Cartographie génétique par analyse de liaison

Brigitte Mangin

Septembre 2011

1. Introduction
2. Modélisation
   - Les phénotypes binaires
   - Les phénotypes continus
3. Gène “maladie”
   - Le test du rapport de vraisemblance
   - Quel seuil pour la liaison gène “maladie” - marqueur
4. Un QTL
   - Le test du rapport de vraisemblance
   - Quel seuil pour la détection d’un QTL ?
   - L’approximation de la vraisemblance
   - le LOD “support interval” du QTL
5. Plusieurs QTLs
6. Pour aller plus loin
   - D’autres modélisations
   - Pedigrees complexes
   - Les logiciels

Introduction

Qu’est ce que l’analyse de liaison ?

$\Longrightarrow$ C’est l’étude de la **transmission** allélique parmi des individus **apparentés**

Que recherche-t’on ?

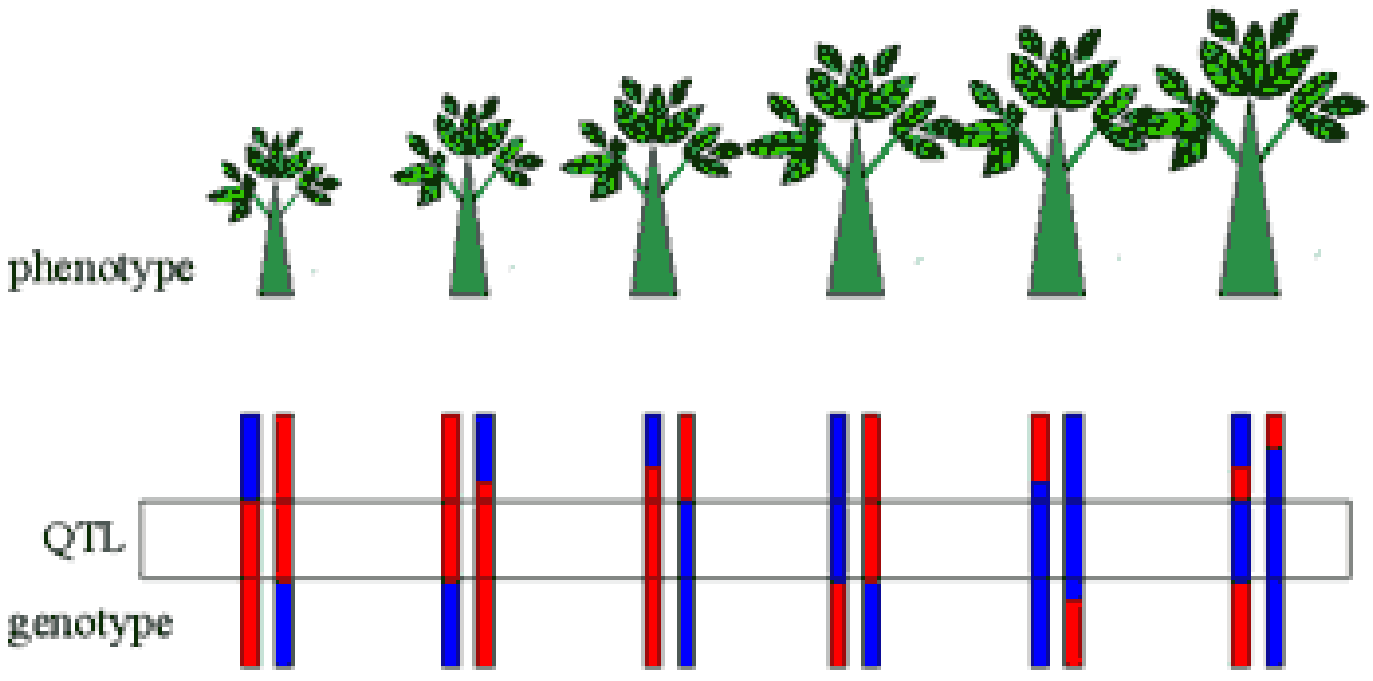
$\Longrightarrow$ Des **gènes** causaux responsables d’une maladie, caractère binaire

ou

$\Longrightarrow$ Des **QTLs**, c’est-à-dire des loci du génome qui expliquent la variabilité d’un caractère quantitatif.

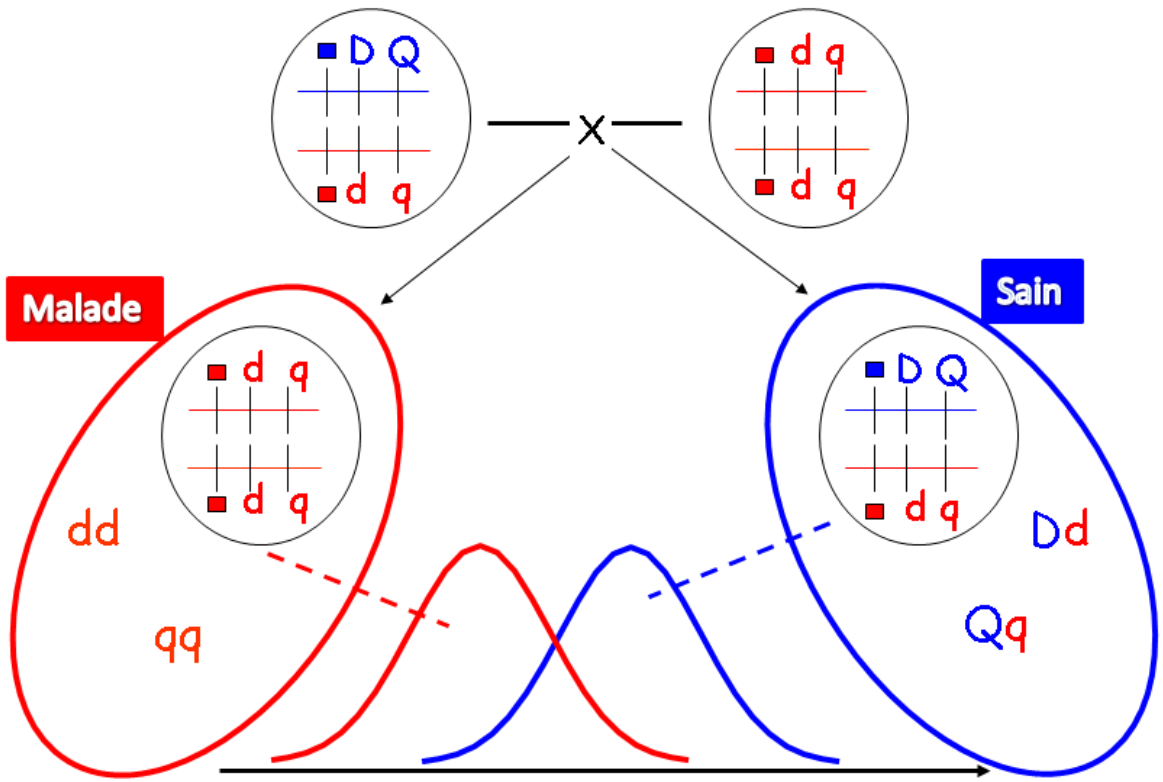
Que cherche t-on à faire ?

$\Longrightarrow$ lier le caractère binaire ou quantitatif (phénotype) à un endroit du génome (génotype au gène ou au QTL)



Comment s’y prend-t’on ?

$\Longrightarrow$ suit la transmission allélique à l’aide de marqueurs moléculaires



Modélisation

La modélisation pour quoi faire ?

