

## Oznamy

- Zabudnutý kvíz do budúcej stredy, dnes sa objaví posledný
- Dnes posledná prednáška, po prednáške cvičenia pre biológov
- Budúci štvrtok 11.12.:
  - posledné cvičenia pre informatikov
- Štvrtok 11.12. alebo 18.12.:
  - nepovinné prezentácie journal clubu v čase prednášky (chcete?)
  - predbežné prezentácie / konzultácie projektu pre biológov (dohodneme)
- Termíny na konci semestra
  - DÚ3 streda 17.12., správy zo journal clubu piatok 19.12.
- Skúška pre informatikov
  - predtermín piatok 19.12. 13:15 – záujemci?
  - riadny termín ?
  - opravné termíny dohodneme po skúške
  - informácie ku skúške na stránke

# Polymorfizmus a populačná genetika

Broňa Brejová

4.12.2025



## Populačná genetika

- Rôzne jedince toho istého druhu nemajú identický genóm
- Tieto rozdiely vplývajú na fenotyp (výzor, správanie, choroby, ...)
- Genómy viacerých jedincov môžeme sekvenovať a porovnávať s referenčnou verziou

## Možné aplikácie populačnej genetiky:

- Úloha jednotlivých genetických rozdielov
- História a charakter populácie (podpopulácie, migrácia, historická veľkosť populácie)

## SNPy (Single Nucleotide Polymorphisms)

- SNP: jednobázová variabilita medzi jedincami ( $> 1\%$  jedincov)
- Obvykle iba dve formy: **väčšinová** a **menšinová** alela
- Aj malá zmena v DNA môže spôsobiť veľké fenotypické zmeny

### Systematické mapovanie SNPov:

Projekt 1000 ľudských genómov 2008-2015

identifikácia  $> 95\%$  SNPov s aspoň  $1\%$  frekvenciou menšinovej alely  
pomocou NGS sekvenovania

UK Biobank:

500 000 genómov (Nov.2023) plus rozsiahle medicínske dáta o účastníkoch

Plus mnoho ďalších veľkých projektov

## Mapovanie asociácií (Trait/Disease Association Mapping)

- Znaky (a choroby) vznikajú kombináciou genetických a environmentálnych vplyvov
- Cieľ: Identifikovať genetické vplyvy
  - Aký je risk choroby s dedičným faktorom u danej osoby?
  - Ako fungujú choroby (na základe génov, ktorých mutácie ich spôsobujú)?
  - Vývoj nových liekov, ich správne cielenie (farmakogenomika)

Napr. mutácie v génoch rodiny cytochrómu P450 majú vplyv na odbúravanie liekov v pečeni, ovplyvňujú veľkosť potrebnej dávky

## Diploidné genómy

- Človek má **diploidný genóm**:  
má v bunkách po dva chromozómy 1...22  
plus pohlavné chromozómy X,X alebo X,Y
- Jeden chromozóm z páru od matky, jeden od otca
- Pre daný SNP s alelami (formami)  $a$ ,  $A$   
môže byť **homozygot** ( $aa$  alebo  $AA$ ),  
alebo **heterozygot** ( $aA$ )
- Ak nejaká choroba zapríčinená alelou  $a$ ,  
tak sa môže prejaviť iba pri homozygotoch  $aa$ ,  
alebo aj pri heterozygotoch  $aA$ ,  
alebo môže byť pri  $aa$  silnejšia ako pri  $aA$

## Diploidné genómy

- Človek má **diploidný genóm**:  
má v bunkách po dva chromozómy 1...22  
plus pohlavné chromozómy X,X alebo X,Y
- Jeden chromozóm z páru od matky, jeden od otca
- Pre daný SNP s alelami (formami)  $a$ ,  $A$   
môže byť **homozygot** ( $aa$  alebo  $AA$ ),  
alebo **heterozygot** ( $aA$ )
- **Haplotyp**: kombinácia aliel rôznych SNPov na tom istom chromozóme  
(zdedená od jedného rodiča)  
Diploidný jedinec má teda dva haplotypy

chr1 od matky: ...A...T...G... ..

chr1 od otca: ...T...C...A... ..

## Testovanie asociácie jedného SNPu

### Kontingenčná tabuľka - počet haplotypov

Veľkosť psa vs. alela na pozícii chr15:44,228,468

	pôvodná alela	odvodená alela	spolu
malý pes ( $< 9$ kg)	14	535	549
veľký pes ( $> 31$ kg)	339	38	377
spolu	353	573	926



[Sutter a kol. 2007]

Štatisticky testujeme či sú riadky a stĺpce **nezávislé (nulová hypotéza)**.

