Rapport de Projet : ANOVA Phylogénétique

Alizée Geffroy Louis Lacoste

19 mars 2024

Table des matières

1 Introduction **3**

2 Méthodes **4**
2.1 L'ANOVA 4
2.2 L'ANOVA phylogénétique 5
2.3 ANOVA phylogénétique avec erreur de mesure 6
2.4 Le test statistique 7
2.5 Approximation de Satterthwaite 7
2.6 REML 10
2.7 LRT 10

3 Simulations **10**
3.1 Erreur de type I et puissance 10

4 Application aux données réelles **13**
4.1 Modalités des tests 13
4.2 EVEmodel 14

5 Conclusions sur le projet **16**

A Application aux données réelles **17**

1 Introduction

Avec l'avènement des données massives de génomiques, transcriptomiques, protéomiques, il y a besoin de techniques statistiques robustes et passant à l'échelle permettant de mener à bien les analyses.

Ces données de génétiques proposent bien souvent deux informations, les mesures et l'arbre phylogénétique. Et pour certaines, l'arbre est ramifié au bout en proposant des répétitions intraspécifique.

C'est par exemple le cas pour les données de Chen et al. 2019 dont la figure 1 présente l'arbre phylogénétique : La problématique qui se pose souvent est celle de l'analyse de dif-

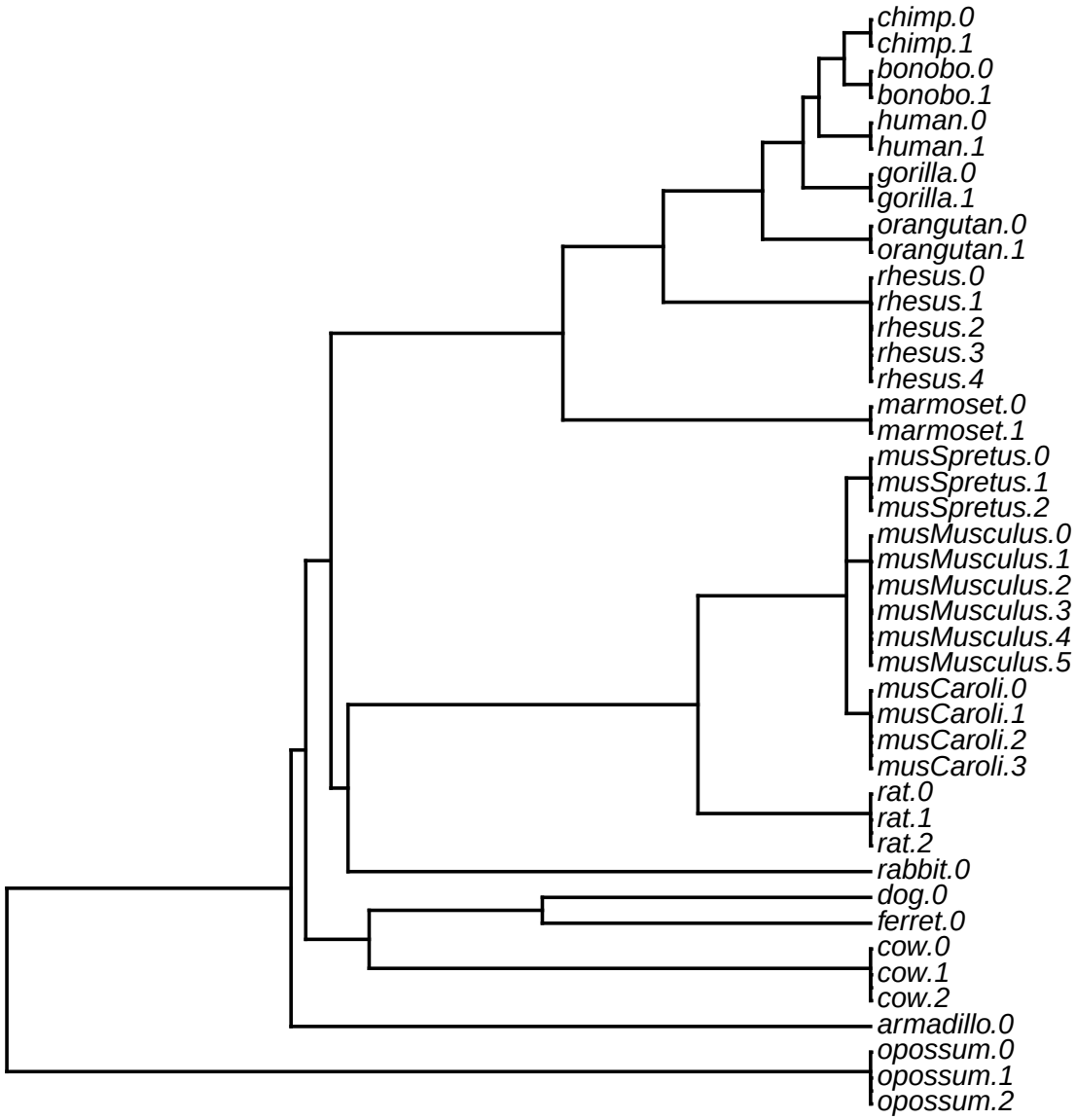


Figure 1 – Arbre phylogénétique de Chen et al. 2019

férents gènes qu'on mesure chez plusieurs espèces. On cherche alors d'abord à trouver quels gènes pourraient être différentiels chez certaines espèces, en détectant un changement d'expression dans certains groupes. En considérant l'arbre precédent 1, on pourra

chercher les gènes qui sont différents entre les groupes des *mus* et *rat* par rapport aux autres espèces.
Le modèle le plus couramment utilisé est actuellement l'Expression Variance and Evolution modèle (EVE) présenté dans Rohlfs et Nielsen 2015. L'EVE modèle est basé sur un LIkelihood Ratio Test (LRT), une méthode statistique classique. Ce projet s'inscrit alors dans un questionnement plus large qui cherche à se demander si d'autres modèles classiques comme l'ANOVA, en les adaptant, pourrait produire des résultats similaires voire meilleurs que l'EVE modèle. E effet, avoir un bon modèle qui, en particulier, donne peu de faux positifs est important. On peut ensuite étudier les gènes potentiellement intéressants selon une problématique et des groupes d'espèces données. TODO Présenter les 4 modèles. C'est quoi les 4 ?
Au vu de la forme des données étudiées, le projet s'est tourné vers une méthode d'ANOVA phylogénétique. Celle-ci sera d'abord décrite ainsi que d'autres outils mathématiques utilisés pour affiner la fiabilité du test dans une première partie. Certains auront fait l'objet de calculs explicites en vue de leur implémentation. A partir de ces résultats, nous avons implémenter ces méthodes en R d'abord appliquées à des simulations destinées à comparer et étudier la méthode d'ANOVA phylogénétique sur des données d'arbre simulés. Enfin, on a testé sur des données réelles.

Au cours de ce projet nous avons donc eu une partie d'étude théoriques et mathématiques des modèles de l'ANOVA et de l'ANOVA phylogénétique afin de bien l'adapter à nos données. A partir de la formulation mathématiques des modèles

Un gène, comparer les moyennes d'expression d'un gène On connait les groupes exemple individus malade/sain

Contrairement à une comparaison basée sur la santé des individus, cette approche se focalise sur les espèces. La non-indépendance et les relations complexes entre individus et groupes comparés nécessitent l'utilisation d'un modèle mixte, impliquant la matrice des temps de divergences, ainsi que l'intégration de processus stochastiques tels que le Mouvement Brownien sans erreurs, avec ajustement du ratio erreur de mesure / erreur dûe à la phylogénie.