$\Longrightarrow$ “décrire” la relation entre le phénotype et le génotype

En terme de probabilité “pénétrance”, phénotype binaire

$$f_{qq} = \text{Prob}(\text{ malade} \mid qq\ )$$
$$f_{Qq} = \text{Prob}(\text{ malade} \mid Qq\ )$$
$$f_{QQ} = \text{Prob}(\text{ malade} \mid QQ\ )$$

En terme de densité de probabilité $\mathcal{L}$, phénotype continu Y

$$f_{qq} = \mathcal{L}(Y|qq)$$
$$f_{Qq} = \mathcal{L}(Y|Qq)$$
$$f_{QQ} = \mathcal{L}(Y|QQ)$$

Maladies simples dans des pedigrees simples

Les deux modèles simples

f_{dd} = Prob(malade | qq)	f_{Dd} = Prob(malade | Qq)	f_{DD} = Prob(malade | QQ)
1 pénétrance complète	$= f_{dd}$ dominante	0 pas de phénocopie
1 pénétrance complète	$= f_{DD}$ récessive	0 pas de phénocopie

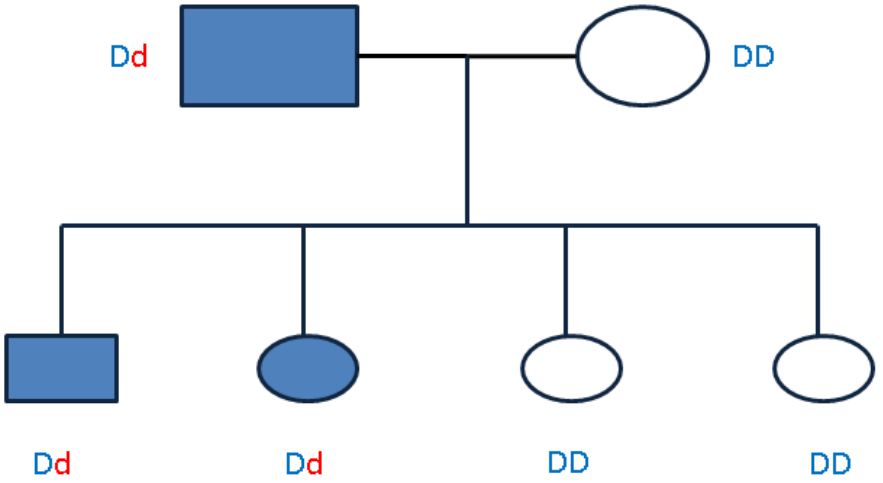
Gràce au modèle postulé

$\Longrightarrow$ Phénotypes “malade ou sain” et génotypes au locus/gène “maladie” sont en correspondance simple.

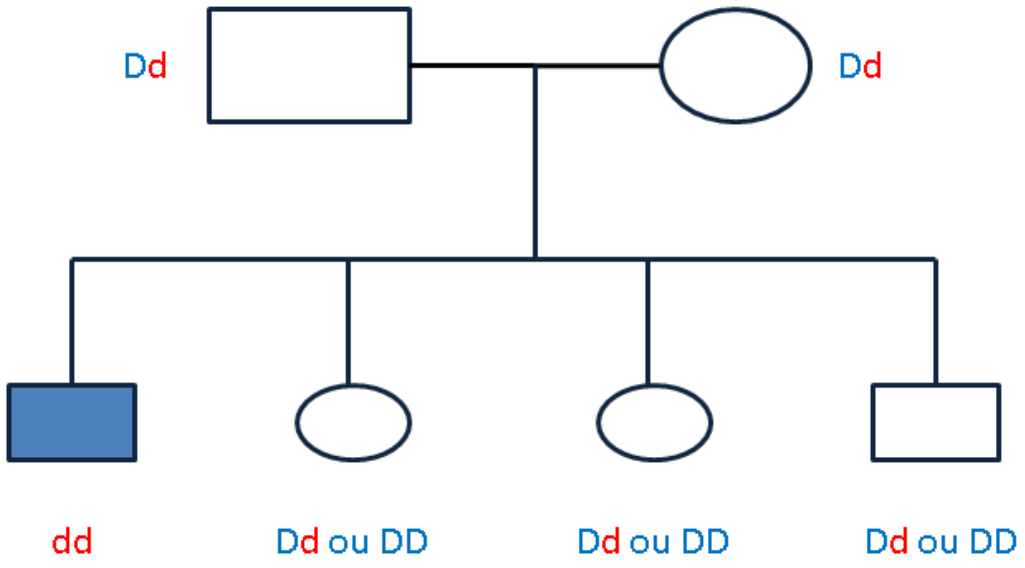
Maladie simple dominante

Famille typique

Le pedigree des familles est simple car constitué de 2 générations : parents et enfants



Famille typique pour une maladie simple récessive



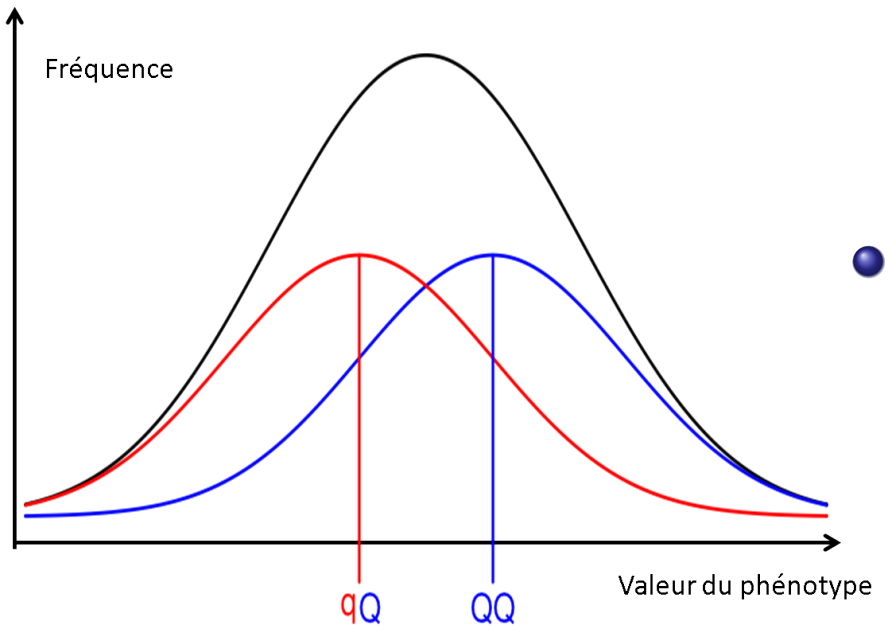
Modèles QTL simples dans pedigrees simples

Nous allons nous restreindre

- à une modélisation simple qui postule la présence d'un unique QTL
- à des descendances simples (back-cross et F_2)
- dans le cadre de la génétique mendélienne
  - back-cross : 1/2 qq , 1/2 Qq
  - F_2 : 1/4 QQ , 1/2 Qq , 1/4 qq

Back-cross ou rétrocroisement

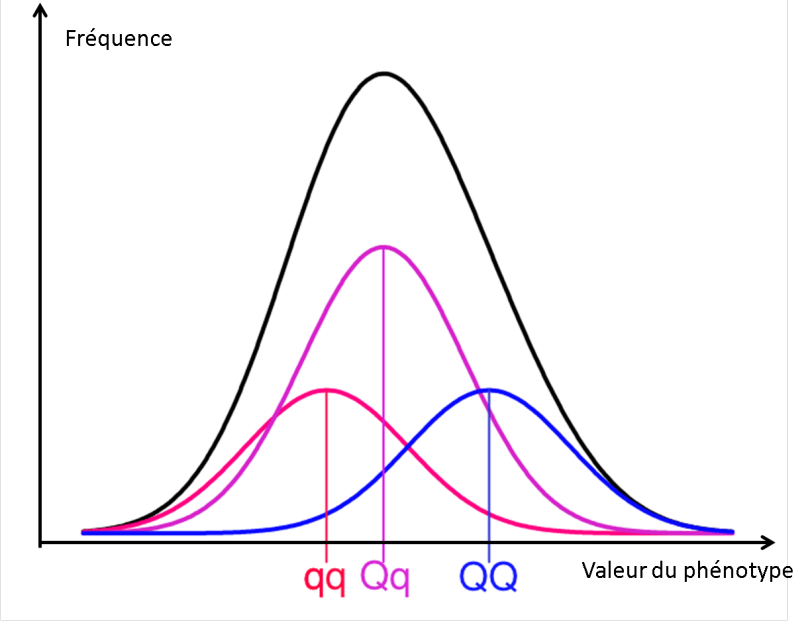
La distribution du phénotype (courbe noire)



- est un mélange 1/2:1/2 entre les distributions du phénotype pour chaque génotype
- les distributions du phénotype pour chaque génotype ont la même variance, mais pas la même moyenne
- et sont Gaussiennes