Ak **vylúčime nulovú hypotézu**, našli sme asociáciu, nemusí však ísť o príčinu

Ak ju nevylúčime, nepreukázali sme súvis SNPu s veľkosťou

(môže ale existovať, možno treba viac dát)



## Testovanie nezávislosti v kontingenčnej tabuľke

	pôvodná alela	odvodená alela	spolu
malý pes	14	535	549
veľký pes	339	38	377
spolu	353	573	926

**Fisherov test:** (Fisher's exact test) presný výsledok z hypergeometrického rozdelenia

**Chí-kvadrát ( $\chi^2$ ) test:** obľúbený približný test, vhodný ak máme vysoké počty

Na testovanie genetických asociácií sa používajú aj zložitejšie štatistické modely (napr. diploidný genóm, príbuzenské vzťahy, ...)

## Testovanie nezávislosti v kontingenčnej tabuľke $\chi^2$ testom

	alela $A$	alela $a$	spolu
malý pes ( $m$ )	14	535	549
veľký pes ( $v$ )	339	38	377
spolu	353	573	926

V nulovej hypotéze (nezávislosť riadkov a stĺpcov) máme:

$$\Pr(A) = 353/926 = 0.381, \Pr(a) = 0.619$$

$$\Pr(m) = 549/926 = 0.593, \Pr(v) = 0.407$$

$$\Pr(A, m) = \Pr(A) \Pr(m) = 0.226$$

$$\Pr(a, m) = \Pr(a) \Pr(m) = 0.367$$

$$\Pr(A, v) = \Pr(A) \Pr(v) = 0.155$$

$$\Pr(a, v) = \Pr(a) \Pr(v) = 0.252$$

Podľa nulovej hypotézy by sme teda čakali, že 926 haplotypov bude v tabuľke rozdelených v pomeroch 0.226:0.367:0.155:0.252

## Testovanie nezávislosti v kontingenčnej tabuľke $\chi^2$ testom

Skutočná tabuľka

$O_{i,j}$  (observed):

	$A$	$a$	spolu
malý	14	535	549
veľký	339	38	377
spolu	353	573	926

Očakávané podľa nulovej hypotézy

$E_{i,j}$  (expected):

	$A$	$a$	spolu
malý	209.3	339.8	549
veľký	143.5	233.4	377
spolu	353	573	926

**Spočítame veličinu**  $\chi^2 = \sum_{i \in \{m,v\}} \sum_{j \in \{A,a\}} \frac{(O_{i,j} - E_{i,j})^2}{E_{i,j}}$

$$\chi^2 = (14 - 209.3)^2 / 209.3 + (535 - 339.8)^2 / 339.8 + (339 - 143.5)^2 / 143.5 + (38 - 233.4)^2 / 233.4 = 724.3$$

$\chi^2$  je určitá miera rozdielnosti tabuliek  $O$  a  $E$ .

Platí, že  $\chi^2 \geq 0$  a  $\chi^2$  je nula, iba ak sa tabuľky úplne zhodujú.

## Testovanie nezávislosti v kontingenčnej tabuľke $\chi^2$ testom

$O_{i,j}$  (observed):

	$A$	$a$	spolu
malý	14	535	549
veľký	339	38	377
spolu	353	573	926

$E_{i,j}$  (expected):

	$A$	$a$	spolu
malý	209.3	339.8	549
veľký	143.5	233.4	377
spolu	353	573	926

Spočítame veličinu  $\chi^2 = \sum_{i \in \{m,v\}} \sum_{j \in \{A,a\}} \frac{(O_{i,j} - E_{i,j})^2}{E_{i,j}} = 724.3$

Ak platí nulová hypotéza,  $\chi^2$  je približne z rozdelenia  $\chi^2(1)$ ,

t.j. **chí kvadrát s jedným stupňom voľnosti**.

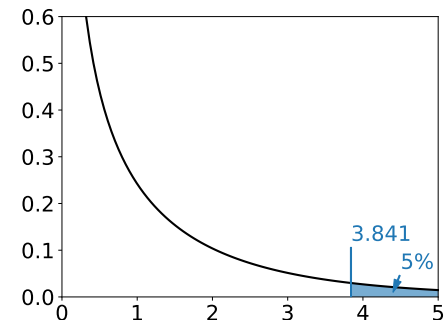
1 stupeň: ak poznáme  $E$  a 1 políčko z  $O$ , zvyšok  $O$  vieme dopočítať.

