Introducción a la Genómica
UNAL nov 2017

Alejandro Cáceres
ISGlobal, Barcelona

October 17, 2017

Genome-wide association studies

En los estudios de asociación genética se prueba la correlación (association) entre los SNPs y un fenotipo de interés. Siven para

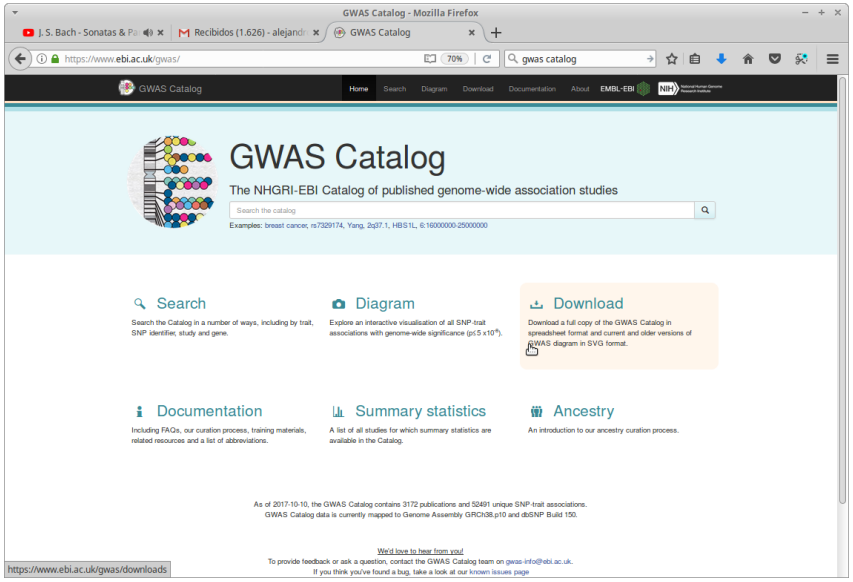
- identificar variantes genéticos que den pistas sobre el desarrollo del fenotipo (enfermedad)
- medir la carga genética (heredabilidad) de un fenotipo
- crear modelos de riezgo genético que predigan la probabilidad de desarrollar una enfermedad.
- para ver los variantes funcionales que afectan endofenotipos como expresión genica (eQTls)

Genome-wide association studies

Una Gran cantidad de GWAS se han hecho hasta el momento. Se puden consultar en GWAS catalog

Genome-wide association studies

Una Gran cantidad de GWAS se han hecho hasta el momento. Se puden consultar en GWAS catalog



Genome-wide association studies

Ejercicio:

- buscar en el GWAS catalog los resultados de estudios de Alzheimer's.
- buscar cuales GWAS han encontrado variantes geneticos en BRCA1