Descendance F_2

La distribution du phénotype (courbe noire)



- est un mélange 1/4:1/2:1/4 entre les distributions du phénotype pour chaque génotype
- les distributions du phénotype pour chaque génotype ont la même variance, mais pas la même moyenne
- et sont Gaussiennes

Données

quantitative	marqueurs
Y_n	M_n^m
$n = 1, ..., N$	$m = 1, ..., M$

Paramètres du modèle

σ^2	variance résiduelle
μ_g	effet moyen du génotype g au QTL

Modèle de mélange

$$Y_n = \sum_g X_{n,g}\mu_g + \epsilon_n$$

$$X_{n,g} = \begin{cases} 1 & \text{si } n \text{ a le génotype } g \text{ au QTL} \\ 0 & \text{sinon} \end{cases}$$

$$Y_n = \sum_g X_{n,g}\mu_g + \epsilon_n$$

Back-cross

g=1 $\rightarrow$ génotype qq ou g=1 $\rightarrow$ génotype QQ
g=2 $\rightarrow$ génotype Qq g=2 $\rightarrow$ génotype Qq

Descendance F_2

g=1 $\rightarrow$ génotype QQ
g=2 $\rightarrow$ génotype Qq
g=3 $\rightarrow$ génotype qq

Les paramètres génétiques

Back-cross

fond génétique $\mu = \frac{\mu_{QQ}+\mu_{Qq}}{2}$

effet de substitution allélique $\alpha = \mu_{QQ} - \mu_{Qq}$

ou $\alpha = \mu_{qq} - \mu_{Qq}$

Descendance F_2

fond génétique $\mu = \frac{\mu_{QQ}+2\mu_{Qq}+\mu_{qq}}{4}$

effet d'additivité $a = \frac{\mu_{QQ}-\mu_{qq}}{2}$

effet de dominance $d = \mu_{Qq} - \frac{\mu_{QQ}+\mu_{qq}}{2}$

et les marqueurs à quoi y servent ?

- à **connaître** le génotype au QTL
  - lorsque le QTL et le marqueur sont au même locus
- à **inférer** le génotype au QTL, "pseudo-marqueur"
  - en calculant la probabilité que $X_{n,g} = 1$ sachant les marqueurs et la carte génétique
- ou à **imputer** le génotype au QTL, "pseudo-marquage"
  - en tirant aléatoirement le génotype au QTL avec les probabilités que $X_{n,g} = 1$ sachant les marqueurs et la carte génétique

Cas des gènes de “maladie simple”

Cartographier le gène “maladie” c’est :

- pour chaque marqueur, se poser la question : “le gène est-il en liaison génétique avec le marqueur ?” en prenant un risque $\Rightarrow$ **c’est donc une procédure de test**
  - Quelle est l’hypothèse nulle ?
  - Quelle est l’hypothèse alternative ?
  - Quelle statistique de test ?
- le localiser sur le génome en répétant le test pour tous les marqueurs $\Rightarrow$ **c’est donc une procédure de tests multiples**
  - Quel est le seuil de rejet de l’hypothèse nulle ?

Tester la liaison génétique avec le marqueur

Ressemble au test de la liaison entre deux marqueurs

En effet, le phénotype des maladies simples peut être vu “mathématiquement parlant” comme un marqueur spécial.

Hypothèse nulle $H_0 = \{ r_{Ml^m} = 1/2 \}$

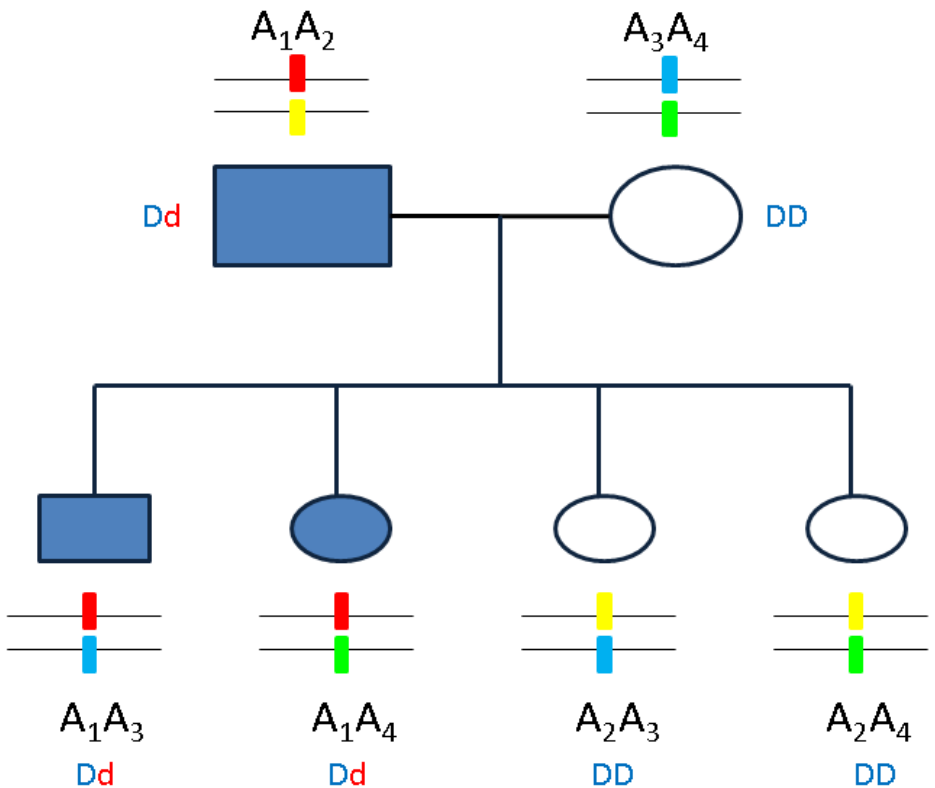
Hypothèse alternative $H_1 = \{ r_{Ml^m} < 1/2 \}$

avec r_{Ml^m} le taux de recombinaison entre le marqueur M et le locus/gène “maladie” l^m.

Maladie simple dominante

Une difficulté

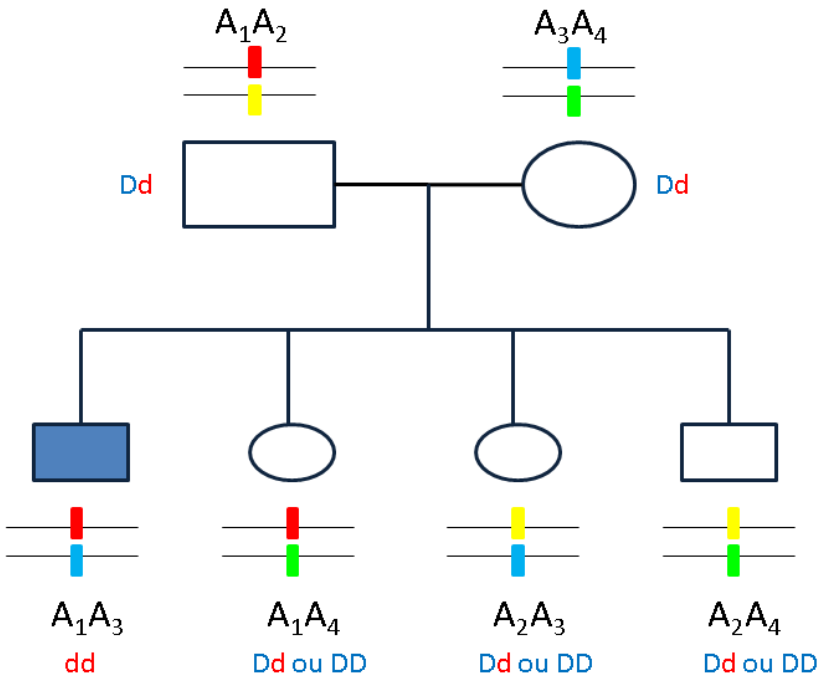
La phase du père est inconnu



Maladie simple récessive

Les difficultés

Les phases des parents sont inconnues
Le génotype au gène “maladie” des enfants sains est imprécis



Le rapport du maximum de vraisemblance

$$RV = \frac{V_{\mathcal{M}}(Y; r_{Ml^m}=1/2)}{\sup_{r_{Ml^m}<1/2} V_{\mathcal{M}}(Y; r_{Ml^m})}$$ toujours ≤ 1

$\mathcal{M}$ génotypes aux marqueurs des enfants et des parents

r_{Ml^m} taux de recombinaison entre le marqueur M et le locus/gène “maladie” l^m

$V_{\mathcal{M}}(Y; ...)$ vraisemblance des phénotypes malades/sains Y conditionnelle à $\mathcal{M}$

Le LOD score

$$\text{LOD} = -\log_{10}(RV)$$ toujours ≥ 0

Seuil de rejet

$\text{Prob}_{H_0}(\text{ LOD} > \text{seuil}) \leq \text{risque}$

Cette probabilité dépend :

- du modèle pour le géne/locus “maladie”
- de la connaissance ou non des phases des parents

Pour un marqueur comme pour plusieurs marqueurs

L’usage est de prendre un seuil pour le LOD score de 3.