Šanca, že pri nulovej hypotéze nám náhodne vyjde  $\chi^2 \geq 724.3$  je  $1.6 \cdot 10^{-159}$

(P-hodnota)

Na **odmietnutie nulovej hypotézy** často používame

prah  $P < 0.05$ , t.j.  $\chi^2 > 3.841$



## Závislosť medzi dvoma rôznymi SNPmi

Uvažujme SNP s alelami  $p/P$  a ďalší SNP s alelami  $q/Q$ .

Nameriame počty haplotypov  $pq, PQ, pQ, Pq$

**Príklad:** 2000 haplotypov (1000 jedincov)

	Q	q	
P	474	611	$\chi^2 = 184.78$ , P-hodnota $4.4 \cdot 10^{-42}$
p	142	773	

Stĺpce a riadky teda nie sú nezávislé, medzi SNPmi je závislosť

**Príklad 2:** Podobné pomery počtov, ale iba 30 haloptypov:

	Q	q	
P	7	9	$\chi^2 = 3.0867$ , P-hodnota 0.07893
p	2	12	

Nulovú hypotézu nevyvrátime pre prah  $P < 0.05$  ( $\chi^2 > 3.841$ )

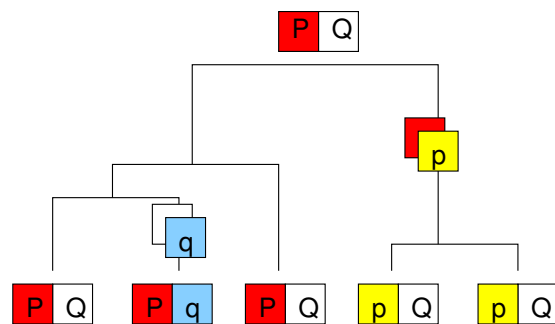
Ale pozor, pre takéto malé hodnoty  $\chi^2$  test **nepresný**

## Ako vzniká závislosť medzi dvoma rôznymi SNPmi

### Na rozdielnych chromozómoch:

- Pravdepodobnosti výskytu jednotlivých alel sú nezávislé
- $\Pr(pq) = \Pr(p) \Pr(q)$ ,  $\Pr(PQ) = \Pr(P) \Pr(Q)$ , atď
- **väzbová rovnováha, linkage equilibrium (LE)**

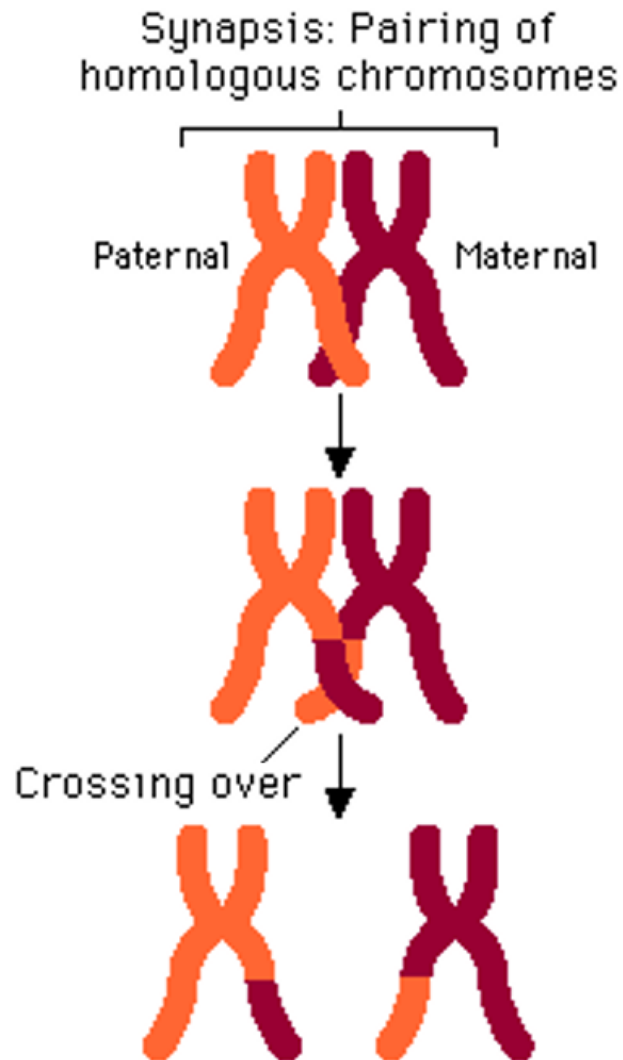
### Blízko seba na tom istom chromozóme:



- Málokedy mutácia na to istom mieste 2x, zriedkavá rekombinácia
- Kombinácie nie sú úplne náhodné
- Korelácie medzi SNPmi  
 $\Rightarrow$  **väzbová nerovnováha, linkage disequilibrium (LD)**

My sme sme testovali nezávislosť  $\chi^2$  testom,  
v praxi sa používajú iné miery

## Rekombinácia



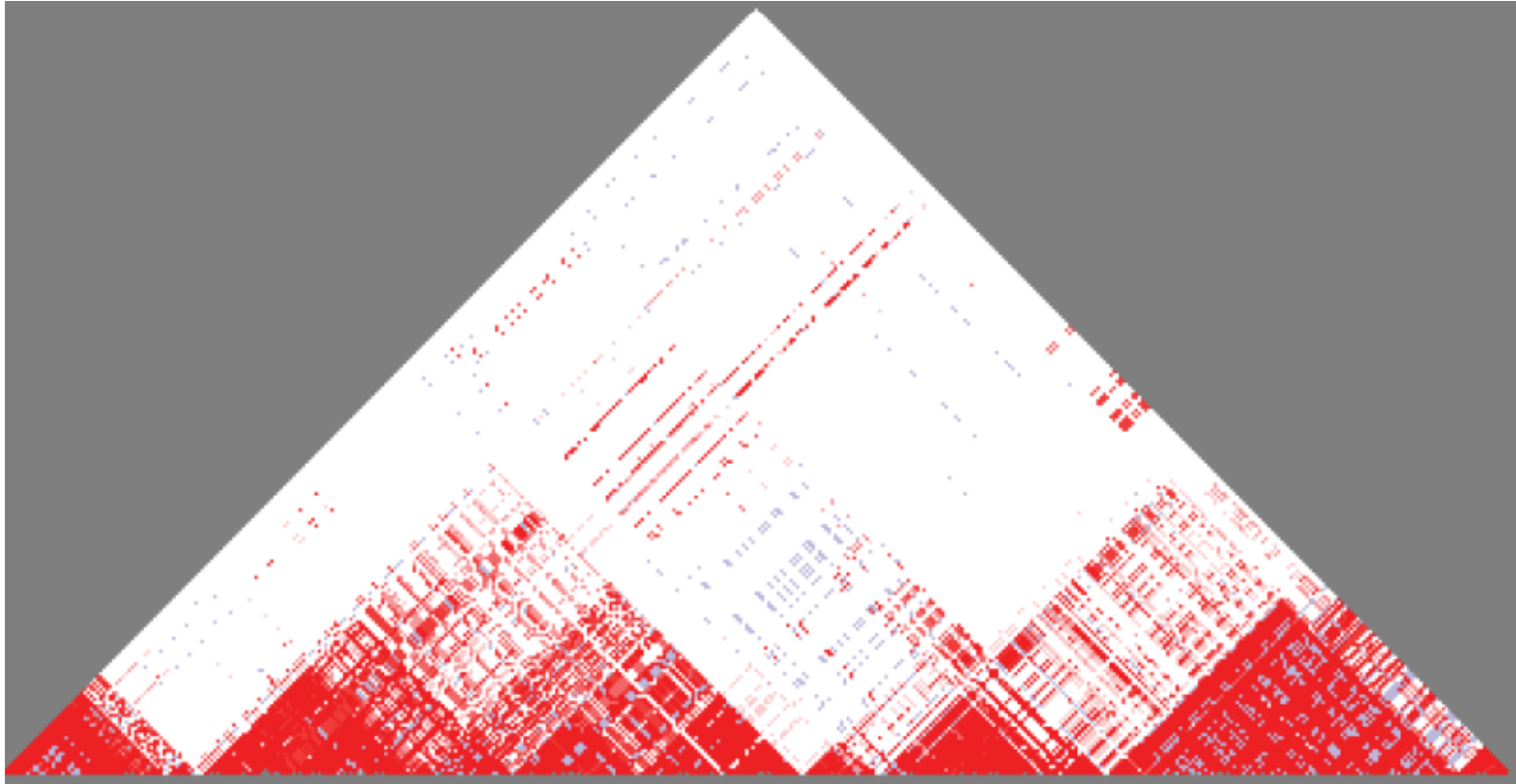
Cca 1-3 **rekombinácie** v 1 ľudskom chromozóme počas meiózy (tvorba pohlavných buniek)