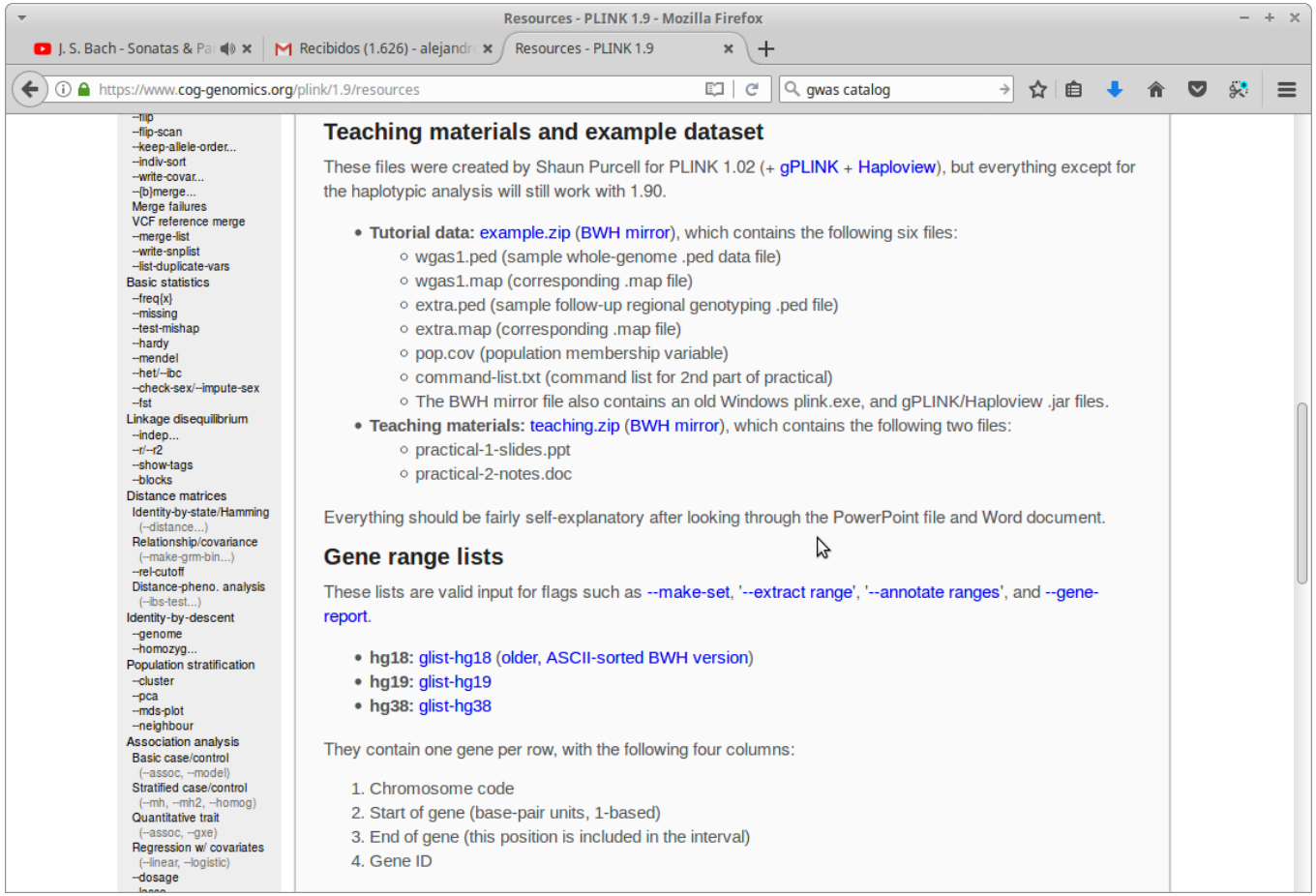
Software

Han una gran cantidad de software para hacer estos análisis

- PLINK, rapido pero por linea de comandos. Da poca flexibilidad
- snpStats mas lento pero se pueden aprovechar los paquetes de R
- codigo en R. Se puede usar cualquier tipo de test. Lo ideal es paralelizar.
- snpAssoc. Tambien en R. Para estudios con número limitado de SNPs pero prueba todos lo modelos geneticos y ajusta por el número de tests.

PLINK

PLINK tiene unos datos de prueba y y unos ejemplos de analisis sobre ellos



snpStats

Veamos un ejmplo de analis con snpStats
Cargamos los genotipos

```
library("snpStats")

## Loading required package:  survival
## Loading required package:  Matrix

load("datos/snp.RData")
snp

## A SnpMatrix with  1500 rows and  439 columns
## Row names:  1 ... 1500
## Col names:  1 ... 439
```

snpStats

cargamos los fenotipos

```
phenos<-read.table("datos/phenosCont.txt",header=TRUE)
head(phenos)
```

```
##    pop caco           X1          X2           X3
## 1 Pop1    1 -0.045452947  0.02677151  0.028941220
## 2 Pop1    0  0.018036264 -0.03361612 -0.048915896
## 3 Pop1    1  0.001631087  0.03286500  0.004391887
## 4 Pop1    0  0.021977998 -0.05069528 -0.092101747
## 5 Pop1    0 -0.003845641  0.02882352  0.048173898
## 6 Pop1    0  0.017218303 -0.01419022 -0.011262438
```