La vraisemblance sous H_1 est alors 1000 fois plus probable que la vraisemblance sous H_0.

LOD > 3	rejette H_0
LOD < 3	on ne rejette pas H_0

Cas des QTL

Détecter un QTL c’est :

- prendre un risque et affirmer qu’il y a un QTL $\Rightarrow$ **c’est donc une procédure de test**
  - Quelle est l’hypothèse nulle ?
  - Quelle est l’hypothèse alternative ?
  - Quelle statistique de test ?
- le localiser sur le génome en répétant le test tout le long du génome $\Rightarrow$ **c’est donc une procédure de tests multiples**
  - Quel est le seuil de rejet de l’hypothèse nulle ?
- estimer les paramètres du modèle

Tester l’effet du QTL

Hypothèse nulle H_0 = { tous les génotypes au QTL ont la même moyenne }

Hypothèse alternative H_1 = { l’un au moins des génotypes au QTL a une moyenne différente des autres }

Pour le Back-cross

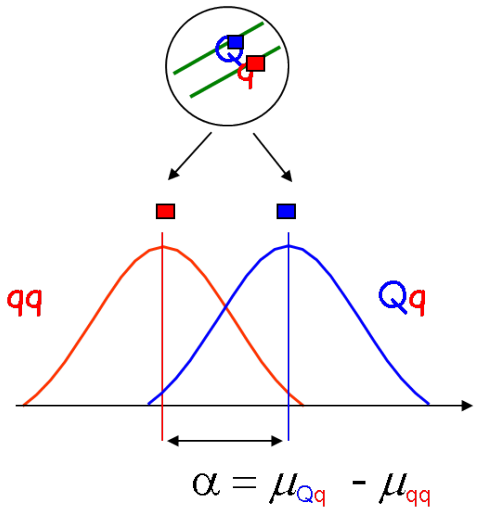
$$H_0 = \{\mu_{QQ} = \mu_{Qq}\} \text{ versus } H_1 = \{\mu_{QQ} \neq \mu_{Qq}\}$$

ou

$$H_0 = \{\alpha = 0\} \text{ versus } H_1 = \{\alpha \neq 0\}$$

Le cas idéal : un marqueur sur le locus du QTL

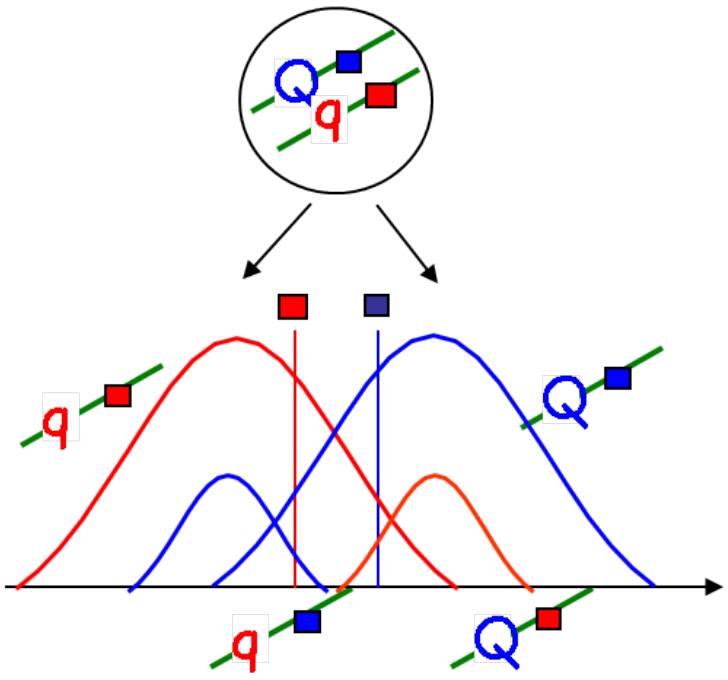
Modèle linéaire : comparaison de moyennes



$$Y_n \begin{cases} \nearrow & g = 1 \; Y_{1k} = \mu + \frac{\alpha}{2} + \epsilon_{1k} \\ \searrow & g = 2 \; Y_{2k} = \mu - \frac{\alpha}{2} + \epsilon_{2k} \end{cases}$$

Source de variation	ddl	SCE	CM$=\frac{\text{SCE}}{\text{ddl}}$	F
QTL	1	$\text{SCE}_M = \sum_g n_g (Y_{g.} - Y_{..})^2$	CM_M	$\frac{\text{CM}_M}{\text{CM}_R}$
résiduelle	$N-1$	$\text{SCE}_R = \sum_{gk} (Y_{gk} - Y_{g.})^2$	CM_R	

Le cas non idéal



- Se contenter de faire la comparaison de moyennes entre les ■ et les ■ c’est perdre de la puissance.
- Les marqueurs flanquants le locus QTL vont être utilisés pour inférer le génotype aux QTL

$\Longrightarrow$ c’est la méthode appelée “l’interval mapping”

Utilisation de tous les marqueurs : "l'interval mapping"

Le test du rapport du maximum de vraisemblance :

Lander et Botstein, Genetics, 1989

$$RV = \frac{\sup_{\mu,\sigma^2} V_{\mathcal{M}}(Y;\mu,\not{l},\alpha=0,\sigma^2)}{\sup_{\mu,l,\alpha,\sigma^2} V_{\mathcal{M}}(Y;\mu,l,\alpha,\sigma^2)}$$

$\mathcal{M}$	génotypes aux marqueurs et carte génétique
l	position du QTL sur la carte, définie par r_{M_iQ} et $r_{QM_{i+1}}$ les taux de recombinaison entre le QTL et ses deux marqueurs flanquants
$V_{\mathcal{M}}(.;...)$	vraisemblance conditionnelle à $\mathcal{M}$

La vraisemblance

$$V_{\mathcal{M}}(Y;\mu,l,\alpha,\sigma^2) = \prod_n V_{\mathcal{M}}(Y_n;\mu,l,\alpha,\sigma^2)$$

indépendance des observations

$$Y_n \begin{cases} \nearrow & g=1 \quad \text{Prob}(X^l_{1,n}=1|\mathcal{M}) \quad = \text{Prob}(G^l_n = \quad \text{QQ} \quad |\mathcal{M}) \\ \searrow & g=2 \quad \text{Prob}(X^l_{2,n}=1|\mathcal{M}) \quad = \text{Prob}(G^l_n = \quad \text{Qq} \quad |\mathcal{M}) \end{cases}$$