### **Rekombinácia znižuje LD**

Ak predpokladáme rovnomernú rekombináciu:

- Čím vzdialenejšie SNPy, tým nižšie LD
- Čím staršie SNPy, tým nižšie LD
- Ďalšie aspekty: štruktúra populácie, prirodzený výber, rekombinačné hotspoty

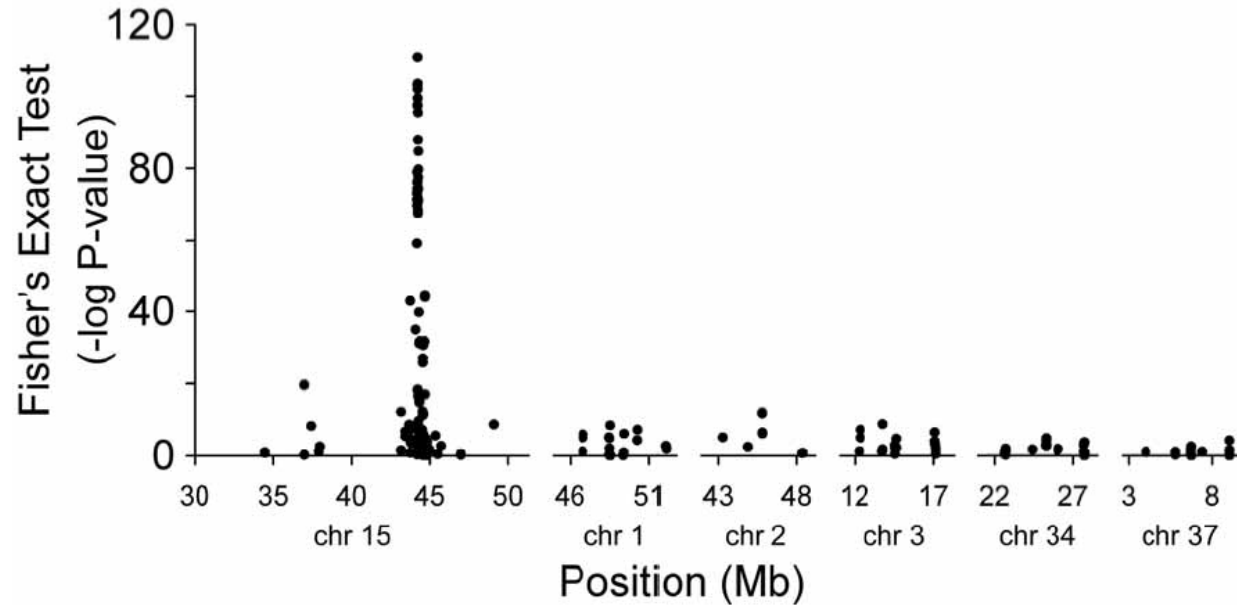
## Väzbová nerovnováha (LD) v ľudskom genóme



