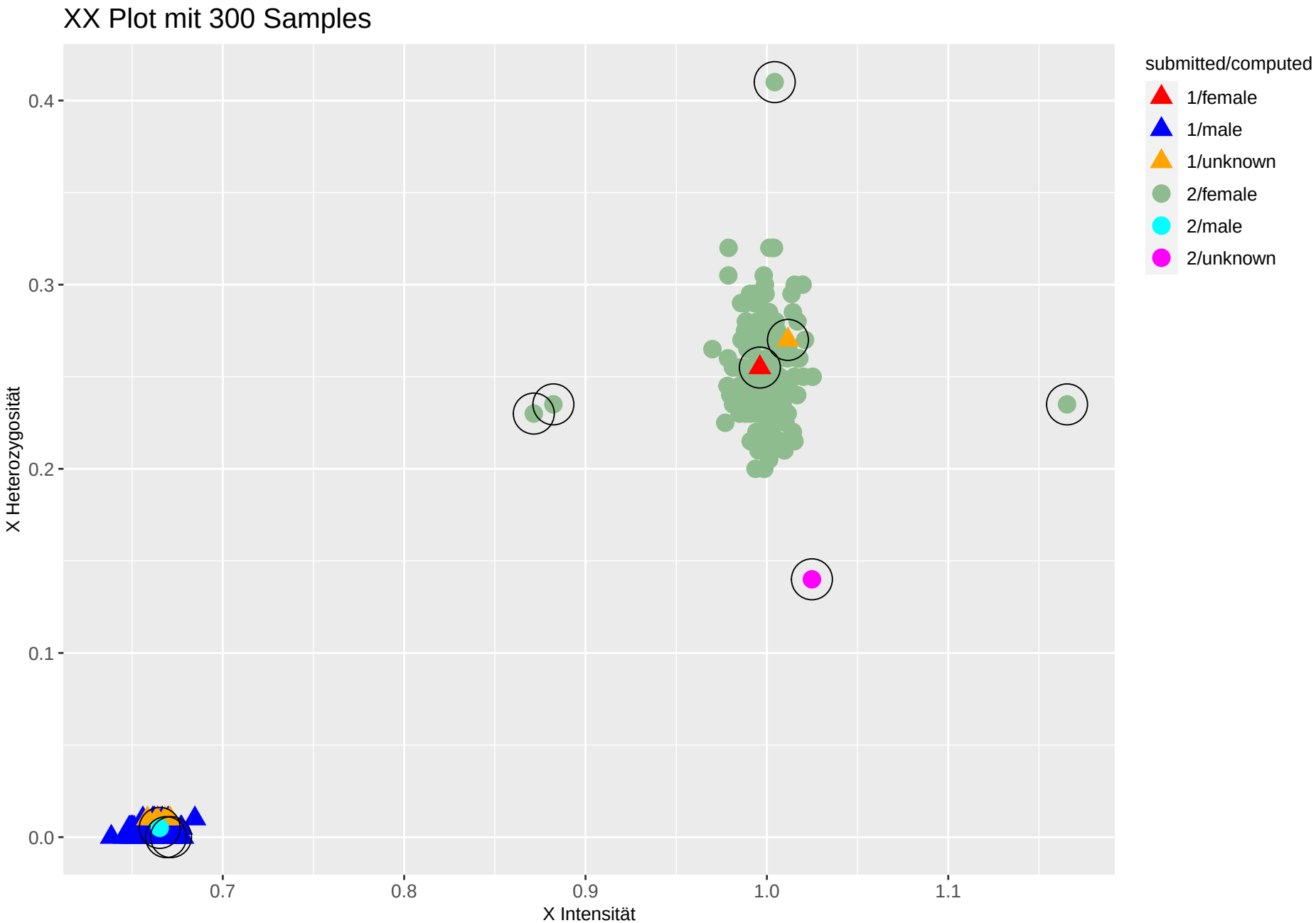
1) Frauen mit zu hoher oder zu niedriger X-Intensität (Mono-X oder Triple-X Frauen)
2) Männer mit zu hoher Y-Intensität (Doppel-Y Männer)
3) Männer mit zu hoher X-Intensität (Doppel-X Männer)
4) Frauen mit zu hoher oder zu niedriger X-Heterozygosität
5) Samples mit Sex-Mismatches zwischen Datenbank und Berechnung

1)-4) Samples sollten für gonosomale Analysen gefiltert werden (autosomal ok). 5) Sex-Mismatches müssen immer gefiltert werden, auch für autosomale Analysen!