2 Méthodes

Ici les rappels sur l'ANOVA, l'explication de l'ANOVA phylogénétique. La démonstration des limites de l'ANOVA phylogénétique par des simulations Méthode : la partie maths anova, anova phylo, satterthwaite,

2.1 L'ANOVA

L'ANOVA est un cas classique du modèle linéaire, nous utilison ici une forme matricielle.

Le principe de l'ANOVA est d'expliciter le lien entre une variable quantitative et une ou plusieurs variables qualitatives.

La forme matricielle usuelle de l'ANOVA à 1 facteur est la suivante :

$$Y = X\beta + u, \quad u \sim \mathcal{N}_n(0, \sigma^2 I_n) \tag{1}$$

$$\text{où} \quad \mathbf{Y} = \begin{bmatrix} Y_{11} \\ \vdots \\ Y_1 n_1 \\ Y_{21} \\ \vdots \\ Y_{2n_2} \end{bmatrix}, \mathbf{X} = \begin{bmatrix} \mathbf{1} & \mathbf{1_{n_1}} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 1 & 1 \\ \vdots & \vdots \\ 1 & 1 \\ 1 & 0 \\ \vdots & \vdots \\ 1 & 0 \end{bmatrix}, \beta = \begin{bmatrix} \beta_1 \\ \beta_2 \end{bmatrix}, n = n_1 + n_2$$

Les paramètres $(\beta_1, \beta_2, \sigma^2)$ de l'ANOVA sont estimables, grâce par exemple à la méthode du maximum de vraisemblance et ont des formules bien connues.

2.2 L'ANOVA phylogénétique

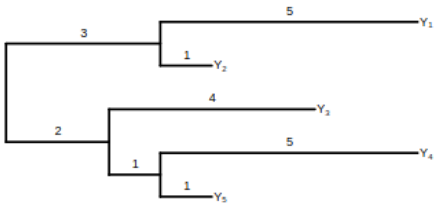
Dans la méthode d'ANOVA classique l'information portée par l'arbre phylogénétique n'est pas prise en compte. Le but de cette nouvelle méthode est de ne plus mettre cette information de côté et peut être obtenir de meilleurs résultats. En effet on peut imaginer, en considérant des traits évolutifs ou des séquences d'ADN, que des individus d'une même espèce ou bien d'espèces proche phylogénétiquement, pourraient avoir des valeurs proches. Il s'agira alors de modéliser l'arbre et les informations évolutives qu'ils contient de manière à l'incorporer.

Comme décrit dans Bastide, Mariadassou et Robin 2022 l'évolution d'un trait nécessite de décrire ses fluctuations le long de l'arbre et ses branches. C'est pour cela que souvent cela est le résultat d'un processus stochastique à temps continu. Le processus classique est le mouvement brownien et c'est celui que nous avons utilisé. Il a cependant quelques limites qui ne font pas l'objet de ce rapport mais qui peuvent alors justifier le choix d'autres types de processus comme celui d'Ornstein-Uhlenbecks. Le modèle de mouvement brownien va alors induire que les feuilles des arbres (nos observations) auront une distribution gausienne que l'on écrira sous la forme suivante :

$$Y = X\beta + u,\ u \sim \mathcal{N}_n(0, \sigma^2_{phy} K) \tag{2}$$

Les notations correspondent toujours à celles utilisées pour (1). La seule différence se trouvant dans la distribution de u et la présence d'une matrice K. Dans le cadre du mouvement brownien $K = (K_{i,j})_{1 \leq i,j \leq n} = (t_{i,j})_{1 \leq i,j \leq n}$ où $t_{i,j}$ représente le temps d'évolution commun aux espèces i et j. On peut voir un exemple utilisé dans les slides de cours Bastide et Clavel 2022 :

BM on a tree:



$$\mathbf{V} = \begin{array}{c} \\ Y_1 \\ Y_2 \\ Y_3 \\ Y_4 \\ Y_5 \end{array} \begin{array}{c} \begin{array}{ccccc} Y_1 & Y_2 & Y_3 & Y_4 & Y_5 \end{array} \\ \begin{pmatrix} 8 & 3 & 0 & 0 & 0 \\ 3 & 4 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 6 & 2 & 2 \\ 0 & 0 & 2 & 8 & 3 \\ 0 & 0 & 2 & 3 & 4 \end{pmatrix} \end{array}$$

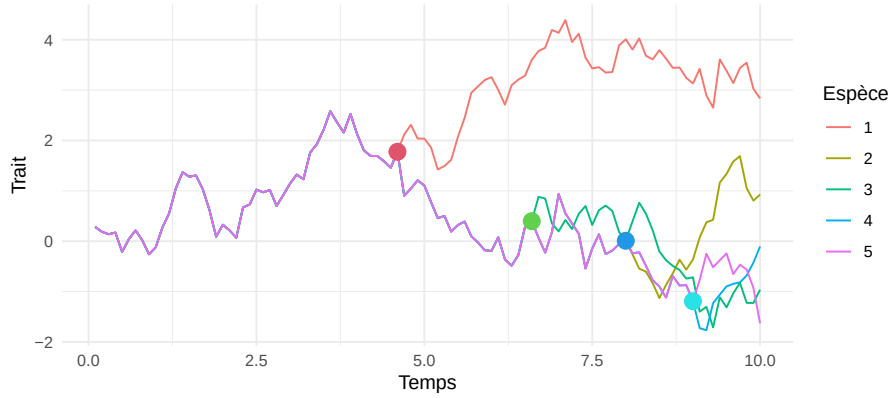


FIGURE 2 – Exemple d'un arbre phylogénétique dont le trait est généré selon un Mouvement Brownien

2.3 ANOVA phylogénétique avec erreur de mesure

Dans la section précedente, on a supposé que la seule source de variabilité provenait du mouvement brownien sur l'arbre. On rajoute dans cette section une autre variabilité specifiée par σ^2_{err} qui à partir de la formule précédente (2), nous donne :

$$Y = X\beta + u + \epsilon, \quad u \sim \mathcal{N}_n(0, \sigma^2_{phy}K), \quad \epsilon \sim \mathcal{N}_n(0, \sigma^2_{err}I_n) \tag{3}$$

Alors $Y \sim \mathcal{N}_n(X\beta, \sigma^2_{phy}K + \sigma^2_{err}I_n)$
On pose $\theta = (\sigma^2_{phy}, \sigma^2_{err})$
On définit pour la suite $Var_\theta(Y) = V(\theta) = \sigma^2_{phy}K + \sigma^2_{err}I_n$ (4)

Comme décrit dans BASTIDE, MARIADASSOU et ROBIN 2022, l'ajout de cette variance résiduelle dans notre modèle est crucial pour mieux représenter la complexité des données que nous traitons. En effet, supposer que la seule source de variation entre les observations est le processus stochastique sur l'arbre phylogénétique (specifiée par $\sigma^2_{phy}K$) est souvent peu réaliste, surtout dans des contextes où les données sont hétérogènes ou comme on le verra plus tard, nous avons les données de plusieurs individus d'une même espèce. C'est d'ailleurs pour ça qu'on peut parler de variation intraspécifique. Cette hypothèse simplificatrice peut introduire des biais significatifs dans nos analyses, compromettant ainsi la validité des résultats obtenus. En intégrant la variance résiduelle, qui capture l'effet indépendant de l'environnement sur chaque mesure, notre modèle devient plus flexible et mieux adapté pour tenir compte de la variabilité observée dans les données. Le modèle mixte phylogénétique résultant, combinant à la fois la variance phylogénétique et la variance résiduelle, nous permet de distinguer les effets héritables des effets non héritables, offrant ainsi une approche plus nuancée et réaliste de l'analyse comparative des données évolutives.

