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

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 - Hintergrund (2)

Tabelle 1: Verwandschaftsmatrix mittels Schleife

0.50	0.00	0.00	0.00	0.24	0.24	0.24	0.25	0.25	0.24
0.00	0.50	0.00	0.00	0.24	0.24	0.00	0.00	0.00	0.00
0.00	0.00	0.50	0.00	0.00	0.00	0.25	0.25	0.00	0.00
0.00	0.00	0.00	0.50	0.00	0.00	0.00	0.00	0.25	0.25
0.24	0.24	0.00	0.00	0.49	0.24	0.12	0.12	0.13	0.12
0.24	0.24	0.00	0.00	0.24	0.49	0.12	0.12	0.12	0.12
0.24	0.00	0.25	0.00	0.12	0.12	0.49	0.24	0.12	0.12
0.25	0.00	0.25	0.00	0.12	0.12	0.24	0.50	0.12	0.12
0.25	0.00	0.00	0.25	0.13	0.12	0.12	0.12	0.50	0.25
0.24	0.00	0.00	0.25	0.12	0.12	0.12	0.12	0.25	0.49

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 3: 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 4: 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).

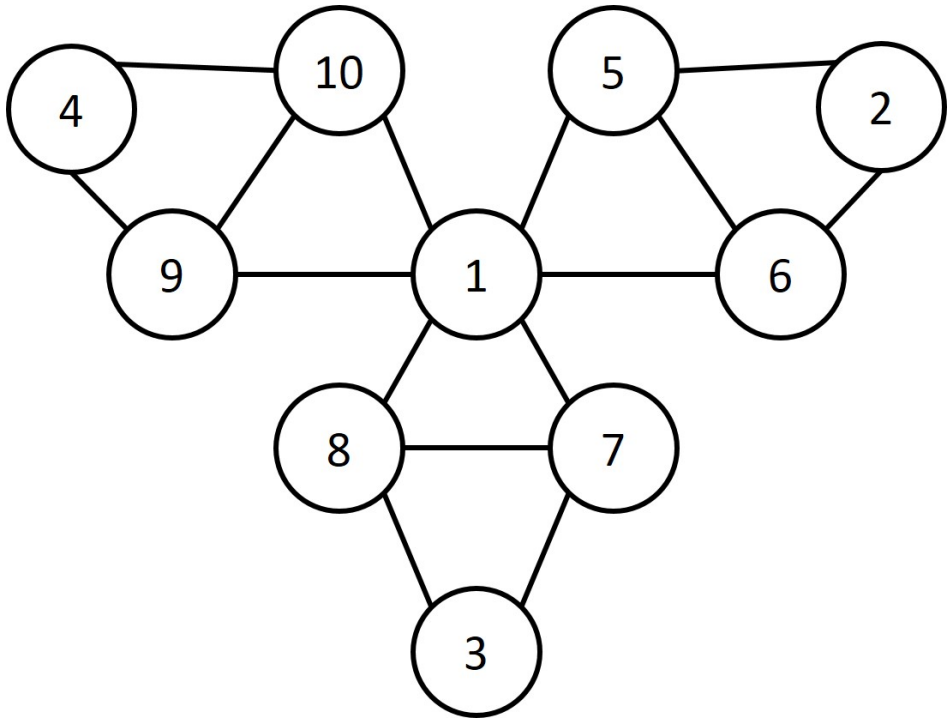


Abbildung 1: Graphische Darstellung der Verwandtschaftsbeziehungen

Aufgabe 1: Verwandtschaft - Zusammenfassung

- Welche Grundannahme ist durch Verwandtschaft verletzt?
- Wie kann das gelöst werden?