Aufgabe 2: XY-Intensity Plot



Aufgabe 2: X-Intensity-Heterozygosity Plot



Aufgabe 2: Y-Intensity-Heterozygosity Plot

Abschnitt 3

PCA

PCA 1 - Datenvorbereitung - SNPs filtern

Hinweis: Es sollten am Ende 206,233 SNPs sein!

```
myTab<-read.table("../Exercises_R/data2/mySnps.txt")
rslist<-fread("../Exercises_R/data2/1KG_PCA.bim",
              sep="\t",stringsAsFactors=F)
table(is.element(myTab$V1,rslist$V2))
```

```
##
##   FALSE    TRUE
##   18225  206233
```

```
filt<-is.element(myTab$V1,rslist$V2)
dummy<-as.character(myTab$V1[filt])
write.table(dummy,file="PCA/mySnps_filtered.txt",
            quote=F,row.names=F,col.names=F)
```

PCA 2 - Datenvorbereitung - Samples filtern

```
fam.data<-read.table("../Exercises_R/data2/1KG_PCA.fam",
                     stringsAsFactors=F,sep=" ")
ethno<-substr(fam.data$V2,1,3)
v.ethno<-c("AFR","ASN","EUR")
n.ethno<-min(table(ethno)[v.ethno])
samp.auswahl<-rep(F,length(ethno))
set.seed(2)
for(i in v.ethno){
  samp.auswahl[ethno==i] <-  1:sum(ethno==i) %in%
    sample(sum(ethno==i),n.ethno)
}
table(ethno[samp.auswahl])
```

```
##
## AFR ASN EUR
## 246 246 246
```

PCA 2 - Datenvorbereitung - Samples filtern

Hinweis: Es sollten am Ende 3*246 Individuen sein!

```
fam.data.restr<-fam.data[samp.auswahl,]

write.table(fam.data.restr,file="PCA/mySamples.txt",
            quote=F,row.names=F,col.names=F)
```

PCA 3 - Datenvorbereitung - SNPs prunen

Hinweis: Es sollten am Ende 117,351 SNPs sein.

```
call1<-paste(plink_call,
             "--bfile ../Exercises_R/data2/1KG_PCA",
             "--extract PCA/mySnps_filtered.txt",
             "--keep PCA/mySamples.txt",
             "--indep-pairwise 50 5 0.2",
             "--out PCA/pruning_filter",
             sep=" ")
system(call1)
```

PCA 4 - Datenvorbereitung - Datensatz erstellen

```
call2<-paste(plink_call,
             "--bfile ../Exercises_R/data2/1KG_PCA",
             "--extract PCA/pruning_filter.prune.in",
             "--keep PCA/mySamples.txt",
             "--make-bed",
             "--out PCA/pruned_data",
             sep=" ")
system(call2)
```

PCA 5 - Eigentliche PCA berechnen

```
call3<-paste(plink_call,
             "--bfile PCA/pruned_data",
             "--pca",
             "--out PCA/pca_out",
             sep=" ")
system(call3)
```

PCA 6 - PCA auswerten

```
pca2values<-read.table("PCA/pca_out.eigenval")$V1
pca2vector<-read.table("PCA/pca_out.eigenvec",
                       stringsAsFactors=F,sep="\t")

(pca2values[1])/sum(pca2values)
```

```
## [1] 0.50733
```

```
(pca2values[1]+pca2values[2])/sum(pca2values)
```