En posant $\lambda = \frac{\sigma^2_{phy}}{\sigma^2_{err}}$ et $E = u + \epsilon$, on peut obtenir une nouvelle forme pour Y

$$Y = X\beta + E, \text{ où } Var(E) = V(\theta) = \sigma^2_{phy}(K - \lambda I_n) = \sigma^2_{phy}V_\lambda \tag{5}$$
$$E \sim \mathcal{N}_n(0, V_\lambda)$$

2.4 Le test statistique

Pour le test statistique d'ANOVA phylogénétique, on se met dans le cadre d'une ANOVA à un facteur et à 2 groupes. Chacun de ces groupes ayant une moyenne qui lui est propre. Ce peut être la moyenne de la valeur d'un trait génétique ou bien de la valeur de la fréquance d'une séquence ou allèle. On testera alors les hypothèses suivantes :

$$H_0 : \beta_2 = 0, \text{ les 2 groupes ont la même moyenne}$$

$$H_1 : \beta_2 \neq 0, \text{ les 2 groupes ont des moyennes différentes}$$

Bastide et Clavel 2022 nous donne une F-statistique pour la méthode d'ANOVA de cette forme (5) et le test de Fisher précédent.

$$F = \frac{||\hat{Y} - \bar{Y}||^2_{V_\lambda^{-1}}(n-2)}{||Y - \hat{Y}||^2_{V_\lambda^{-1}}} \underset{\mathcal{H}_0}{\sim} \mathcal{F}\text{isher}(1, n-2) \tag{6}$$

Où $||Y - \hat{Y}||^2_{V_\lambda^{-1}} = ||Y - X\hat{\beta}||^2_{V_\lambda^{-1}} = Proj_X^{V_\lambda} Y = (Y - \hat{Y})^T V_\lambda^{-1}(Y - \hat{Y})$
et $||\hat{Y} - \bar{Y}||^2_{V_\lambda^{-1}} = (\hat{Y} - \bar{Y})^T V_\lambda^{-1}(\hat{Y} - \bar{Y})$

2.5 Approximation de Satterthwaite

TODO Insister sur la contribution TODO Pourquoi Satterthwaite, parce que l'ANOVA Phylo est exacte quand le λ est connu mais dans ce cas on ne le connaît pas et c'est ce qui motive Sattertwhaite.

On va dans notre cas avoir $n - 2$ degrés de liberté. L'ANOVA, suppose souvent une homoscédasticité des variances entre les groupes ou les échantillons. Cela signifie que les variances des groupes sont égales. Cependant, lorsque cette condition n'est pas satisfaite, l'approximation de Satterthwaite peut être utilisée pour tenir compte des variances inégales entre les groupes. Elle est particulièrement utile dans le cas des ANOVA à un facteur, mais peut également être appliquée à des ANOVA à plusieurs facteurs.

L'approximation de Satterthwaite ajuste les degrés de liberté pour tenir compte de ces différences dans les variances.
Cela permet d'obtenir des résultats plus fiables lorsque les conditions d'homoscédasticité ne sont pas respectées.

On s'est basé sur la documentation du package `lmerTest` Kuznetsova, Brockhoff et Christensen 2017 pour calculer les formules explicites de l'approximation dans notre cadre. En effet il existe des formules explicite dans le cadre du modèle mixte. Cela nous permettra ensuite de les implémenter et voir si cela améliore la fiabilité de la statistique de test. A partir de 3 on rappelle les valeurs suivantes :

$$Y \sim \mathcal{N}_n(X\beta, \sigma^2_{phy}K + \sigma^2_{err}I_n),\ \theta = (\sigma^2_{phy}, \sigma^2_{err}) \text{ et } Var_\theta(Y) = V(\theta) = \sigma^2_{phy}K + \sigma^2_{err}I_n$$

De la documentation on obtient alors la covariance suivante :

$$C(\theta) = (Cov(\beta_i, \beta_j))_{i,j} = (X^T V(\theta)^{-1} X)^{-1} = (X^T(\sigma^2_{phy}K + \sigma^2_{err}I_n)^{-1}X)^{-1} \tag{7}$$

TODO : Préciser df degré de liberté de quoi ! Toujours en suivant la documentation Kuznetsova, Brockhoff et Christensen 2017 on part de l'expression pour les degrés de liberté *df* et de l'approximation. Ce qui nous donne :

$$df = \frac{2(l^T\hat{C}l)^2}{[Var(l^T\hat{C}l)]} = \frac{2(f(\hat{\theta}))^2}{[Var(f(\hat{\theta}))]} \approx \frac{2(f(\hat{\theta}))^2}{[\nabla f(\hat{\theta})]^T A[\nabla f(\hat{\theta})]} \tag{8}$$

$$\text{où} \quad \hat{C} = C(\hat{\theta}) \quad \text{et} \quad f(\theta) = l^T C(\theta) l$$

A partir de cette expression, on calcule $\nabla f(\theta)$ qu'on appliquera en $\hat{\theta}$ et A la matrice de variance-covariance de $\hat{\theta} = (\hat{\sigma}^2_{phy}, \hat{\sigma}^2_{err})$

Calcul du gradient. Nous voulons calculer les dérivées partielles $\partial_{\sigma^2_{phy}} f(\theta)$ et $\partial_{\sigma^2_{err}} f(\theta)$. Pour les premières étapes de calculs, on écrira seulement ∂ sans distinction car ce sont les mêmes expressions pour les 2 dérivées. On utilisera dans la suite les formules de Petersen et Pedersen 2012 pour les dérivées de matrice

$$\partial f(\theta) = l^T \partial C(\theta) l$$

$$\partial C(\theta) = \partial (X^T V(\theta)^{-1} X)^{-1} = -C(\theta)\partial(X^T V(\theta)^{-1} X)C(\theta)$$

$$\partial(X^T V(\theta)^{-1} X) = \partial(X^T V(\theta)^{-1})X + \cancel{X^T V(\theta)^{-1}\partial(X)} \quad (\partial_{\sigma^2_{phy}}(X) \text{ et } \partial_{\sigma^2_{err}}(X) \text{ sont nulles})$$

$$\partial(X^T V(\theta)^{-1}) = \partial(X^T)V(\theta)^{-1} + X^T\partial(V(\theta)^{-1}) = \cancel{\partial(X)^T V(\theta)^{-1}} + X^T\partial(V(\theta)^{-1})$$

$$\partial(V(\theta)^{-1}) = -V(\theta)^{-1}\partial(V(\theta))V(\theta)^{-1}$$

$$\partial(V(\theta)) = \partial(\sigma^2_{phy}K + \sigma^2_{err}I_n)$$

Ce qui donne :

$$\partial_{\sigma^2_{phy}}(V(\theta)) = K, \quad \text{et} \quad \partial_{\sigma^2_{err}}(V(\theta)) = I_n$$