Región ENm014 (500kB, chr 7), 90 ľudí Utah, project HapMap

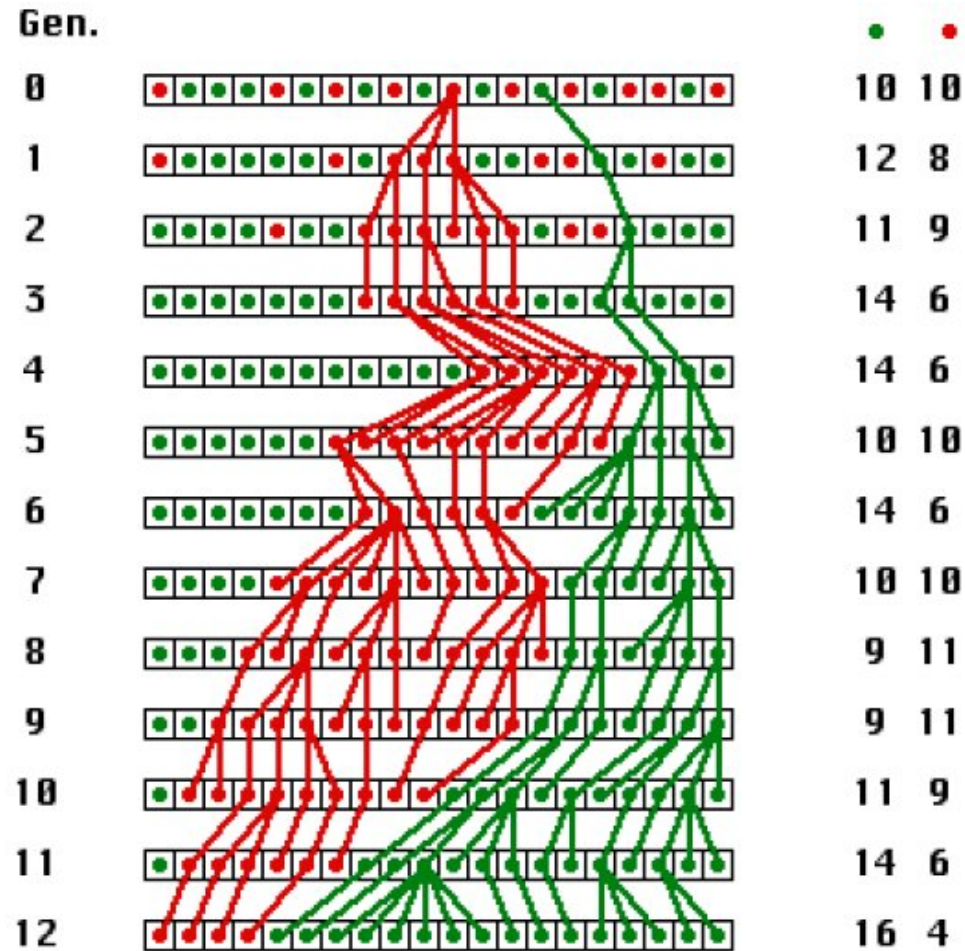


## Späť k psom: Hľadanie asociácií v celom genóme (Genome-Wide Association Study, GWAS)



- V prípade štúdie veľkosti psov: GWAS identifikoval 84 kB región
- Pozíciu ďalej treba spresniť ďalšími experimentami
- **Veľké LD bloky**  $\Rightarrow$  veľké výsledné regióny

## Základný model populačnej genetiky: Wrightov-Fisherov model



## Životný cyklus SNPov vo Wrightovom-Fisherovom modeli

- Populácia  $N$  jedincov (stabilná veľkosť)
- Jedinec = jedna alela ( $A$  or  $a$ )
- Nová generácia vzniká “skopírovaním” náhodného rodiča (random mating), bez vplyvu prirodzeného výberu
- $X_t$ : počet jedincov s alelou  $a$  v generácii  $t$
- **Markovovský reťazec** so stavmi  $X_t \in \{0, 1, \dots, N\}$