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)

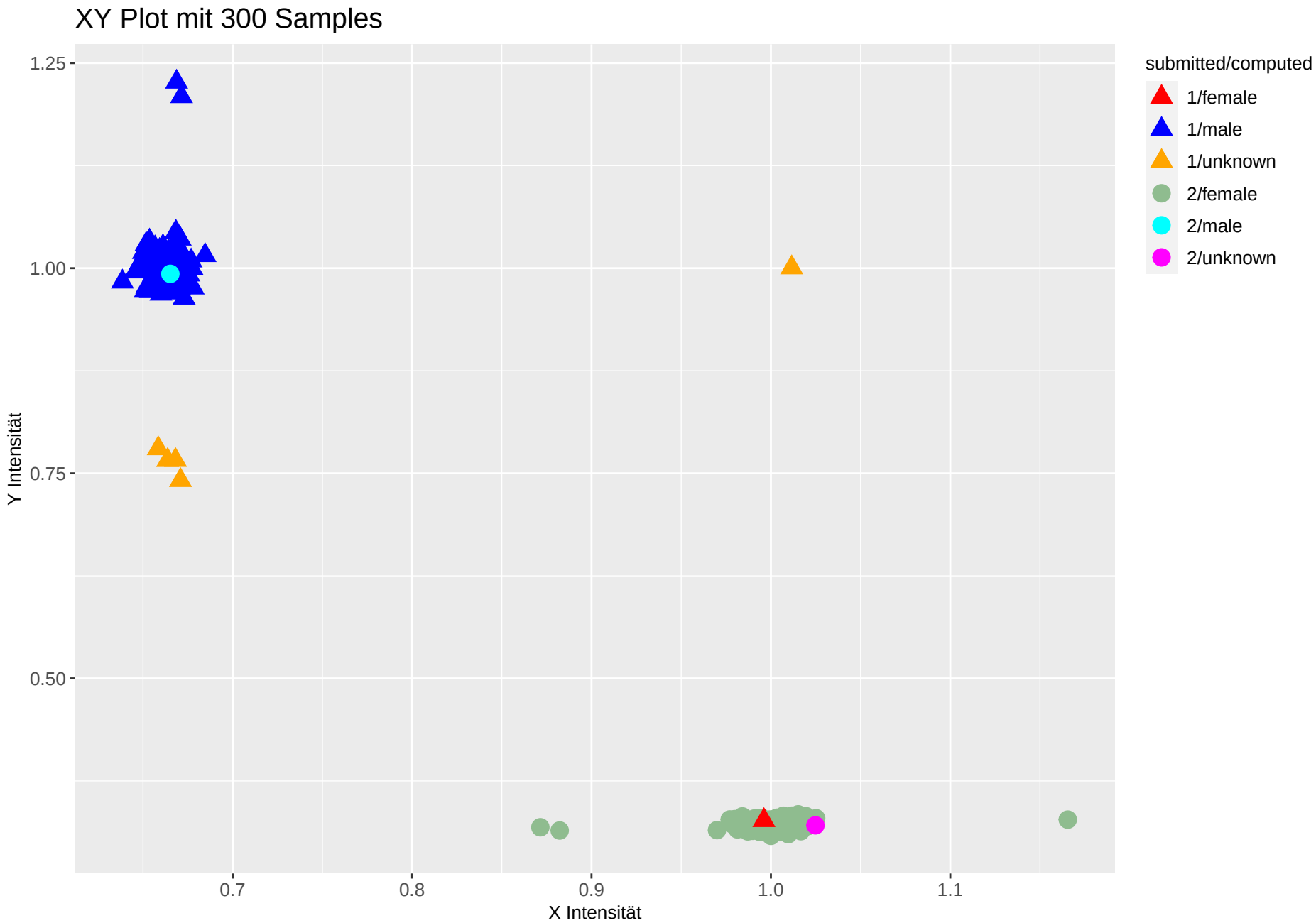
	sampleID	sex_datenbank	sex_computed	IntX
1:intA	1	male	male	779.373
2:intA	2	female	female	1164.601
3:intA	3	male	male	780.787