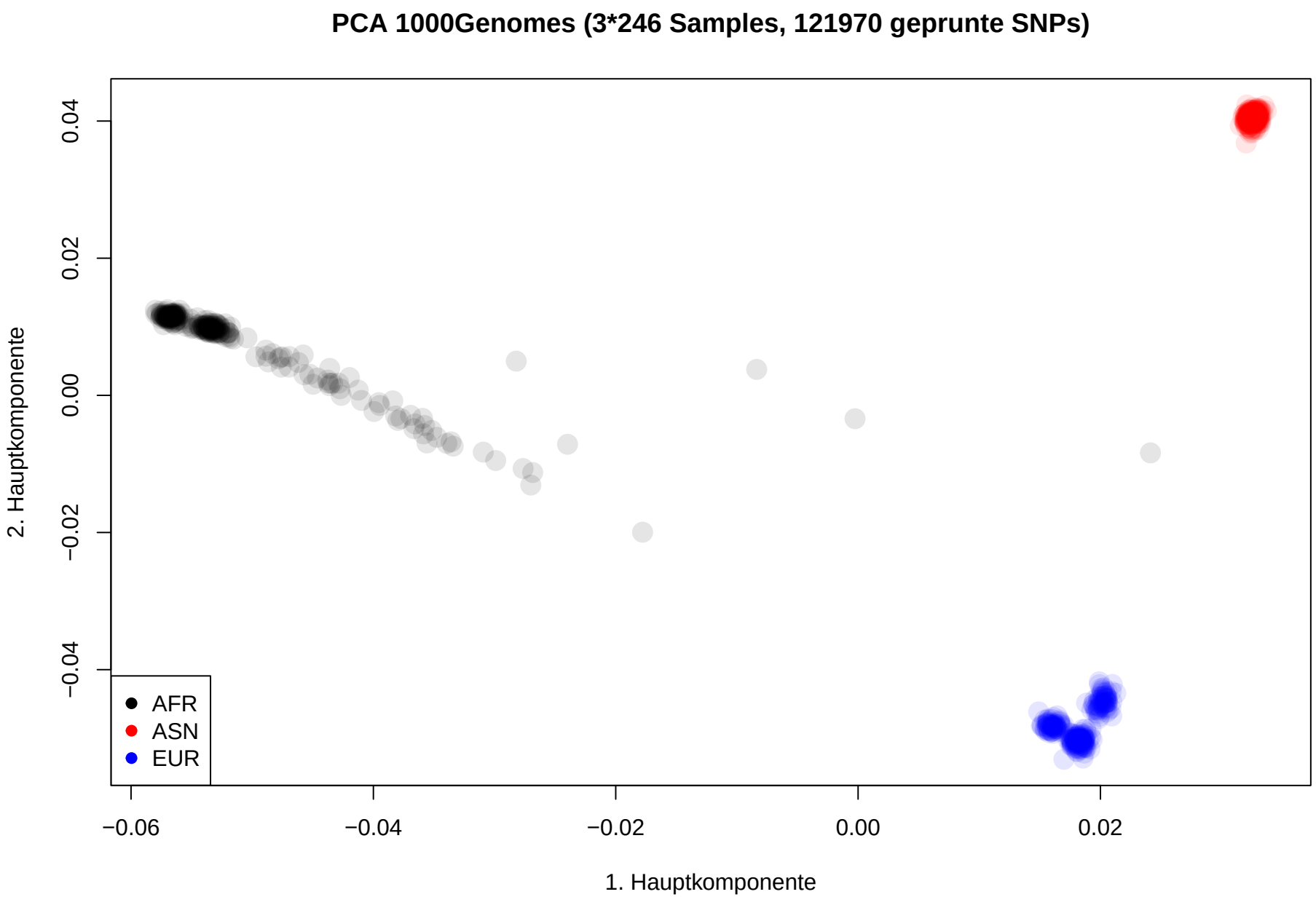
```
## [1] 0.8610275
```

```
xmin<-min(pca2vector[,3]);xmax<-max(pca2vector[,3])
ymin<-min(pca2vector[,4]);ymax<-max(pca2vector[,4])
```

PCA 6 - PCA Plot der ersten 2 EVs

```
myMain1="PCA 1000Genomes (3*246 Samples, 121970 geprunte SNPs)
plot(0,0,col="white",xlim=c(xmin,xmax),ylim=c(ymin,ymax),
     main=myMain1,
     xlab="1. Hauptkomponente",ylab="2. Hauptkomponente")
lines(pca2vector[substr(fam.data.restr$V2,1,3)=="AFR",c(3,4)],
      col=alpha("black",0.1),type="p",pch=19,cex=1.9)
lines(pca2vector[substr(fam.data.restr$V2,1,3)=="ASN",c(3,4)],
      col=alpha("red",0.1),type="p",pch=19,cex=1.9)
lines(pca2vector[substr(fam.data.restr$V2,1,3)=="EUR",c(3,4)],
      col=alpha("blue",0.1),type="p",pch=19,cex=1.9)
legend("bottomleft",legend=v.ethno,col=c("black","red","blue")
```