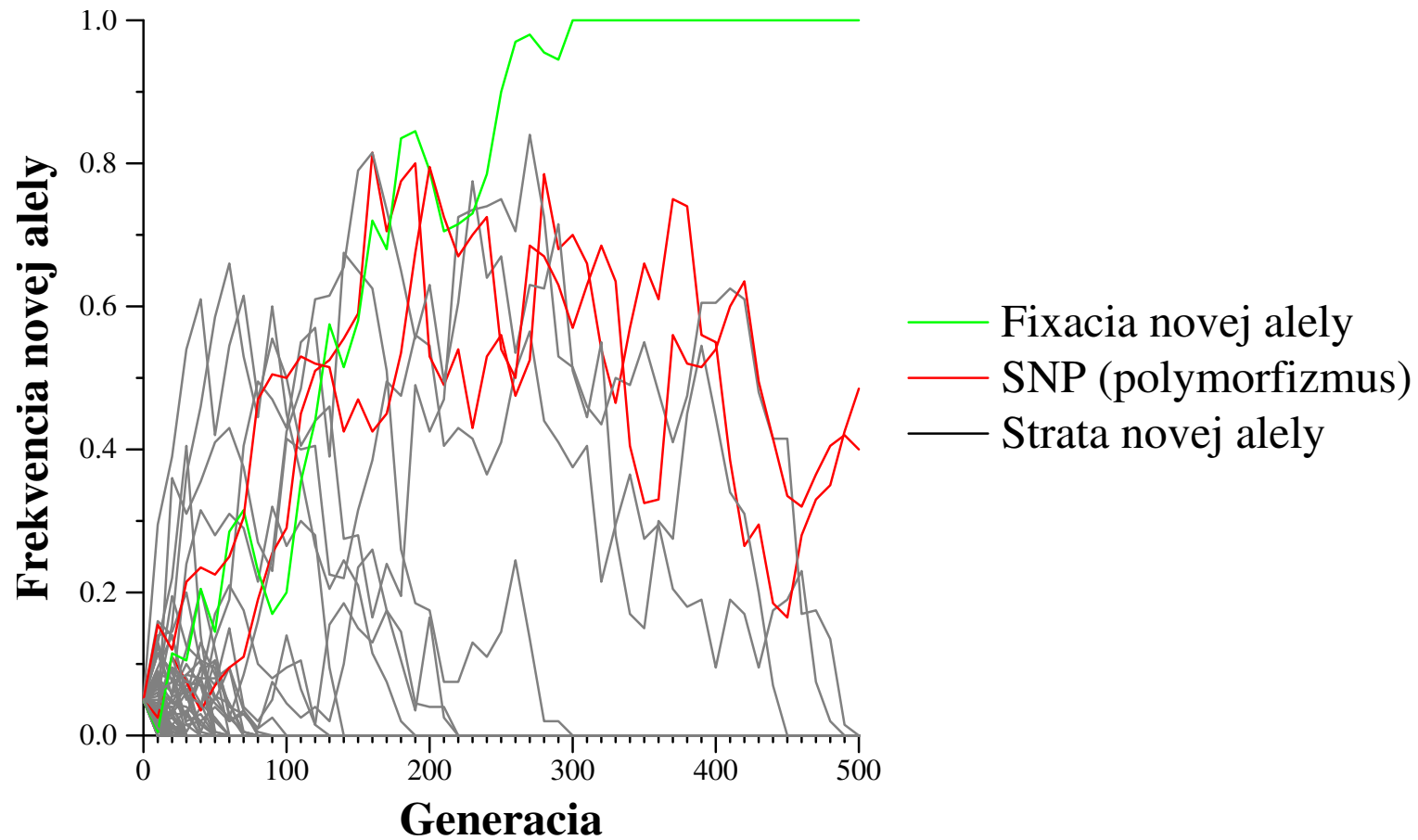
$$\Pr(X_t = j \mid X_{t-1} = i) = \left(\frac{i}{N}\right)^j \left(\frac{N-i}{N}\right)^{N-j} \binom{N}{j}$$

(Pravdepodobnosť, že v generácii  $t$  máme  $j$  kópií alely  $a$ , ak v generácii  $t - 1$  ich bolo  $i$ )

- Stavy 0 and  $N$  sú **pohlcajúce**

## Náhodný genetický drift

$N = 200$ ,  $X_0 = 10$ , 500 generácií



## Zložitejšie modely populácie

- **Mutácie** zavádzajú do populácie nové alely, ktoré po čase náhodným genetickým driftom zaniknú, alebo ovládnu populáciu (fixation).
- Rýchlosť procesu je ovplyvnená efektami ako **štruktúra populácie** alebo **prirodzený výber**
- $\Rightarrow$  Zložitejšie pravdepodobnostné modely

## Analýza histórie populácie na základe pravdepodobnostných modelov

### Typické parametre pravdepodobnostného modelu:

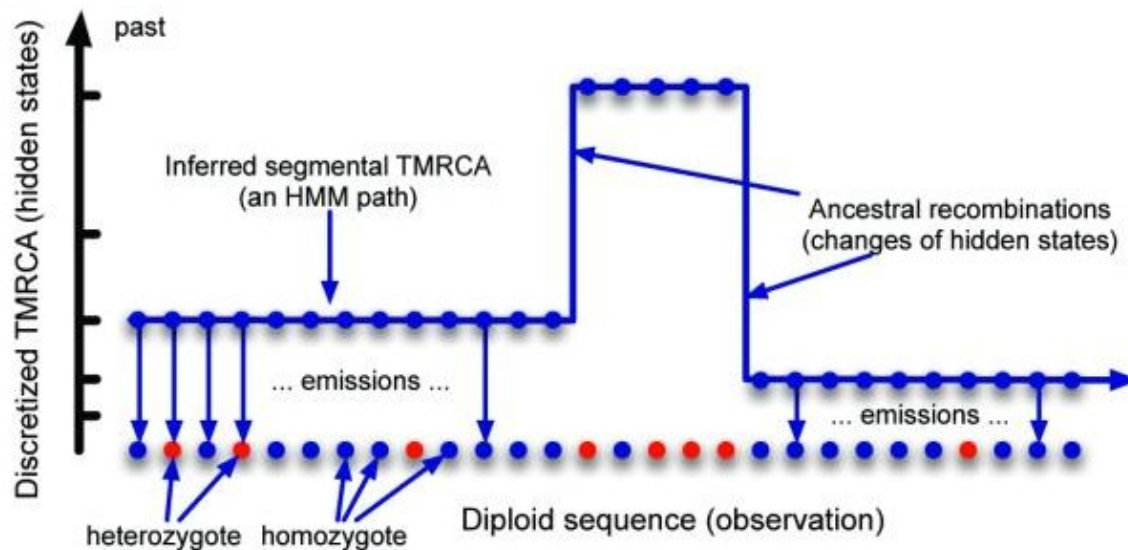
- efektívna veľkosť populácie
- frekvencia rekombinácie a mutácie