De là en remettant les formules explicite les unes dans les autres, on obtient :

$$[\nabla f(\hat{\theta})] = \begin{bmatrix} \partial_{\sigma^2_{phy}} f(\hat{\theta}) \\ \partial_{\sigma^2_{err}} f(\hat{\theta}) \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} l^T C(\hat{\theta}) X^T V(\hat{\theta})^{-1} K V(\hat{\theta})^{-1} X C(\hat{\theta}) l \\ l^T C(\hat{\theta}) X^T V(\hat{\theta})^{-1} I_n V(\hat{\theta})^{-1} X C(\hat{\theta}) l \end{bmatrix}$$

□

Calcul de A. A est la matrice variance-covariance de $\hat{\theta}$, c'est à dire l'inverse de la Hessienne H de la vraissemblance de $\hat{\theta}$: $A = H^{-1}$ Dans ce cadre on peut obtenir une formule explicite de la Hessienne, même si dans la plupart des cas il est plus simple d'estimer cette matrice par des méthodes numériques. On va d'abord calculer la log-vraissemblance du vecteur Y défini précédemment :

$$\begin{aligned} \mathcal{L}(\mathbf{Y}, \theta) &= \log\left(\frac{1}{(2\pi)^{n/2}|V(\theta)|^{1/2}} \exp\left(-\frac{1}{2}(Y - X\beta)^T V(\theta)^{-1}(Y - X\beta)\right)\right) \\ &= -\frac{n}{2}\log(2\pi) - \frac{1}{2}\log(|V(\theta)|) - \frac{1}{2}(Y - X\beta)^T V(\theta)^{-1}(Y - X\beta) \end{aligned}$$

On calcule les dérivées premières de la log-vraissemblance

$$\begin{aligned}\partial_{\sigma^2_{phy}}\mathcal{L} &= -\frac{1}{2}\partial_{\sigma^2_{phy}}(\log(|V(\theta)|)) - \frac{1}{2}\partial_{\sigma^2_{phy}}((Y-X\beta)^T V(\theta)^{-1}(Y-X\beta)) \\ &= -\frac{1}{2}Tr(V(\theta)^{-1}\partial_{\sigma^2_{phy}}(V(\theta))) - \frac{1}{2}(Y-X\beta)^T\partial_{\sigma^2_{phy}}(V(\theta)^{-1})(Y-X\beta) \\ &= -\frac{1}{2}Tr(V(\theta)^{-1}K) + \frac{1}{2}(Y-X\beta)^T V(\theta)^{-1}KV(\theta)^{-1}(Y-X\beta)\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\partial_{\sigma^2_{err}}\mathcal{L} &= -\frac{1}{2}\partial_{\sigma^2_{err}}(\log(|V(\theta)|)) - \frac{1}{2}\partial_{\sigma^2_{err}}((Y-X\beta)^T V(\theta)^{-1}(Y-X\beta)) \\ &= -\frac{1}{2}Tr(V(\theta)^{-1}\partial_{\sigma^2_{err}}(V(\theta))) - \frac{1}{2}(Y-X\beta)^T\partial_{\sigma^2_{err}}(V(\theta)^{-1})(Y-X\beta) \\ &= -\frac{1}{2}Tr(V(\theta)^{-1}I_n) + \frac{1}{2}(Y-X\beta)^T V(\theta)^{-1}I_nV(\theta)^{-1}(Y-X\beta)\end{aligned}$$

Puis les dérivées secondes :

$$\begin{aligned}\partial_{\sigma^2_{\mathbf{phy}}\sigma^2_{\mathbf{phy}}}\mathcal{L} &= -\frac{1}{2}\partial_{\sigma^2_{phy}\sigma^2_{phy}}(Tr(V(\theta)^{-1}K)) + \frac{1}{2}\partial_{\sigma^2_{phy}\sigma^2_{phy}}\left((Y-X\beta)^T V(\theta)^{-1}KV(\theta)^{-1}(Y-X\beta)\right) \\ &= -\frac{1}{2}Tr(\partial_{\sigma^2_{phy}\sigma^2_{phy}}(V(\theta)^{-1})K) + \frac{1}{2}(Y-X\beta)^T\partial_{\sigma^2_{phy}\sigma^2_{phy}}(V(\theta)^{-1}KV(\theta)^{-1})(Y-X\beta) \\ &= \frac{1}{2}Tr(V(\theta)^{-1}KV(\theta)^{-1}K) - (Y-X\beta)^T V(\theta)^{-1}KV(\theta)^{-1}KV(\theta)^{-1}(Y-X\beta)\end{aligned}$$

car $\partial((Y-X\beta)^T V(\theta)^{-1}KV(\theta)^{-1}(Y-X\beta)) = (Y-X\beta)^T\partial(V(\theta)^{-1}KV(\theta)^{-1})(Y-X\beta)$
et $\partial\left(V(\theta)^{-1}KV(\theta)^{-1}\right) = -V(\theta)^{-1}\partial V(\theta)V(\theta)^{-1}KV(\theta)^{-1} - V(\theta)^{-1}KV(\theta)^{-1}\partial V(\theta)V(\theta)^{-1}$
ce qui donne $\partial_{\sigma^2_{phy}\sigma^2_{phy}}\left(V(\theta)^{-1}KV(\theta)^{-1}\right) = -2V(\theta)^{-1}KV(\theta)^{-1}KV(\theta)^{-1}$

$$\begin{aligned}\partial_{\sigma^2_{\mathbf{err}}\sigma^2_{\mathbf{phylo}}}\mathcal{L} &= \partial_{\sigma^2_{\mathbf{phy}}\sigma^2_{\mathbf{err}}}\mathcal{L} \\ &= -\frac{1}{2}Tr(\partial_{\sigma^2_{phy}\sigma^2_{err}}(V(\theta)^{-1})K) + \frac{1}{2}(Y-X\beta)^T\partial_{\sigma^2_{phy}\sigma^2_{err}}(V(\theta)^{-1}KV(\theta)^{-1})(Y-X\beta) \\ &= \frac{1}{2}Tr(V(\theta)^{-1}I_nV(\theta)^{-1}K) - \frac{1}{2}(Y-X\beta)^T(V(\theta)^{-1}V(\theta)^{-1}KV(\theta)^{-1} + \\ &V(\theta)^{-1}KV(\theta)^{-1}V(\theta)^{-1})(Y-X\beta)\end{aligned}$$

car $\partial_{\sigma^2_{phy}\sigma^2_{err}}\left(V(\theta)^{-1}KV(\theta)^{-1}\right) = -(V(\theta)^{-1}V(\theta)^{-1}KV(\theta)^{-1} + V(\theta)^{-1}KV(\theta)^{-1}V(\theta)^{-1})$

$$\begin{aligned}\partial_{\sigma^2_{\mathbf{err}}\sigma^2_{\mathbf{err}}}\mathcal{L} &= -\frac{1}{2}\partial_{\sigma^2_{err}\sigma^2_{err}}(Tr(V(\theta)^{-1})) + \frac{1}{2}\partial_{\sigma^2_{err}\sigma^2_{err}}\left((Y-X\beta)^T V(\theta)^{-1}V(\theta)^{-1}(Y-X\beta)\right) \\ &= \frac{1}{2}Tr(V(\theta)^{-1}V(\theta)^{-1}) - (Y-X\beta)^T V(\theta)^{-1}V(\theta)^{-1}V(\theta)^{-1}(Y-X\beta)\end{aligned}$$

De là on obtient la Hessienne $\begin{pmatrix}\partial_{\sigma^2_{phy}\sigma^2_{phy}}\mathcal{L} & \partial_{\sigma^2_{phy}\sigma^2_{err}}\mathcal{L} \\ \partial_{\sigma^2_{err}\sigma^2_{phy}}\mathcal{L} & \partial_{\sigma^2_{err}\sigma^2_{err}}\mathcal{L}\end{pmatrix}$ puis A en l'inversant, ce qui peut se faire par des méthodes numériques.