$\Longrightarrow$ La loi de distribution de Y_n est un mélange de loi Gaussiennes (notée $\mathcal{N}(.,.)$)

$$Y_n \sim \text{Prob}(G^l_n = \quad \text{QQ} \quad |\mathcal{M})\, \mathcal{N}(\mu + \tfrac{\alpha}{2}, \sigma^2)$$

$$+ \text{Prob}(G^l_n = \quad \text{Qq} \quad |\mathcal{M})\, \mathcal{N}(\mu - \tfrac{\alpha}{2}, \sigma^2)$$

le LOD score

La courbe du LOD

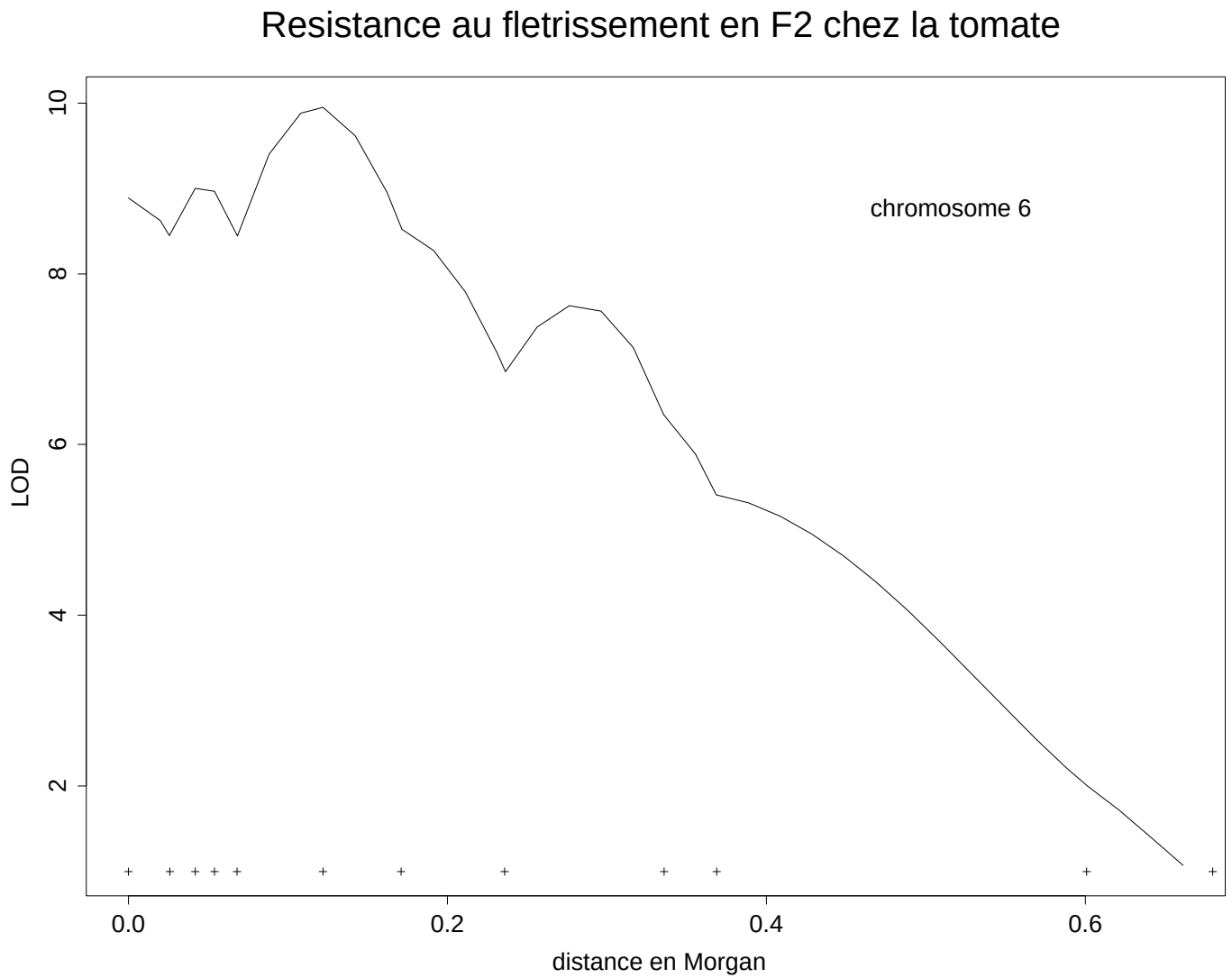
$$RV(I) = \frac{\sup_{\mu,\sigma^2} V_{\mathcal{M}}(Y;\mu, I, \alpha = 0, \sigma^2)}{\sup_{\mu,\alpha,\sigma^2} V_{\mathcal{M}}(Y;\mu, I, \alpha, \sigma^2)}$$

$$\text{LOD}(I) = -\log_{10}(RV(I))$$

Le LOD test

$$\text{LOD} = -\log_{10}(RV) = \sup_I \text{LOD}(I)$$

Un exemple de courbe de LOD



Seuil de rejet d'un seul test en un seul locus

Loi "asymptotique" sous H_0

$$\mathrm{LOD}(l)/0.217 = -2\ln(RV(l)) \sim \chi^2(ddl_{QTL})$$

Descendance	ddl_{QTL}
Backcross	1
F_2	2

Pour un risque de première espèce donné,

$$\mathrm{Prob}_{H_0}(\ \mathrm{test}(l)\ ) > \mathrm{seuil}) \leq 0.05$$

descendance	seuil en $-2\ln(RV(l))$	seuil en $\mathrm{LOD}(l)$
Backcross	3.84	0.83
F_2	5.99	1.30

Seuil de rejet de l’ensemble des tests

la question difficile des tests multiples non indépendants

Le seuil dépend

- du risque global choisi
- du nombre de groupes de liaison
- du nombre de marqueurs et de leur localisation
- du type de descendance

Quel seuil pour la détection d'un QTL ?

$$\text{Prob}_{H_0}(\text{ LOD} > \text{seuil}) \leq \text{risque}$$

$\Longrightarrow$ formule analytique (étude asymptotique)

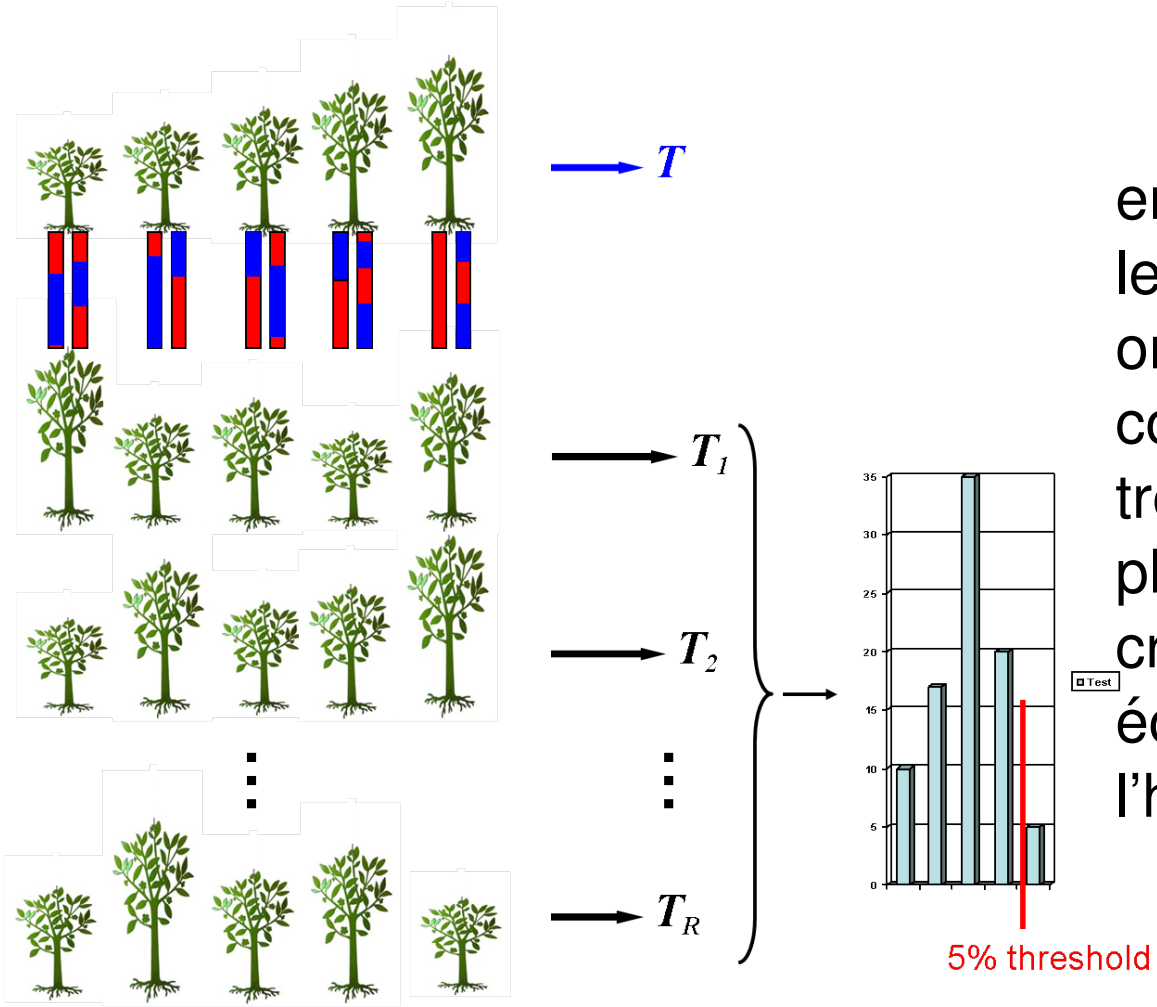
Rebaï et al, Genetics,1994

$\Longrightarrow$ simulation | par Monte-Carlo sous H_0
par permutation des Y_n

Churchill et Doerge, Genetics, 1994

Quel seuil pour la détection d’un QTL ?