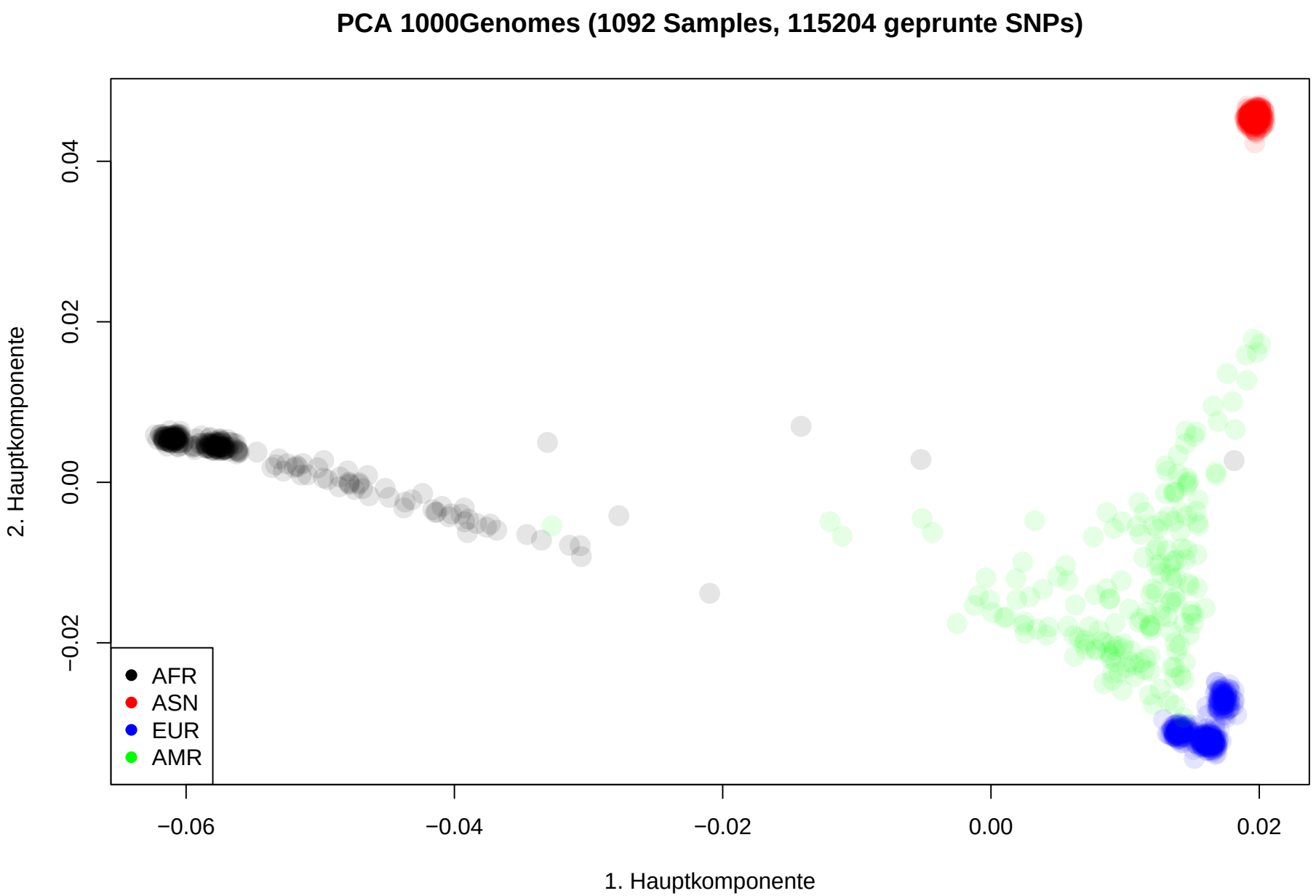
PCA 6 - PCA Plot der ersten 2 EVs



PCA - Interpretation

- Die ersten zwei Haupkomponenten trennen die Ethnien auf.
- Beide Vektoren erklären etwa 78% der Varianz in den Genetik-Daten.
- Wenn man das ganz für alle Samples wiederholt erklären die ersten beiden Eigenwerte 84% der genetischen Varianz.