□

2.6 REML

REML, ou Maximum de Vraisemblance Restreint (Restricted Maximum Likelihood en anglais), est une méthode statistique utilisée dans l'estimation des paramètres de modèles linéaires mixtes (ou modèles à effets mixtes) et dans l'analyse de la variance (ANOVA). Il s'agit d'une approche alternative à la méthode de maximum de vraisemblance (ML) standard, notamment lorsque l'on travaille avec des modèles à effets aléatoires.

TODO : formule pour montrer la différence ? TODO : Pourquoi l'utiliser pour Satterthwaite ?

2.7 LRT

TODO Expliquer LRT rapidement. Décrire la statistique de test et coûte plus cher car besoin de fitter 2 modèles au lieu de 1 seul pour les autres tests.

3 Simulations

3.1 Erreur de type I et puissance

Dans cette partie nous souhaitons comparer les résultats de l'ANOVA et de l'ANOVA phylogénétique classique, avec approximation de Satterthwaite et avec le *Likelihood ratio test*. Pour cela nous allons simuler des données selon plusieurs modalités et évaluer l'*erreur de première espèce* et la *puissance* obtenue.

— Des données réparties en deux groupes au hasard par rapport à la phylogénie.

— Des données réparties en deux groupes cohérents avec la phylogénie.

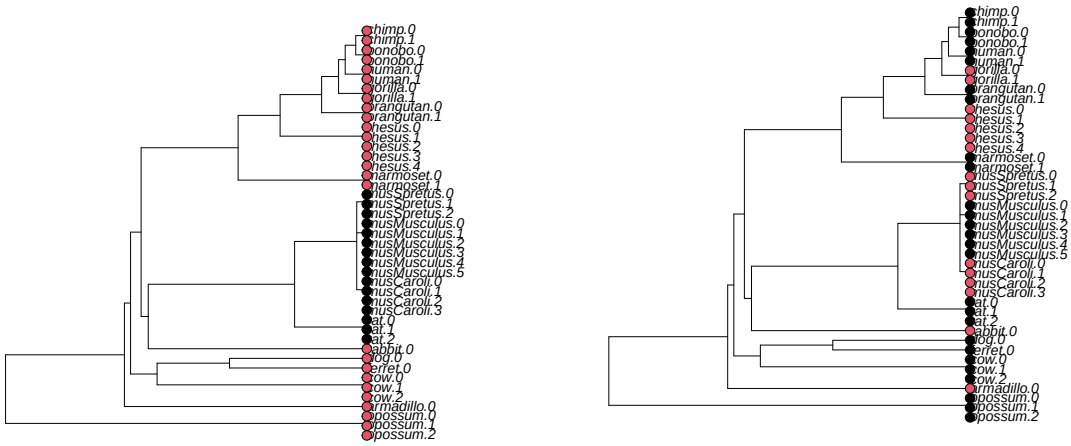
En sélectionnant des espèces de manière aléatoire, nous cassons la structure induite par la phylogénie. Nous nous attendons donc à ce que l'ANOVA réalise de meilleurs résultats en ne prenant pas en compte l'information phylogénétique.

Pour les simulations avec des groupes respectant la structure de l'arbre phylogénétique, nous nous attendons à ce que l'ANOVA phylogénétique parvienne à mieux prendre en compte l'information apportée par la phylogénie et à démêler son effet.

Pour faire nos simulations dans un contexte proche du cas réel nous allons utiliser l'arbre présenté sur la figure 1.

Nous choisissons de diviser les espèces en deux groupes. Pour le groupe respectant la phylogénie, on a d'un côté les espèces du genre *Mus* avec les rats et les autres espèces dans un autre groupe (voir la figure 3a).

Et pour le groupe ne respectant pas la phylogénie, nous avons sélectionnés les espèces en respectant les proportions des groupes définis avant afin de rendre les résultats comparables (voir la figure 3b). Enfin pour que notre analyse soit reproductible nous fixons la graine à 1234.



(a) Groupes *Mus* et rats contre les autres

(b) Groupes sélectionnés sans respect de la phylogénie.

FIGURE 3 – Arbre et groupes pour les simulations

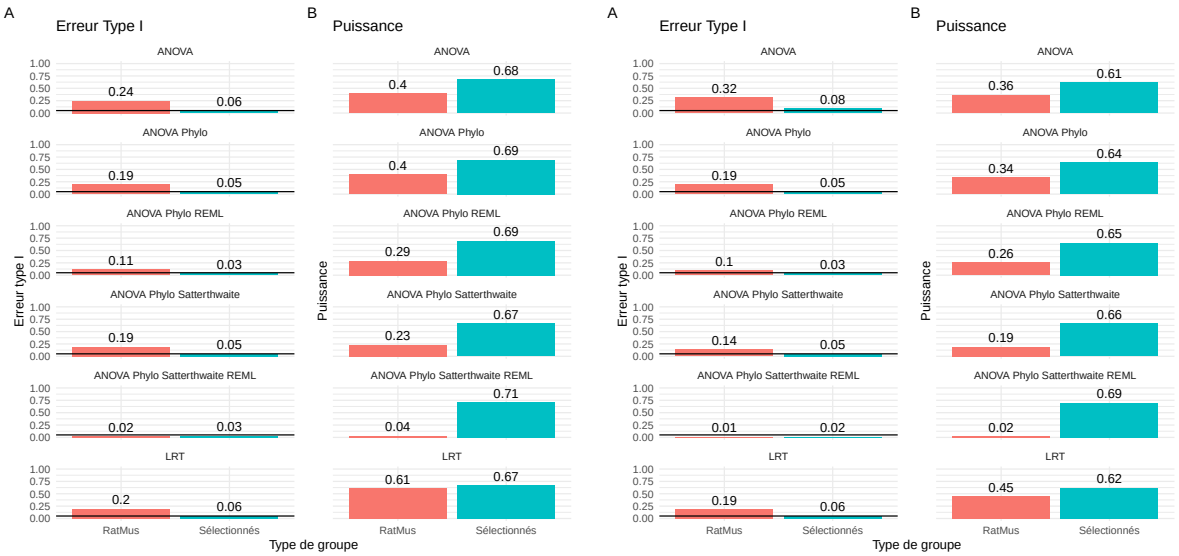
Afin d'avoir un paramètre unique à faire varier, nous re-paramétrisons le modèle, la variance totale v_{tot} suit la relation $v_{tot} = \sigma^2_{phylo} + \sigma^2_{measure} = 1$. Nous allons faire prendre à h, défini comme l'héritabilité, les valeurs $h \in (0.3, 0.5, 0.7, 0.9)$. L'héritabilité est liée à σ^2_{phylo} et $\sigma^2_{phylo} = h \times v_{tot}$. Et alors $\sigma^2_{measure} = (1-h) \times v_{tot}$. Ainsi, $h = 0$ signifie qu'il y a seulement du bruit, et $h = 1$ seulement de l'information phylogénétique.