Principe des permutations



en permutant les phénotypes, on casse la corrélation entre génotype et phénotype, on crée donc un échantillon sous l’hypothèse nulle

Seuil pour le LOD test

		longueur du groupe de liaison : 1 M		
		intervalle entre les marqueurs		
type	risque	20 cM	10 cM	$\leq$ 1 cM
BC	5 %	1.5	1.6	1.8
BC	1 %	2.2	2.3	2.6
F_2	5 %	2.2	2.3	2.6
F_2	1 %	2.9	3.1	3.4
		longueur du groupe de liaison : 2 M		
BC	5 %	1.8	1.9	2.1
BC	1 %	2.5	2.6	3.0
F_2	5 %	2.4	2.6	3.0
F_2	1%	3.2	3.4	3.8

Modèle linéaire

Au lieu du modèle de mélange

$$Y_n \sim \text{Prob}(G_n^I = \text{QQ} \mid \mathcal{M})\, \mathcal{N}(\mu + \tfrac{\alpha}{2}, \sigma^2)$$
$$+ \text{Prob}(G_n^I = \text{Qq} \mid \mathcal{M})\, \mathcal{N}(\mu - \tfrac{\alpha}{2}, \sigma^2)$$

Un modèle de régression sur marqueurs flanquants

Haley et Knott, Genetics, 1991

Modèle linéaire pour un QTL en *I*

$$Y_n = \mu + \text{Prob}(G_n^I = \text{QQ} \mid \mathcal{M})\, \tfrac{\alpha}{2}$$
$$- \text{Prob}(G_n^I = \text{Qq} \mid \mathcal{M})\, \tfrac{\alpha}{2} + \epsilon_n$$

$\Longrightarrow$ la statistique de test de Fisher en *I* est alors utilisée pour tester l'effet du QTL

Équivalence asymptotique

Lorsqu’il y a beaucoup d’individus
un modèle de mélange et la statistique du LOD
ou
un modèle linéaire et la statistique de Fisher
cela détecte les mêmes QTL

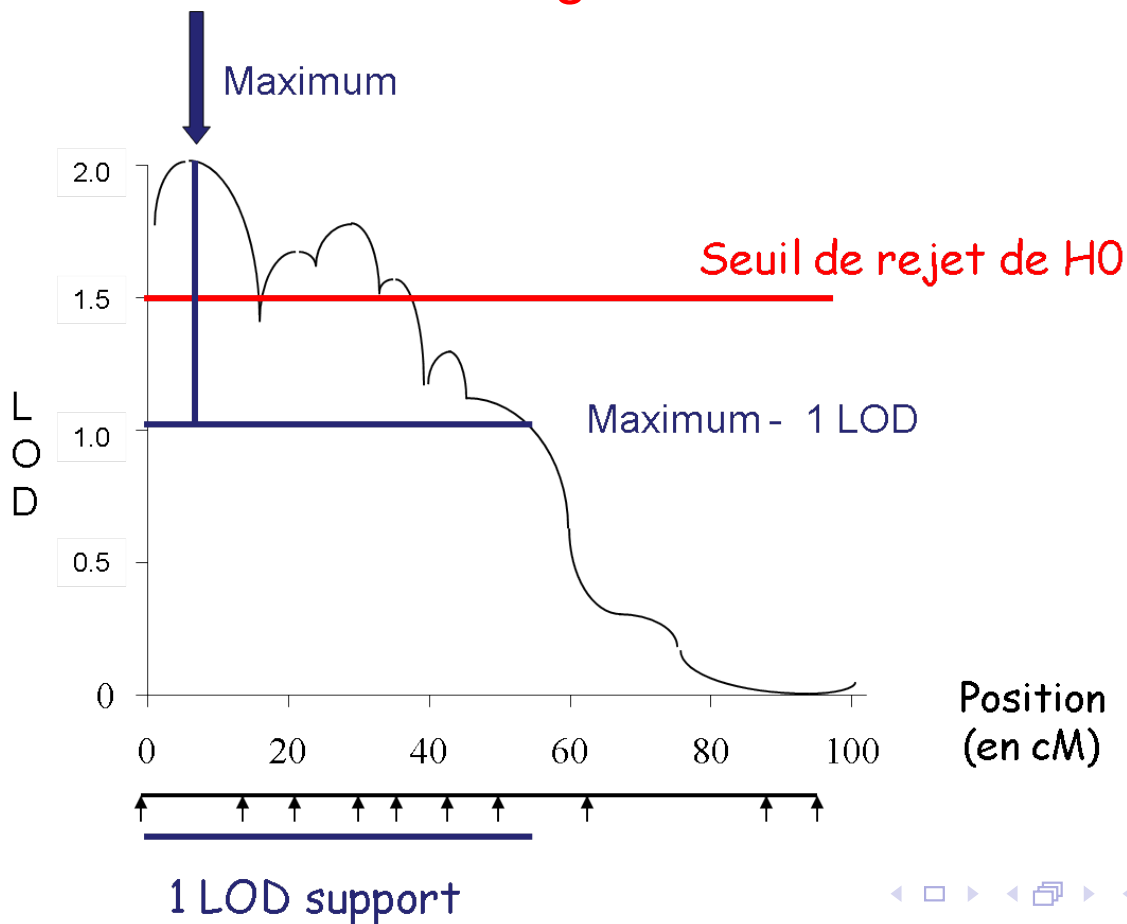
Mathématiquement parlant

En tout point du génome, lorsque $N \to \infty$
pour des QTL dont l’effet décroit avec $\sqrt{N}$

$$\mathrm{LOD}(I)/(2 * \ln(10)) = -2 \ln(RV(I)) \approx \ \mathrm{ddl}_{\mathrm{QTL}} F(I)$$

Une région de confiance

Ce n’est pas un intervalle de confiance au sens statistique car on ne connait pas la probabilité que le QTL soit dans de cette région



Plusieurs QTL: utilisation des cofacteurs

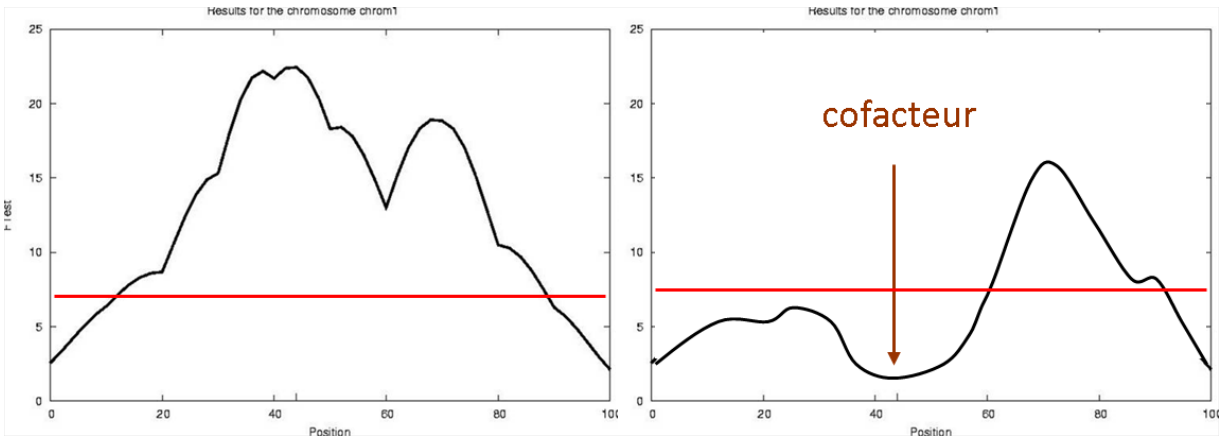
Le cofacteur

- c’est un marqueur
- qui a été jugé explicatif
- par une méthode de choix de modèles (forward ou stepwise)
- dans le modèle linéaire

Il “absorbe” l’effet du QTL qui lui est proche.