	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

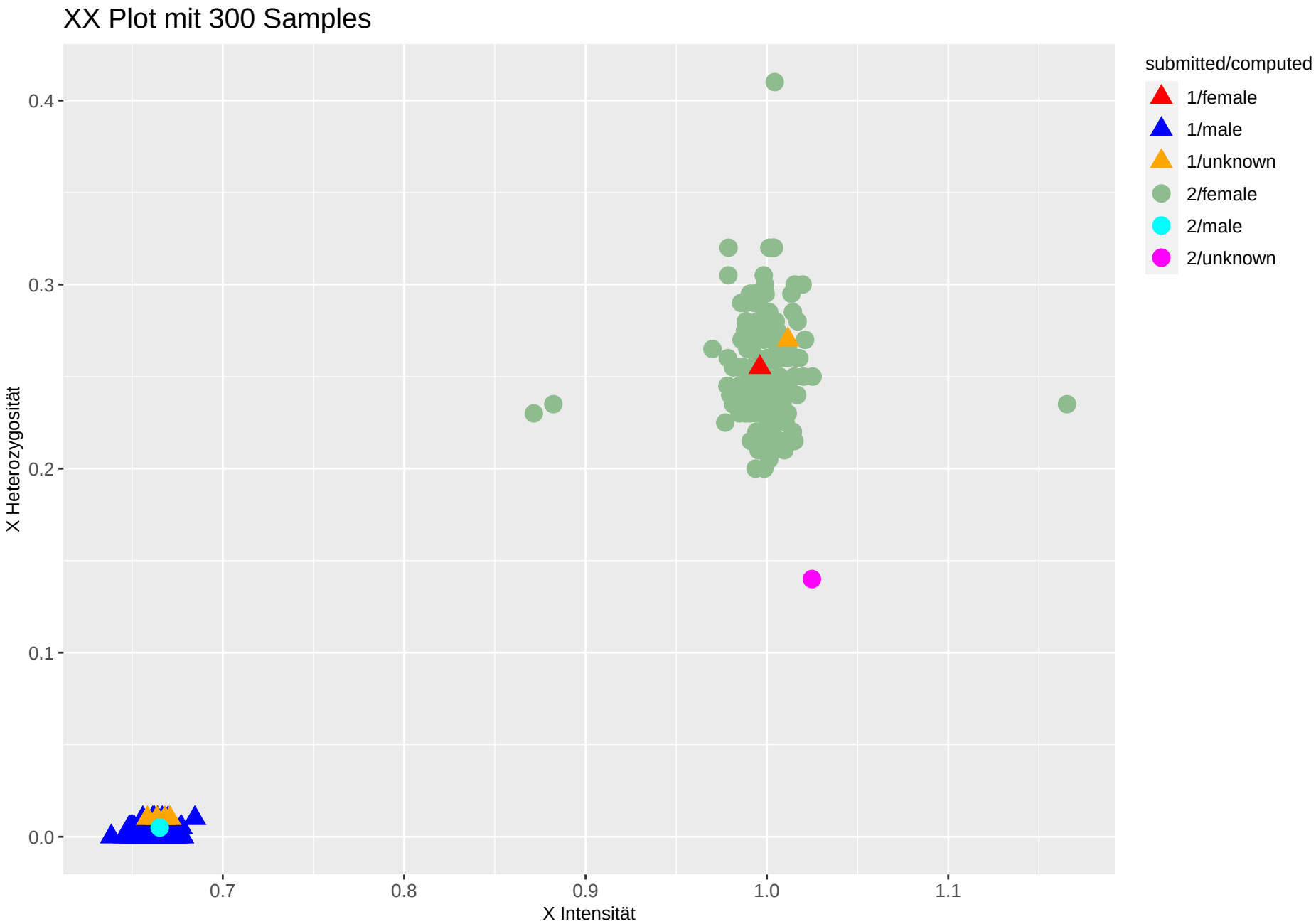
Aufgabe 2: XY-Plot - Lösung c)

```
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))
```