Pour les valeurs quantitatives des 2 groupes, nous avons 2 valeurs différentes :

$$\mu_1 = 0, \qquad \mu_2 = snr \times v_{tot} = \frac{taille\ d'effet}{\cancel{v_{tot}}} \times \cancel{v_{tot}} = 1 \tag{9}$$

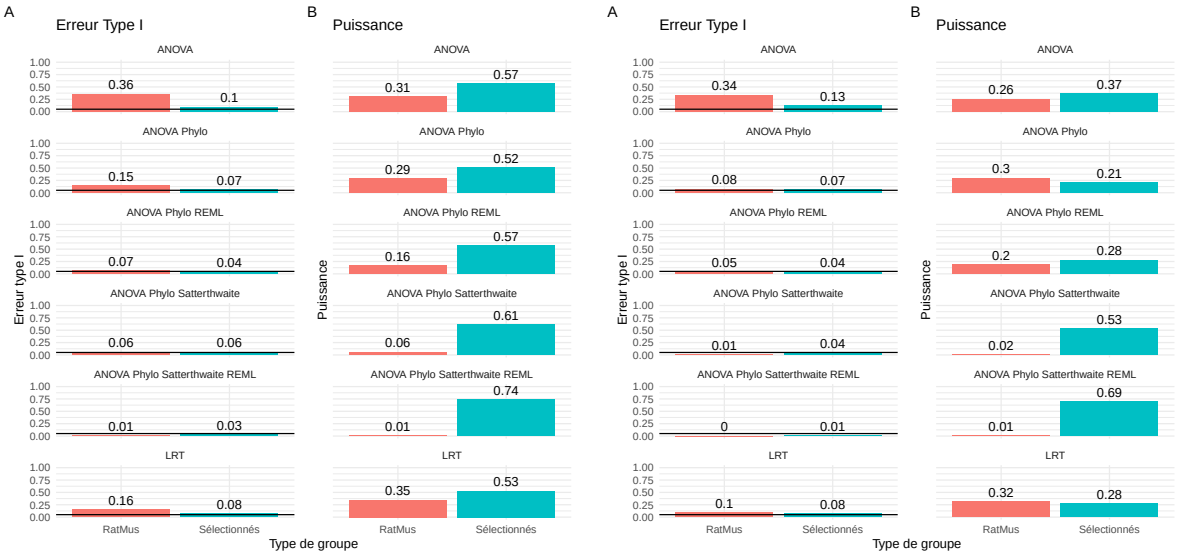
Note : snr signifie *signal noise ratio* et comme indiqué est donc le rapport entre la taille d'effet et la variance totale. Et dans l'équation 9, μ_1 et μ_2 correspondent aux β_1 et β_2 définis dans la sous-section 2.2.

Pour chaque valeur d'héritabilité, nous allons générer 500 jeux de données différents sur lesquels les méthodes sont utilisées avec les valeurs définies dans l'équation 9.



(a) $h = 0.3$

(b) $h = 0.5$



(c) $h = 0.7$

(d) $h = 0.9$

FIGURE 4 – Erreur de type I et puissance pour les simulations en faisant varier l'héritabilité

Sur toutes les sous-figures de la figure 4, les étiquettes A présentent les erreurs de type I commises par les méthodes et les étiquettes B présentent les puissances des mêmes méthodes.

L'erreur de type I est particulièrement importante à contrôler, en effet elle indique le nombre de faux positifs et l'on veut pouvoir en déterminer le seuil α avec comme seuil classique 0.05.

TODO Insister sur pourquoi trop de faux-positifs pour l'ANOVA classique, du fait de la structure Brownienne, deux clades peuvent être éloignés au niveau temporel beaucoup de génération. En oubliant la structure, on peut vouloir mettre un saut alors que l'écart est simplement dû à de la dérive. L'ANOVA suppose des données iid ce qui n'est pas le cas ici.

TODO Important de préciser qu'il faut contrôler l'erreur de type I car les manips coûtent très cher.

TODO Ajouter les commentaires sur les simulations

REML vs Maximum Likelihood (ML) D'après nos simulations, les méthodes utilisant le REML contrôle toujours mieux l'erreur de première espèce que les méthodes utilisant le maximum de vraisemblance.

4 Application aux données réelles

Ici nous appliquons les méthodes implémentées sur l'arbre de Chen et al. 2019.

Les données compilées par Chen et al. 2019 sont des données de RNA-seq, c'est-à-dire des données quantifiant l'expression des gènes, par le biais du transcriptome, parmi les différentes espèces du bout de l'arbre.

Le but est alors d'identifier les gènes différentiellement exprimés, au sens de nombre d'ARN par gène différent entre les espèces.

4.1 Modalités des tests

Nous appliquons les différentes méthodes que nous avons implémentées dans le code.

Ci-dessous la figure 5 présente les p-values ordonnées des différentes méthodes. Il s'agit d'une visualisation classique pour les données RNA-seq. Il est important de noter que ce graphique présente les p-values *non ajustées*.