Objectif des cofacteurs

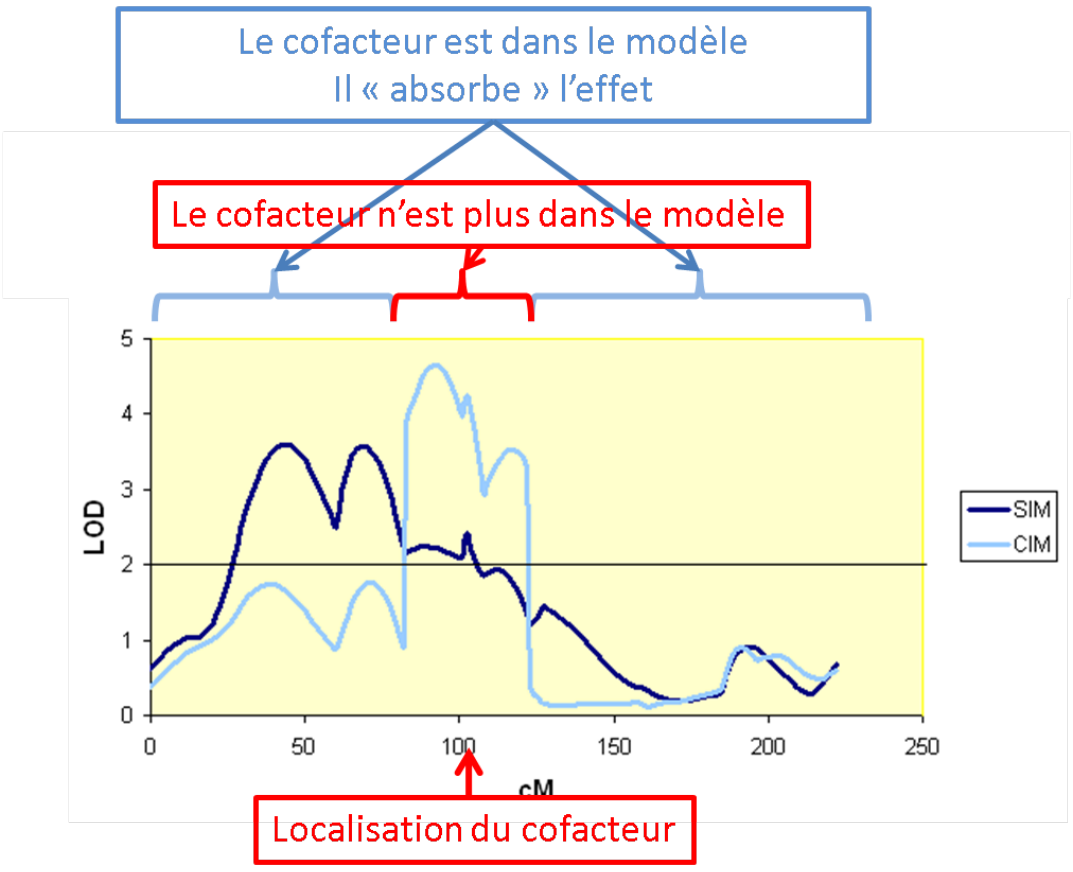
- contrôler les QTL des autres chromosomes pour gagner de la puissance par réduction de la variance de l’erreur résiduelle
- séparer les QTL d’un même chromosome



Les différentes méthodes

- Composite Intervalle Mapping (CIM) = choix de cofacteurs puis détection de QTL dans un modèle de mélange
- iQTLm = méthode itérative de détection de QTL dans le modèle linéaire de régression sur marqueurs, les cofacteurs servant de point de départ de la méthode itérative
- le modèle bayésien avec un QTL dans chaque intervalle de marqueur et des lois a-priori pour les effets des QTL, le nombre et la localisation des QTL

Bien comprendre CIM

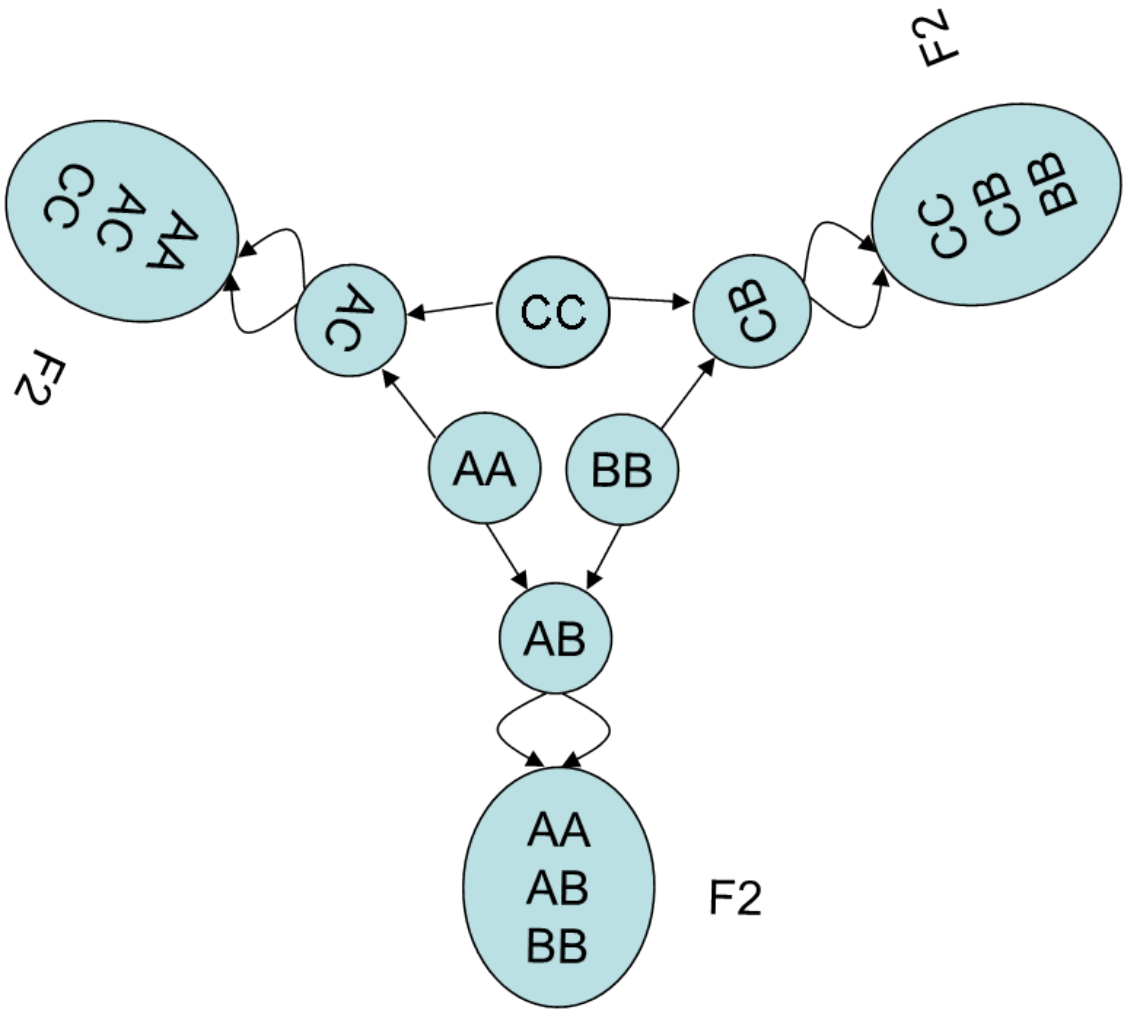


La courbe CIM dépend fortement de la place des cofacteurs. Il est primordiale de bien comprendre où ont été placés les cofacteurs.