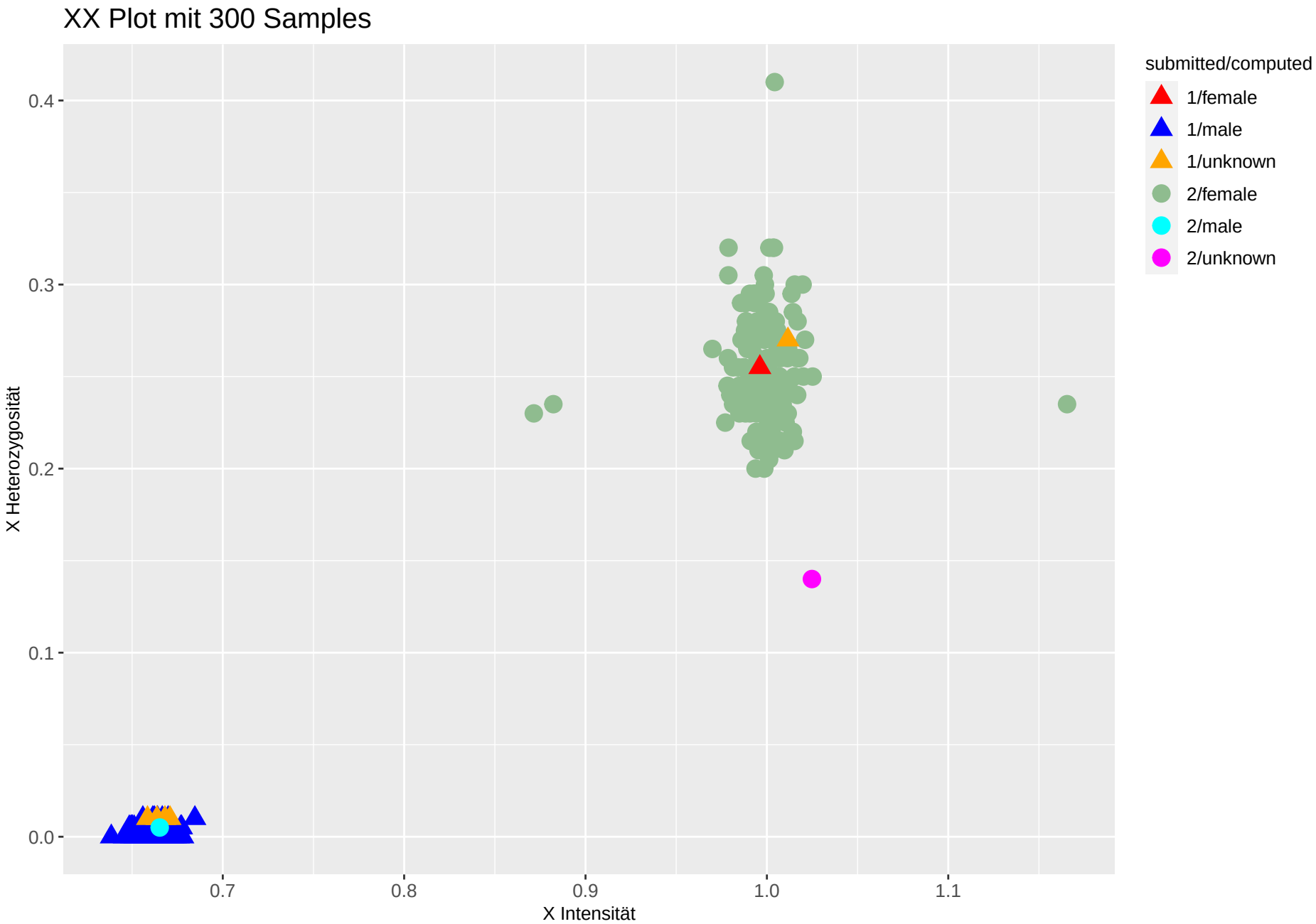
Aufgabe 2: XY-Intensity Plot



Aufgabe 2: X-Intensity-Heterozygosity Plot