snpStats

Análisis de asociación

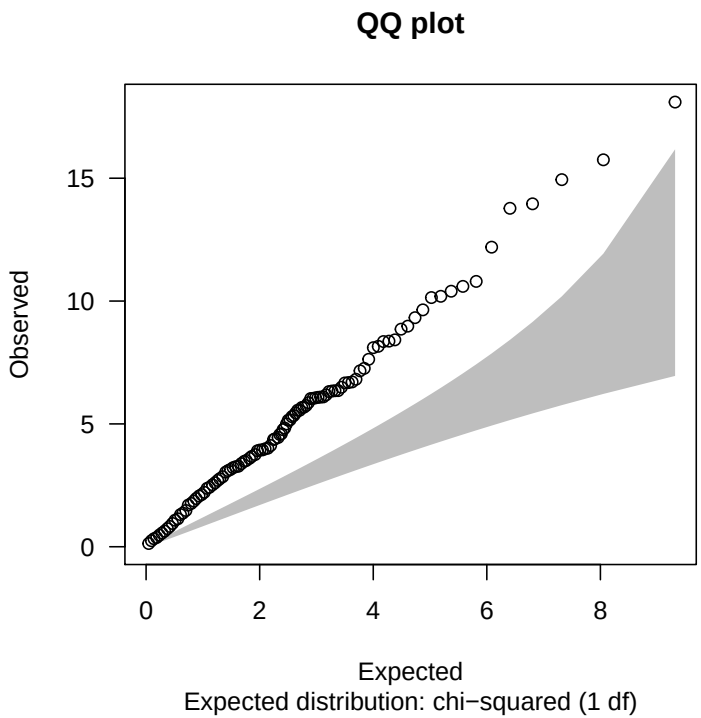
```
results <- snp.rhs.tests(phenos$caco~1, snp.data=snp)
results[1:10]

##    Chi.squared Df     p.value
## 1   10.4005458  1 0.001259781
## 2    8.3516844  1 0.003853300
## 3    2.5211014  1 0.112332103
## 4   12.1936022  1 0.000479537
## 5    0.8892616  1 0.345677499
## 6    2.2825407  1 0.130837388
## 7    0.2688703  1 0.604090611
## 8    0.4893109  1 0.484234857
## 9    4.7639765  1 0.029061334
## 10   3.2426563  1 0.071744229
```

en la sintaxis se omite efecto de interes de los SNPs en la correlación.

snpStats

El Q-Q plot compara los p-valores obtenidos con los p-vlaores que esperaríamos por azar

```
qq.chisq(chi.squared(results), 1)

##           N    omitted     lambda
## 439.000000   0.000000   2.124386
```



vamos que los p-vlaores obtenidos son típicamente mas altos, están inflados.

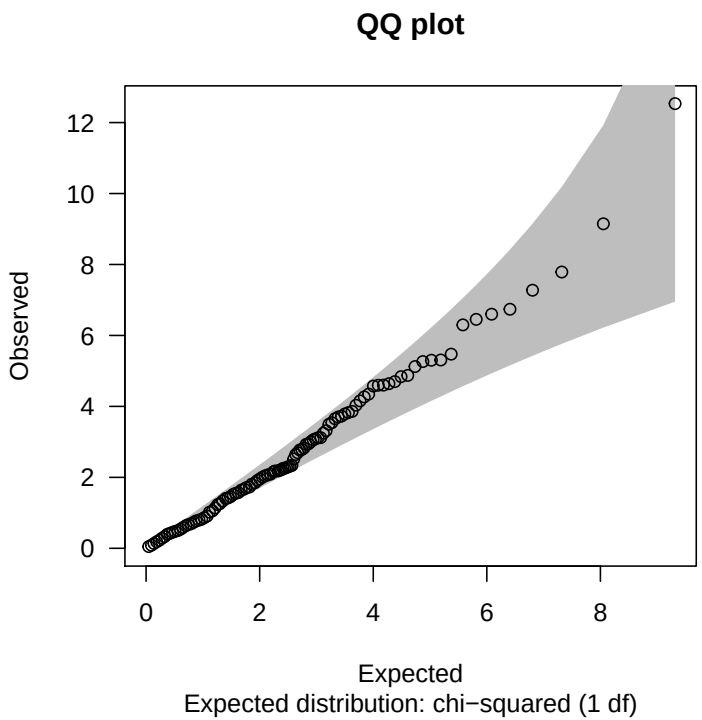
Corrección por estratificación poblacional

Si el fenotipo se correlaciona con la ancestría y esta es detectada por los SNPs, los valores de correlación entre fenotipo y SNPs están confundidos porla ancestría. Debemos corregir por la ancestrá como una covariable.