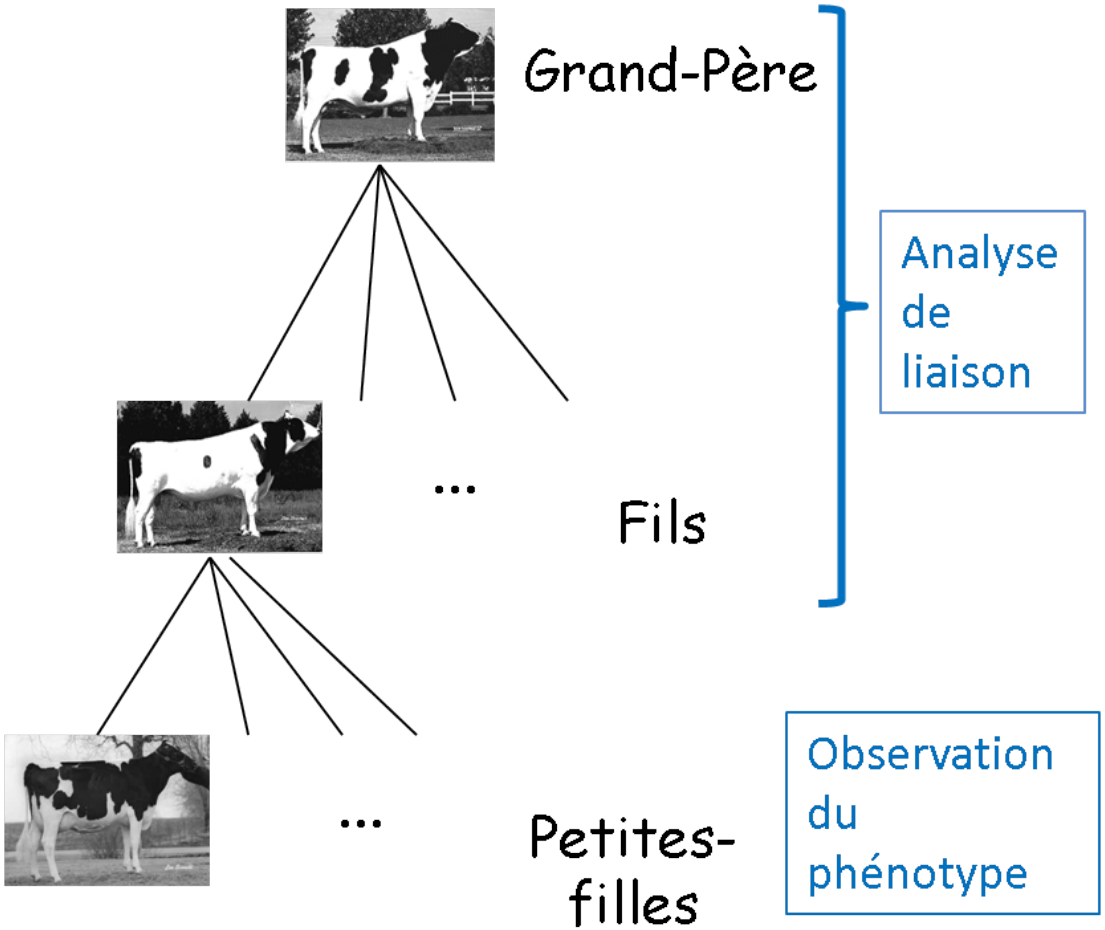
D’autres modélisations

- Effet du QTL aléatoire (animaux)
- Effet polygénique aléatoire (animaux) ou effet fond génétique fixe (plantes)
- Effet d’épistasie (interaction) entre QTLs
- Effet d’épistasie (interaction) entre un QTL et le fond génétique
- QTL en pléiotropie
- ....

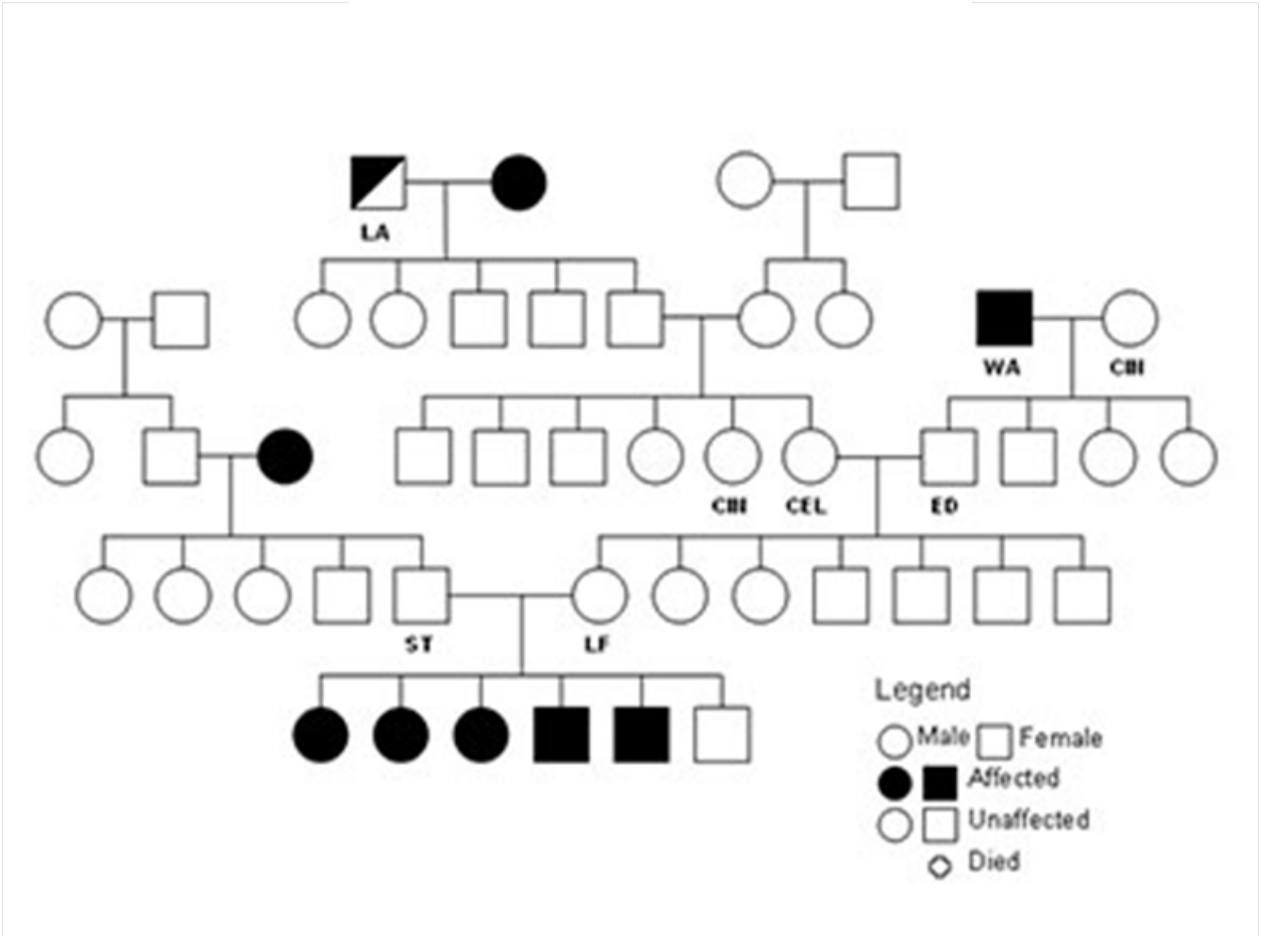
Diallèle de lignées homozygotes



Familles de demi-frères



Pedigree humain



Pour les QTL

- l’ancêtre : MAPMAKER/QTL
- le clé en main : QTL carthographer
- le payant : mapQTL
- le futur ? : R/qtl
- “les spécialisés”
  - pour les pedigrees et modèles animaux : QTLMap
  - pour plusieurs descendances : MCQTL