Aufgabe 2: Y-Intensity-Heterozygosity Plot



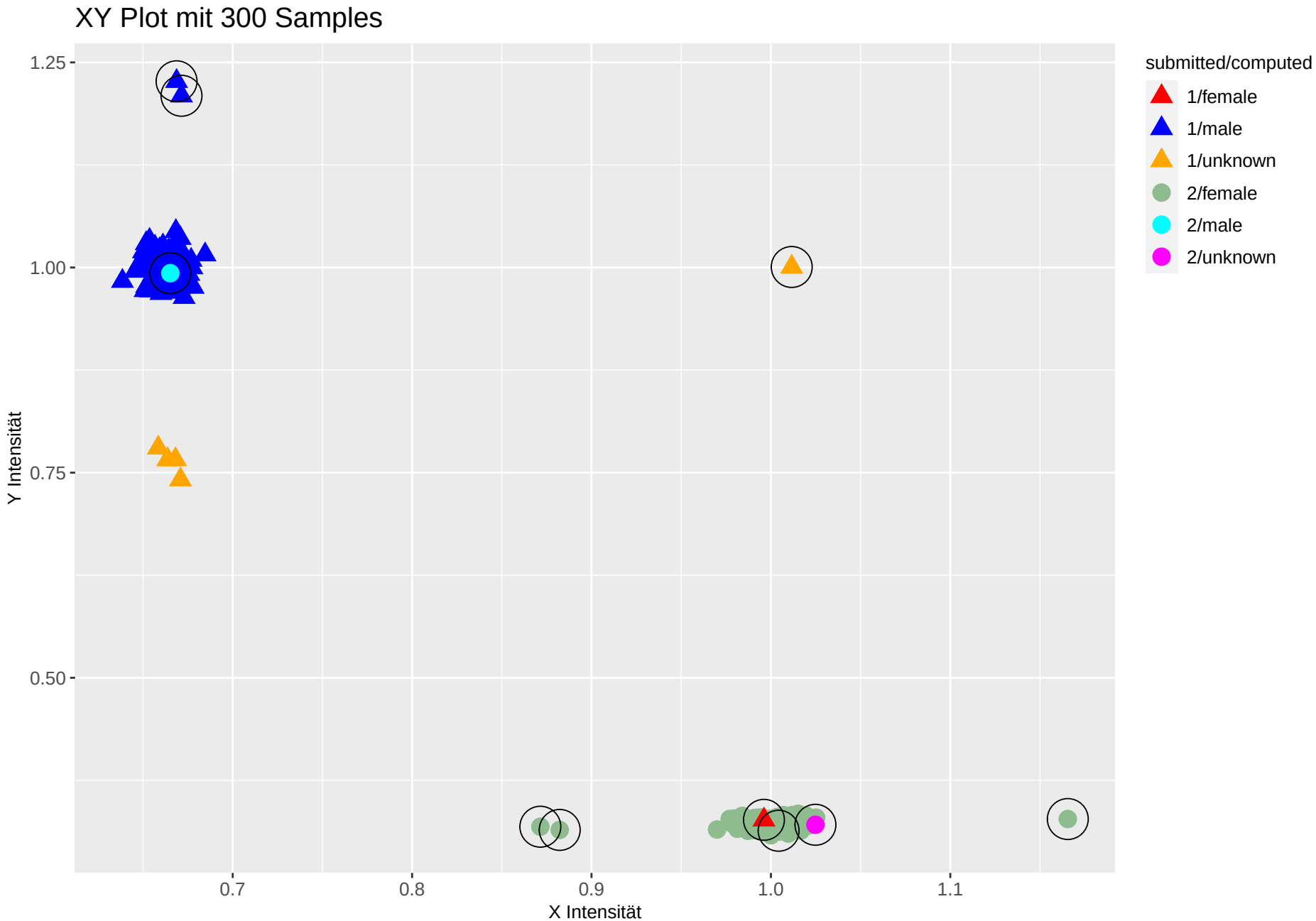
Aufgabe 2: XY-Plots - Lösung b)

Man kann folgende Ausreißer erkennen:

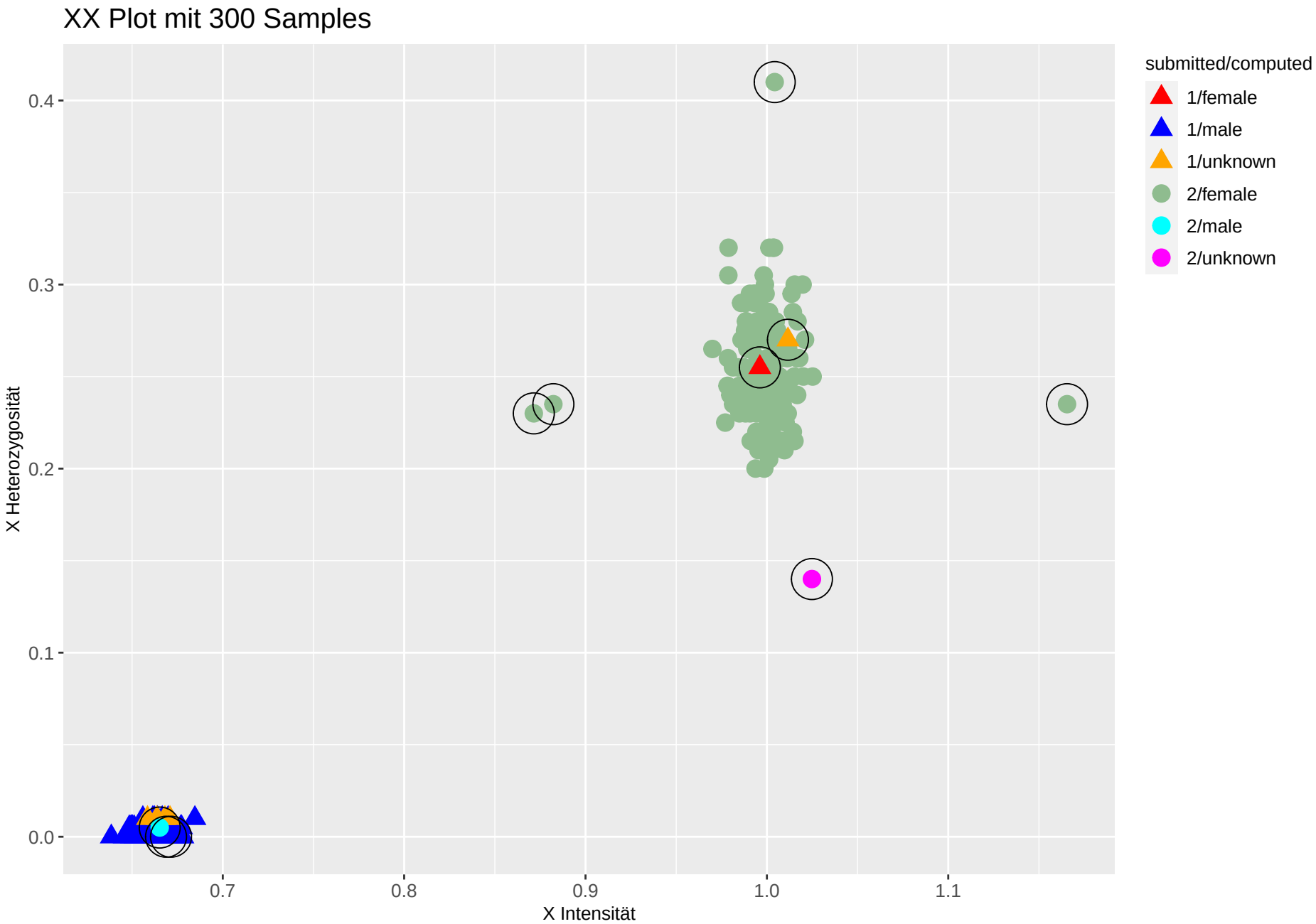
1) Frauen mit zu hoher oder zu niedriger X-Intensität (Mono-X oder Triple-X Frauen)
2) Männer mit zu hoher Y-Intensität (Doppel-Y Männer)
3) Männer mit zu hoher X-Intensität (Doppel-X Männer)
4) Frauen mit zu hoher oder zu niedriger X-Heterozygosität
5) Samples mit Sex-Mismatches zwischen Datenbank und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

Aufgabe 2: XY-Plot - Zusammenfassung

- Welches Grundproblem wird bei einem XY-Plot betrachtet, und warum kann das nur unzureichend gelöst werden?
- Warum werden drei Parameter hier betrachten / warum reichen zwei nicht aus?