PCA - Alle Samples



Abschnitt 4

Heritabilität

Heritabilität - Definition

Heritabilität: Anteil der Varianz eines Merkmals, der durch die Genetik erklärt wird. Beantwortet in wie fern Gene den Unterschied (Varianz) einer Eigenschaft erklären, **NICHT** welche Gene die Eigenschaft beeinflussen.

$$h^2 = \frac{Var(Genetik)}{Var(Merkmal)} = \frac{Var(Gen.)}{Var(Gen.) + Var(Umw.) + 2 \cdot Cov(Gen., Umw.)}$$

Einfachste Methode zur Bestimmung von h^2: Zwillingsstudie & Falconers Formel $h^2 = 2 \cdot (r(MZ) - r(DZ))$ (Vergleich der Merkmalskonkordanz zwischen monozygoten (MZ) und dizygoten (DZ) Zwilligen).

Alternative: GCTA, LDHub

Heritabilität - Aussage 1

a) Falls eine Person die Veranlagung einer Krankheit hat, die eine Heritabilität von 1 besitzt, wird diese Person auch die Krankheit erleiden.

Heritabilität - Aussage 1

a) Falls eine Person die Veranlagung einer Krankheit hat, die eine Heritabilität von 1 besitzt, wird diese Person auch die Krankheit erleiden.

Fast immer falsch. Bsp. Phenylketonurie (PKU, angeborene Stoffwechselstörung, autosomal-rezessiv, $>$400 Mutationen im Gen Phenylalaninhydroxylase bekannt, Mutationen beeinflussen das Ausmaß der Aktivitätseinschränkung) – hat Heritabilität 1, aber bei geeigneter Diät bricht die Krankheit nicht aus.

Heritabilität - Aussage 2

b) Die Heritabilität Finger an jeder Hand zu haben ist 1 (oder fast 1).

Heritabilität - Aussage 2

b) Die Heritabilität Finger an jeder Hand zu haben ist 1 (oder fast 1).

Falsch, sie liegt nahe bei 0. Ursache ist hier fast immer Fehlbildungen aufgrund Medikamente / andere Substanzen in der Embryonalphase („Teratogens“) oder Unfälle im Erwachsenenalter

Heritabilität - Aussage 3

c) Die Begriffe „Heritabilität“ und „ererbt“ bedeuten fast das Gegenteil.

Heritabilität - Aussage 3

c) Die Begriffe „Heritabilität“ und „ererbt“ bedeuten fast das Gegenteil.

Richtig. Je mehr ein Merkmal ererbt wird, desto niedriger ist dessen Heritabilität.

Heritabilität - Aussage 4

d) In Amerika der 1950er Jahre war die Heritabilität für das Tragen von Ohrringen sehr hoch.

Heritabilität - Aussage 4

d) In Amerika der 1950er Jahre war die Heritabilität für das Tragen von Ohrringen sehr hoch.

Richtig. Fast nur Frauen haben in dieser Zeit Ohrringe getragen –> stellt quasi die Heritabilität vom Geschlecht dar.

Heritabilität - Aussage 5

e) Die Heritabilität von eineiigen Zwillingen ist 1.

Heritabilität - Aussage 5

e) Die Heritabilität von eineiigen Zwillingen ist 1.

Falsch, sie haben eine Heritabilität von 0. Jede Variation kommt durch die Umwelt zustande.

Heritabilität - Aussage 6

f) Je mehr sich die Umwelt für verschieden Populationen mit unterschiedlicher Heritabilität angleicht, desto höher wird die (Gesamt-)Heritabilität.

Heritabilität - Aussage 6

f) Je mehr sich die Umwelt für verschieden Populationen mit unterschiedlicher Heritabilität angleicht, desto höher wird die (Gesamt-)Heritabilität.

Richtig. Je ähnlicher die Umwelt wird, desto niedriger wird deren Varianz und der Anteil der Genetik steigt.