Corrección por estratificación poblacional

Incluimos la ancestria pop en la asociación

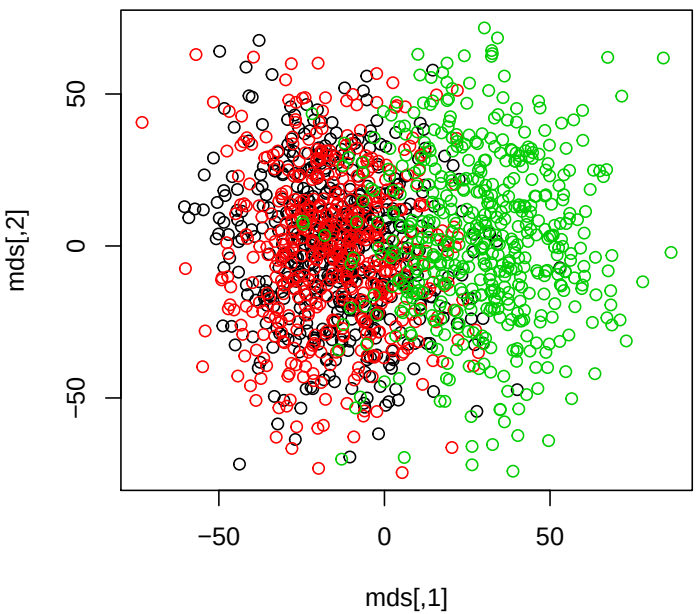
```
resultsAd <- snp.rhs.tests(phenos$caco~phenos$pop, snp.data=snp)
qq.chisq(chi.squared(resultsAd), 1)

##           N    omitted      lambda
## 439.000000   0.000000   1.008353
```



Corrección por estratificación poblacional

Si no tenemos los datos de ancestrı'a los podemos inferir de la PCA de los SNPs

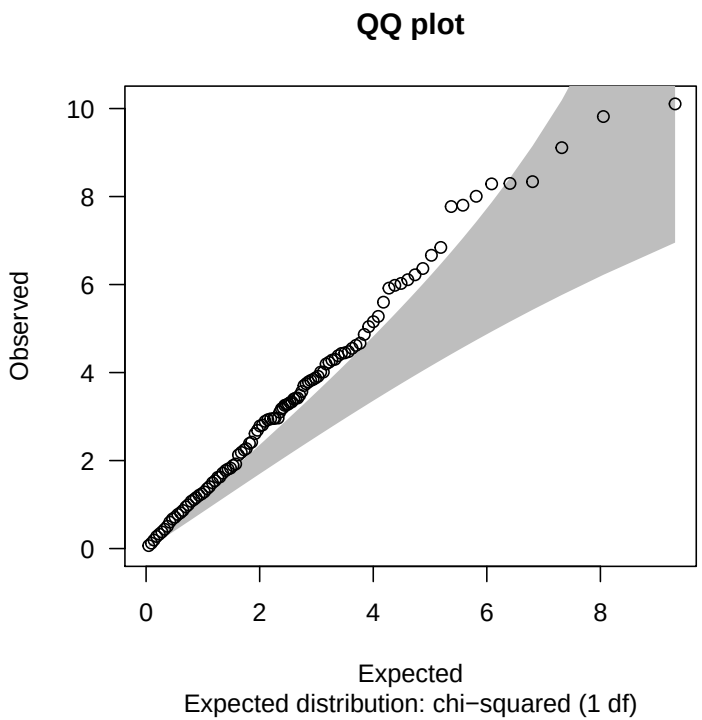
```
snpnum<-matrix(as.numeric(snp),ncol=ncol(snp))
d<-dist(snpnum, method="manhattan")
mds<- cmdscale(d,eig=TRUE, k=2)$points
plot(mds,col=phenos$pop)
```



Corrección por estratificación poblacional

Incluimos PCAs en la asociación

```
resultsAdPCA <- snp.rhs.tests(phenos$caco~mds[,1]+mds[,2], snp.data=snp

qq.chisq(chi.squared(resultsAdPCA), 1)

##           N    omitted      lambda
## 439.000000   0.000000   1.403764
```



asociación en R

Para tener mas control en las asociaciones se pueden usar las funciones básicas de R como `glm`.

```
mod<-glm(phenos$caco~snpnum[,1]+mds[,1]+mds[,2], family="binomial")
summary(mod)

##
## Call:
## glm(formula = phenos$caco ~ snpnum[, 1] + mds[, 1] + mds[, 2],
##     family = "binomial")
##
## Deviance Residuals:
##     Min       1Q   Median       3Q      Max
## -2.3609  -1.0972   0.5874   0.9943   1.8875
##
## Coefficients:
##              Estimate Std. Error z value Pr(>|z|)
## (Intercept)  0.626509   0.161892   3.870 0.000109 ***
## snpnum[, 1] -0.160589   0.077518  -2.072 0.038300 *
## mds[, 1]     0.029849   0.002320  12.864  < 2e-16 ***
## mds[, 2]     0.002336   0.002175   1.074 0.282769
## ---
## Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```

asociación en R

la información para la asociación del primer SNP se exptrae como