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)
```

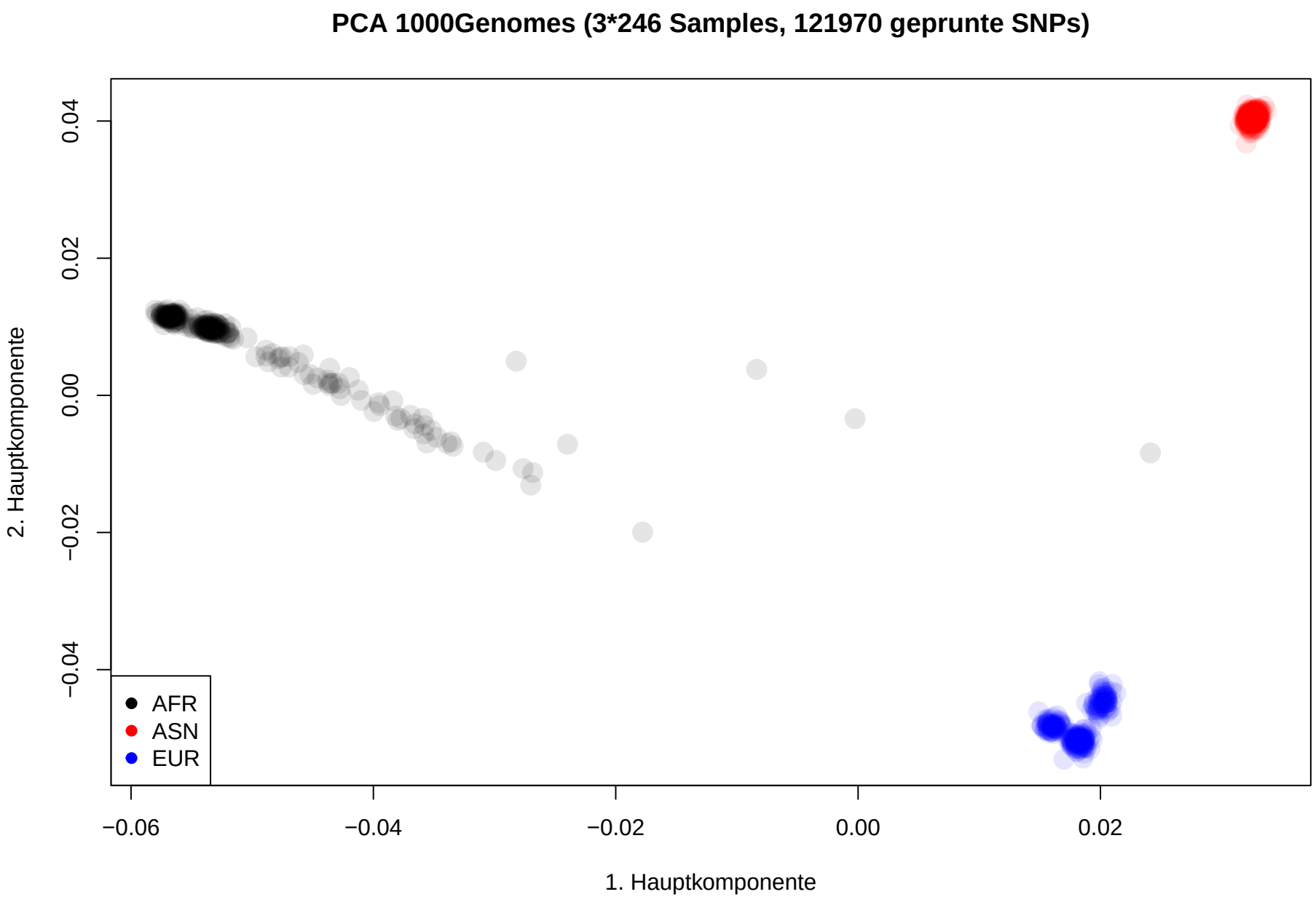
```
## [1] 0.8610275
```