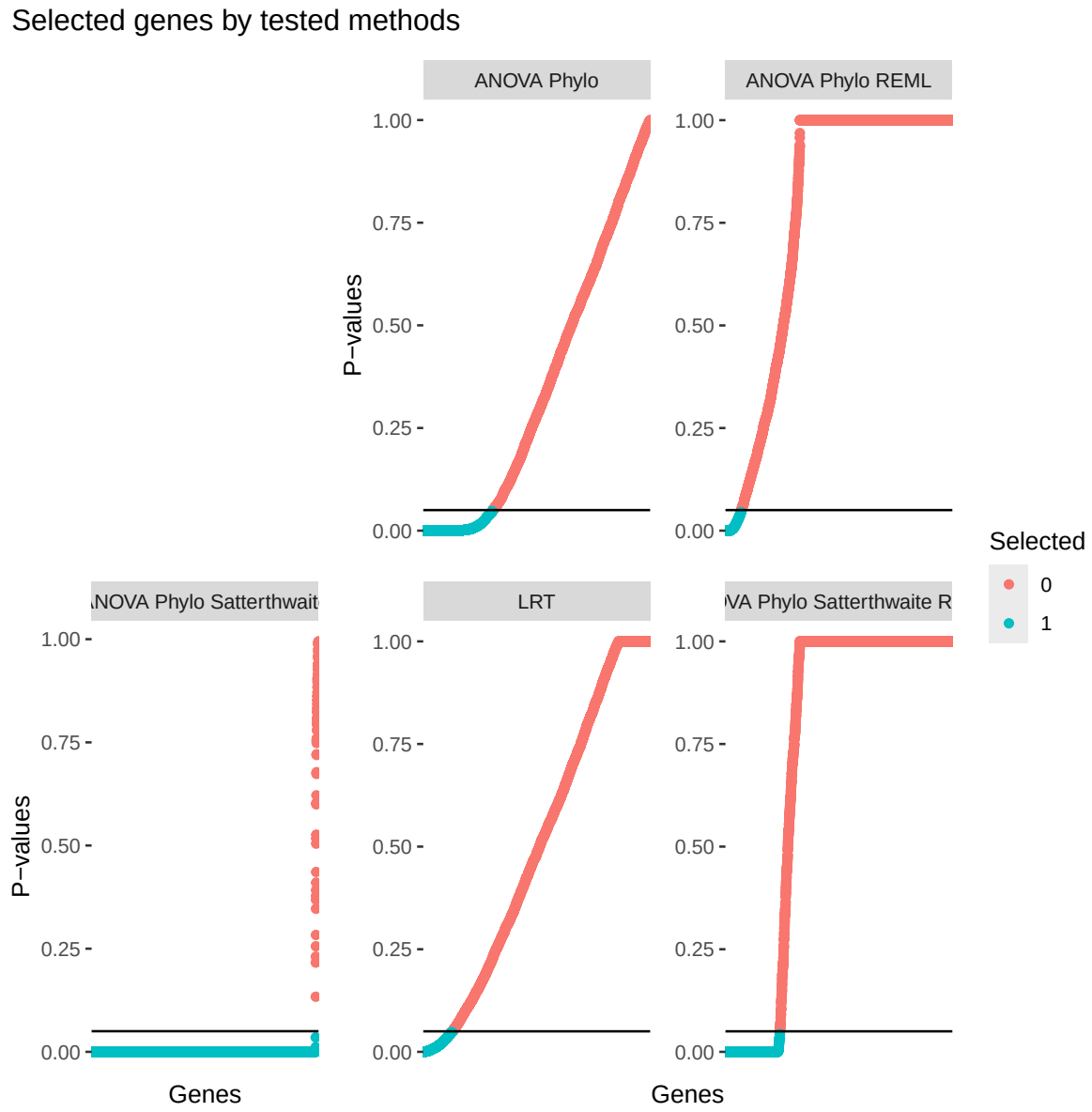


FIGURE 5 – *p-values* ordonnées pour les différents tests

Pour la suite de cette analyse, nous allons appliquer un ajustement des p-values pour les test multiples, nommément la correction de BENJAMINI et HOCHBERG 1995.

Une fois ces corrections appliquées, nous allons comparer les gènes sélectionnés, c'est-à-dire différentiellement exprimés.

On peut voir que la méthode de Satterthwaite sans REML a sélectionné énormément de gènes, 5346 comme étant différentiellement exprimés.

Ce résultat n'étant pas biologiquement crédible, nous préférons ne pas l'afficher dans le *UpSet diagram*, figure 6.

4.2 EVEmodel

Dans l'article ROHLFS et NIELSEN 2015, les auteurs introduisent une méthode de détection des gènes différentiellement exprimés. Cette méthode est à l'heure actuelle très

utilisée pour cette problématique.

Elle détecte ici 209 gènes différentiellement exprimés.

Son principe de fonctionnement suppose que les traits évoluent selon un processus d'Ornstein-Uhlenbeck et le test réalisé est un *Likelihood Ratio test*.

Remarque : La méthode a produit des `NA` pour certains gènes, d'après le message d'erreur, des optimisations n'ont pas convergées. Ces gènes sont présentés dans le tableau 1.

Toutes les méthodes

Nous allons ici comparer toutes les méthodes dans un *UpSet diagram* (figure 6) afin de voir les gènes sélectionnés en commun et les éventuelles différences entre les méthodes.

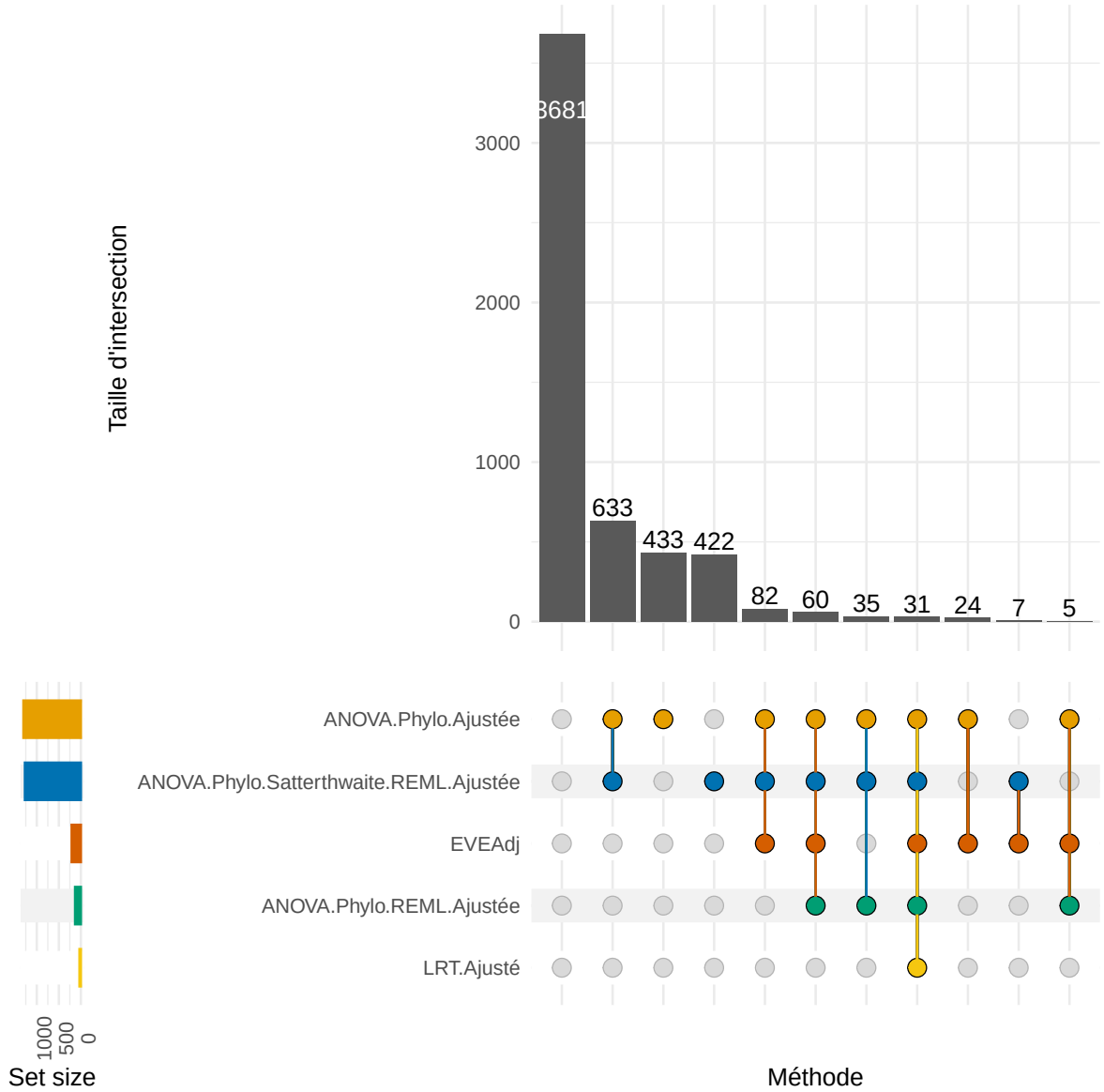


FIGURE 6 – *UpSet diagram* de toutes les méthodes en incluant la méthode EVE

Analyse des résultats Nous pouvons voir que la méthode la plus parcimonieuse est celle utilisant le LRT, qui sélectionne 31 gènes qui sont eux-mêmes **sélectionnés par toutes les méthodes**. Cette unanimité sur ces gènes nous invite à penser qu'ils sont en effet différentiellement exprimés.