```
summod<-summary(mod)
summod$coeff

##                 Estimate  Std. Error   z value     Pr(>|z|)
## (Intercept)  0.626509309 0.161892007  3.869921 1.088705e-04
## snpnum[, 1] -0.160589175 0.077518112 -2.071634 3.829956e-02
## mds[, 1]     0.029849020 0.002320284 12.864380 7.141304e-38
## mds[, 2]     0.002336155 0.002174946  1.074121 2.827686e-01

summod$coeff[2,c(1,4)]

##    Estimate    Pr(>|z|)
## -0.16058917  0.03829956
```

associación en R

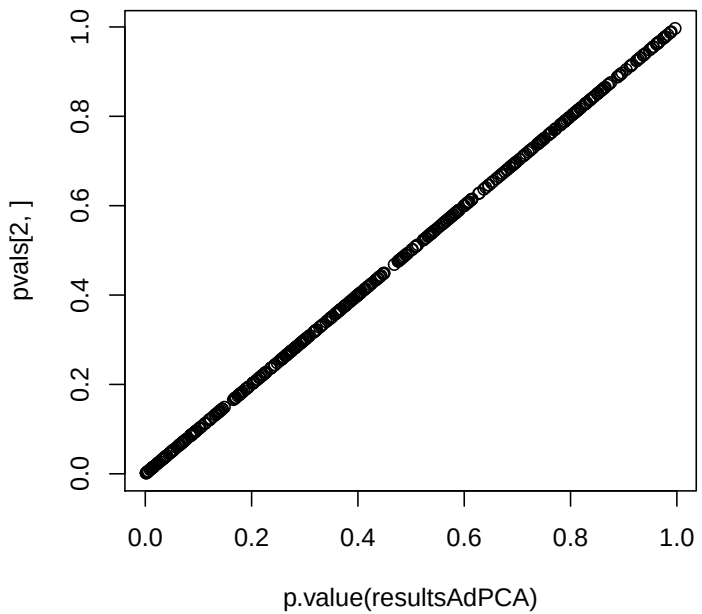
La información para todos los SNPs.

```
pvals<-sapply(1:ncol(snpnum), function(j)
{
  mod<-glm(phenos$caco~snpnum[,j]+mds[,1]+mds[,2], family="binomial")
  summod<-summary(mod)
  summod$coeff
  summod$coeff[2,c(1,4)]
})
head(t(pvals))

##          Estimate    Pr(>|z|)
## [1,] -0.16058917 0.038299564
## [2,] -0.11357896 0.139997189
## [3,] -0.09533903 0.203844762
## [4,] -0.21930524 0.004046846
## [5,]  0.03336892 0.669076533
## [6,]  0.09750542 0.225846032
```

associación en R

Los resultados son idénticos a los obtenidos con snpStats

```
plot(p.value(resultsAdPCA), pvals[2,])
```



Genome-wide association studies

Elementos importantes a considerar.

- Usamos p-valores para identificar los SNPs que mas se correlacionan con el fenotipo
- la verdadera hipótesis del estudio es si existe *algún* SNP que se correlacione con el fenotipo
- si nos creemos SNPs con $p < 0.05$ entonces siempre identificaríamos al rededor de 5% de asociaciones significativas, que son realmente puro azar.
- tememos que ajustar por el número de SNPs que probamos y creernos solo $p = 0.05/nunSNPs$
- en GWAS de 1 millon de SNPs esto significa $p < 10^{-8}$

Ejercicio

- Estudio de asociación en código R si ajustamos por la ancestría dada por la variable `pop` en `phenos`.
- comparar con los pvalores que obtuvimos antes
- Qué podemos decir en términos de poder estadístico y falsos positivos?

Ejercicio

```
pvalsPop<-sapply(1:ncol(snpnum), function(j)
{
  mod<-glm(phenos$caco~snpnum[,j]+phenos$pop, family="binomial")
  summod<-summary(mod)
  summod$coeff
  summod$coeff[2,c(1,4)]
})
```

Ejercicio

```
plot(pvals[2,],pvalsPop[2,])
```