```
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")
```

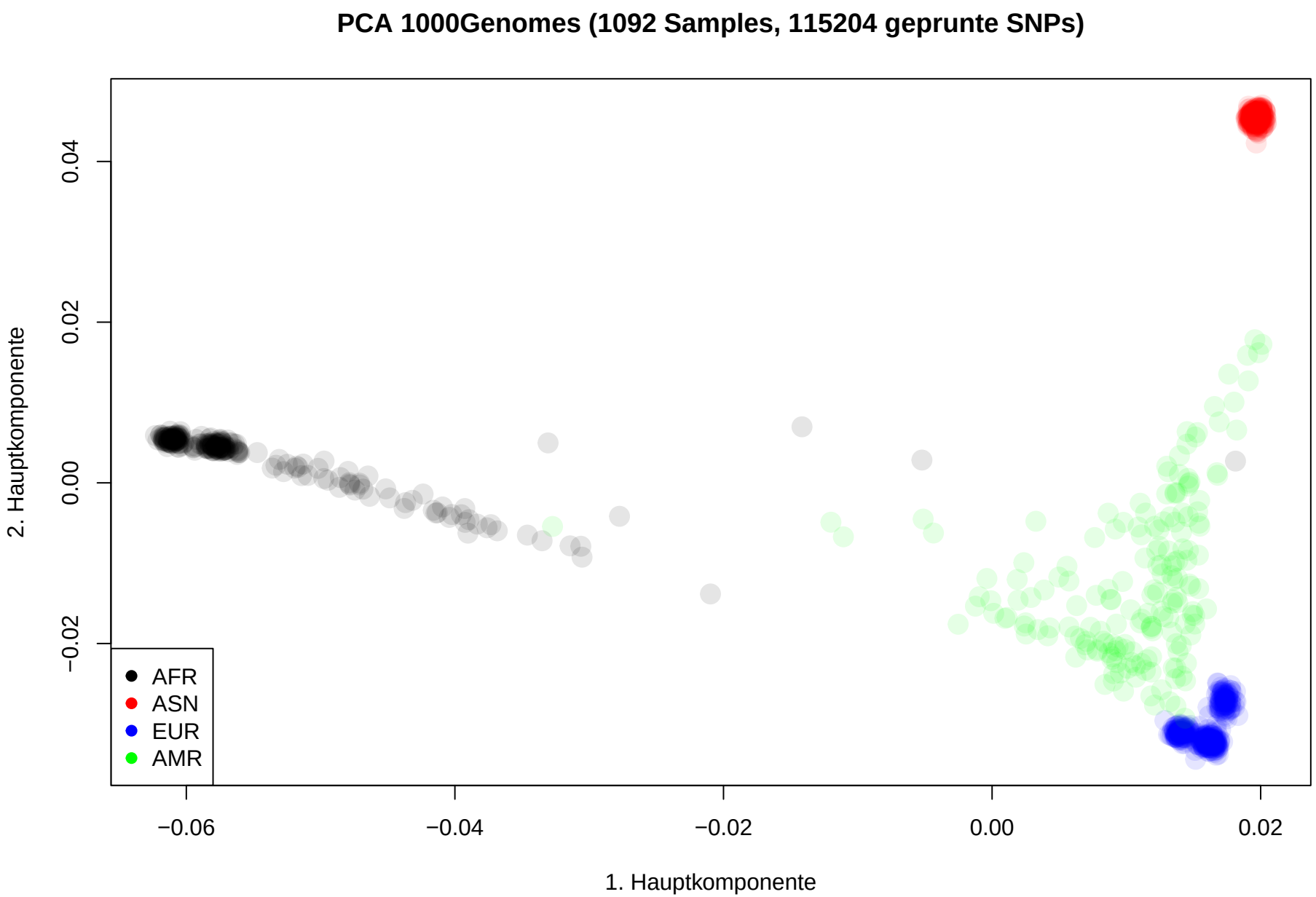
PCA 6 - PCA Plot der ersten 2 EVs



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



Aufgabe 3: PCA - Zusammenfassung

- Welche Grundannahme ist durch gemischte Populationen verletzt?
- Wie kann das gelöst werden?

Abschnitt 4

Zusammenfassung

Zusammenfassung

- Welche Grundannahme ist durch Verwandtschaft verletzt? Wie kann das gelöst werden?
- Welches Grundproblem wird bei einem XY-Plot betrachtet, und warum kann das nur unzureichend gelöst werden? Warum werden drei Parameter hier betrachten / warum reichen zwei nicht aus?
- Welche Grundannahme ist durch gemischte Populationen verletzt? Wie kann das gelöst werden?