La seconde méthode sélectionnant le moins de gènes est l'ANOVA Phylogénétique avec REML. Elle sélectionne 131 gènes. Ces sélections se décompose en plusieurs sous ensembles

TODO Ici nous avons supposé un mouvement brownien comme processus sous-jacent de l'arbre mais ce n'est peut-être pas le meilleur modèle et un OU pourrait être intéressant. Intéressant pour l'ouverture.

5 Conclusions sur le projet

Intro

Application/Résultats : décrire les données, vite fait normalisation avec vrai aebre, on ne connait pas Discussion/COnclusion ? Interprétation des résultats sinon la mettre dans les f-cicd : CI/CD to build Latex PDF ... CI/CD to build Latex pdf and create a release in with GitHub Actions. The workflow triggers on push to the repository. Integrates with Overleaf.

Références

Bartlett, Maurice Stevenson et Ralph Howard Fowler (jan. 1997). « Properties of Sufficiency and Statistical Tests ». In : *Proceedings of the Royal Society of London. Series A - Mathematical and Physical Sciences* 160.901, p. 268-282. doi : 10.1098/rspa.1937.0109. url : https://royalsocietypublishing.org/doi/10.1098/rspa.1937.0109 (visité le 17/03/2024).

Bastide, Paul et Julien Clavel (déc. 2022). « Continuous Trait Evolution ».

Bastide, Paul, Mahendra Mariadassou et Stéphane Robin (juill. 2022). « Modèles d'évolution de caractères continus ». In : Didier, Gilles et Stéphane Guindon. *Modèles et méthodes pour l'évolution biologique*. ISTE Group, p. 47-85. isbn : 978-1-78948-069-6. doi : 10.51926/ISTE.9069.ch3. url : https://www.istegroup.com/fr/produit/modeles-et-methodes-pour-levolution-biologique/?/47495 (visité le 14/11/2023).

Bastide, Paul, Charlotte Soneson et al. (1er jan. 2023). « A Phylogenetic Framework to Simulate Synthetic Interspecies RNA-Seq Data ». In : *Molecular Biology and Evolution* 40.1, msac269. issn : 1537-1719. doi : 10.1093/molbev/msac269. url : https://doi.org/10.1093/molbev/msac269 (visité le 20/11/2023).

Bel, L et al. (s. d.). *Le Modèle Linéaire et ses Extensions*.

Benjamini, Yoav et Yosef Hochberg (1995). « Controlling the False Discovery Rate : A Practical and Powerful Approach to Multiple Testing ». In : *Journal of the Royal Statistical Society. Series B (Methodological)* 57.1, p. 289-300. issn : 0035-9246. JSTOR : 2346101. url : https://www.jstor.org/stable/2346101 (visité le 17/03/2024).

Bgee (2023). *Bgee : Gene Expression Data in Animals*. url : https://www.bgee.org/ (visité le 20/11/2023).

Chen, Jenny et al. (jan. 2019). « A Quantitative Framework for Characterizing the Evolutionary History of Mammalian Gene Expression ». In : *Genome Res* 29.1, p. 53-63. issn : 1549-5469. doi : 10.1101/gr.237636.118. pmid : 30552105.

Gomez-Mestre, Ivan, Robert Alexander Pyron et John J. Wiens (2012). « Phylogenetic Analyses Reveal Unexpected Patterns in the Evolution of Reproductive Modes in Frogs ». In : *Evolution* 66.12, p. 3687-3700. issn : 1558-5646. doi : 10.1111/j.1558-5646.2012.01715.x. url : https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1558-5646.2012.01715.x (visité le 13/11/2023).

Harville, David A. (1er juin 1977). « Maximum Likelihood Approaches to Variance Component Estimation and to Related Problems ». In : *Journal of the American Statistical Association* 72.358, p. 320-338. issn : 0162-1459. doi : 10.1080/01621459.1977.10480998. url : https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/01621459.1977.10480998 (visité le 17/03/2024).

Kuznetsova, Alexandra, Per B. Brockhoff et Rune H. B. Christensen (2017). « **lmerTest** Package : Tests in Linear Mixed Effects Models ». In : *J. Stat. Soft.* 82.13. issn : 1548-7660. doi : 10.18637/jss.v082.i13. url : http://www.jstatsoft.org/v82/i13/ (visité le 01/03/2024).

Patterson, H. D. et R. Thompson (1er déc. 1971). « Recovery of Inter-Block Information When Block Sizes Are Unequal ». In : *Biometrika* 58.3, p. 545-554. issn : 0006-3444. doi : 10.1093/biomet/58.3.545. url : https://doi.org/10.1093/biomet/58.3.545 (visité le 17/03/2024).

Petersen, Kaare Brandt et Michael Syskind Pedersen (2012). *The Matrix Cookbook*. Version 20121115. url : http://matrixcookbook.com.

Rohlfs, Rori V. et Rasmus Nielsen (1er sept. 2015). « Phylogenetic ANOVA : The Expression Variance and Evolution Model for Quantitative Trait Evolution ». In : *Systematic Biology* 64.5, p. 695-708. issn : 1063-5157. doi : 10.1093/sysbio/syv042. url : https://doi.org/10.1093/sysbio/syv042 (visité le 06/03/2024).

Satterthwaite, F. E. (déc. 1946). « An Approximate Distribution of Estimates of Variance Components ». In : *Biometrics Bulletin* 2.6, p. 110. issn : 00994987. doi : 10.2307/3002019. JSTOR : 10.2307/3002019. url : https://www.jstor.org/stable/10.2307/3002019?origin=crossref (visité le 08/01/2024).

Wide Cross-species RNA-Seq Comparison Reveals Convergent Molecular Mechanisms Involved in Nickel Hyperaccumulation across Dicotyledons - García de La Torre - 2021 - New Phytologist - Wiley Online Library (2023). url : https://nph.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/nph.16775 (visité le 20/11/2023).

A Application aux données réelles

Comme nous l'avons remarqué dans la section 4 l'application de la méthode EVEmodel a produit des valeurs manquantes pour les gènes présentés dans le tableau suivant.

Gènes ayant produits des NA
OG15121
OG3765
OG4072
OG412
OG4690
OG594
OG7272
OG7523
OG7564
OG8117
OG8343
OG9829

TABLE 1 – Table des gènes pour lesquels la méthode `EVEmodel` a produit des NA

Code du projet

Tout le code produit est disponible sur le dépôt GitHub suivant `https://github.com/Polarolouis/anova-phylogenetique-projet-msv/`. Ce dépôt contient le code pour implémenter la méthode, faire les simulations et compiler le rapport.

Nous avons au maximum indiqué le code qui n'a pas été écrit par nous, la plupart du temps dans les commentaires du code.