Abschnitt 5

Populationsgenetik

Populationsgenetik - Aufgabe

a) Bestimmung von p_i und q_i
b) Berechnung von Inzuchtskoeffizient F_i
c) Warum Varianz = Heterozygosität?
d) Bestimmung von H_I, H_S und H_T
e) Berechnung des Fixationsindex $F_S T$
f) Interpretation

Genotyp	AA	AB	BB
Population 1	125	250	125
Population 2	50	30	20
Population 3	100	500	400

Populationsgenetik - Lösung a)

$$p = \begin{pmatrix} (2AA_1 + AB_1)/2n_1 \\ (2AA_2 + AB_2)/2n_2 \\ (2AA_3 + AB_3)/2n_3 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 500/1000 \\ 130/200 \\ 700/2000 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 0.5 \\ 0.65 \\ 0.35 \end{pmatrix}, q = 1-p = \begin{pmatrix} 0.5 \\ 0.35 \\ 0.65 \end{pmatrix}$$

$$\begin{aligned} \bar{p} &= \frac{2 \cdot (AA_1 + AA_2 + AA_3) + (AB_1 + AB_2 + AB_3)}{2 \cdot (n_! + n_2 + n_3)} \\ &= \frac{2 \cdot 275 + 780}{2 \cdot 1600} = 0.416 \\ \bar{q} &= 0.584 \end{aligned}$$

Populationsgenetik - Lösung b)

Beobachtete Heterozygosität:

$$p_{obs}(AB) = \begin{pmatrix} AB_1/n_1 \\ AB_2/n_2 \\ AB_3/n_3 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 250/500 \\ 30/100 \\ 500/1000 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 0.5 \\ 0.3 \\ 0.5 \end{pmatrix}$$

Erwartete Heterozygosität:

$$p_{exp}(AB) = 2 \cdot p \cdot q = \begin{pmatrix} 2 \cdot 0.5 \cdot 0.5 \\ 2 \cdot 0.65 \cdot 0.35 \\ 2 \cdot 0.35 \cdot 0.65 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 0.5 \\ 0.455 \\ 0.455 \end{pmatrix}$$

Inzuchtskoeffizient:

$$F = \frac{p_{exp}(AB) - p_{obs}(AB)}{p_{exp}(AB)} = \begin{pmatrix} (0.5 - 0.5)/0.5 \\ (0.455 - 0.3)/0.455 \\ (0.455 - 0.5)/0.455 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 0 \\ 0.34 \\ -0.10 \end{pmatrix}$$

Populationsgenetik - Lösung c)

- Binomialverteilung $B(k|n,p)$:
- Allel A zählt als Erfolg, Allel B als Misserfolg.
- n=2, weil pro Genotyp zweimal gezogen
- Erfolgswahrscheinlichkeit entspricht der Allelfrequenz (p).
- Bei zwei Treffern ($k = 2$) erhält man den Genotyp AA ($P(AA) = B(2|2,p)$)
- Die Varianz unter Bionomialverteilung ist immer $Var(X) = n \cdot p \cdot q = 2pq = p_{exp}(AB)$ im HWE.

Populationsgenetik - Lösung d) & e)

$$H_I = \frac{p^T_{ops} \cdot n}{N_{total}} = \frac{250 + 30 + 500}{1600} = 0.4875$$

$$H_S = \frac{p^T_{exp} \cdot n}{N_{total}} = \frac{0.5 \cdot 500 + 0.455 \cdot 100 + 0.455 \cdot 1000}{1600} = 0.470$$

$$H_T = 2 \cdot \bar{p} \cdot \bar{q} = 0.486$$

$$F_{ST} = 1 - \frac{H_S}{H_T} = 0.034$$

$$F_{IT} = 1 - \frac{H_I}{H_T} = -0.0031$$

Populationsgenetik - Lösung f)

Interpretation:

- Population 1 ist im HWE
- Population 2 hat weniger Heterozygote als erwartet –> Hinweis für *inbreeding* (Inzucht; Verletzung von HWE weil keine zufällige Partnerwahl, sondern eher Verwandte)
- Population 3 hat mehr Heterozygote als erwartet –> Hinweis für *outbreeding* (Auszucht; Verletzung von HWE weil keine zufällige Partnerwahl, sondern alle Verwandten ausgeschlossen)
- Subpopulationen sind für etwa 3.4% der gesamten genetischen Variation verantwortlich
- Die Geamtpopulation zeigt keine Anzeichen für Inzucht

Abschnitt 6

Zusammenfassung

Zusammenfassung

- Warum kann PCA und Verwandtschaft zu Adjustierung auf Stratifikationsbias genutzt werden?
- Welche Ausreißer in einem XY-Plot müssen gefiltert werden?
- Was ist Heritabiliät?