### Použitie:

Snažíme sa nájsť parametre modelu, ktoré najlepšie vysvetľujú pozorované dáta u osekvenovaných jedincov.

## História ľudskej populácie z genómu jedinca (Li, Durbin 2011)

- **Parametre modelu:** história vývoja efektívnej veľkosti ľudskej populácie v čase
- **Použité dáta:** Pozície heterozygotných SNPov v rámci genómu  
Z ich premenlivej hustoty určí rozdelenie časov ku najbližšiemu spoločnému predkovi (TMRCA)



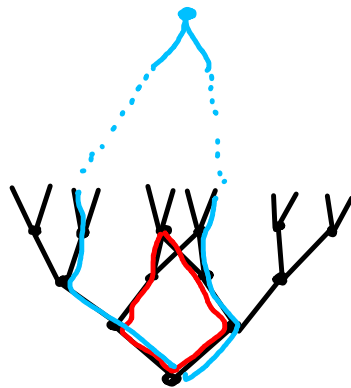
## Čas k najbližšiemu spoločnému predkovi a počet mutácií



bez sobášov medzi blízkymi príbuznými

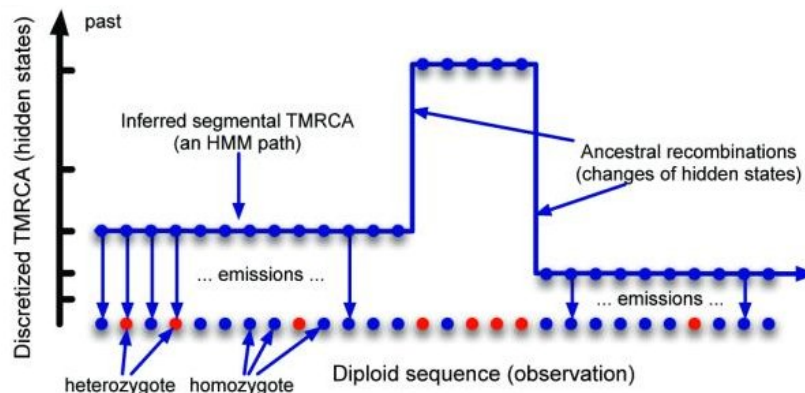


bratranec a sesternica majú dieťa



dávny spoločný predok,  
veľa mutácií

nedávny spoločný predok,  
málo mutácií

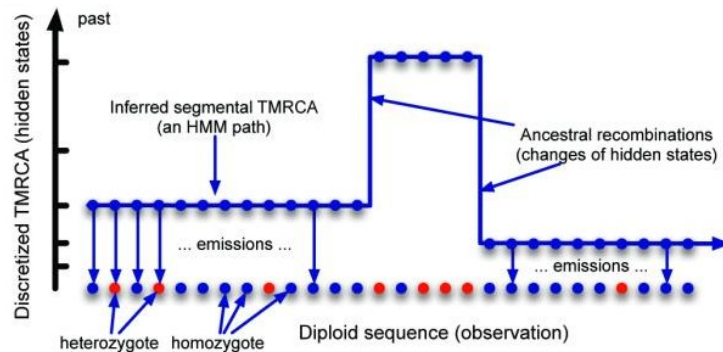


## Čas k najbližšiemu spoločnému predkovi a veľkosť populácie



Ak v čase  $t$  žilo málo ľudí

- predkovia sa budú viac “opakovať”
- čas  $t$  sa častejšie vyskytne ako TMRCA



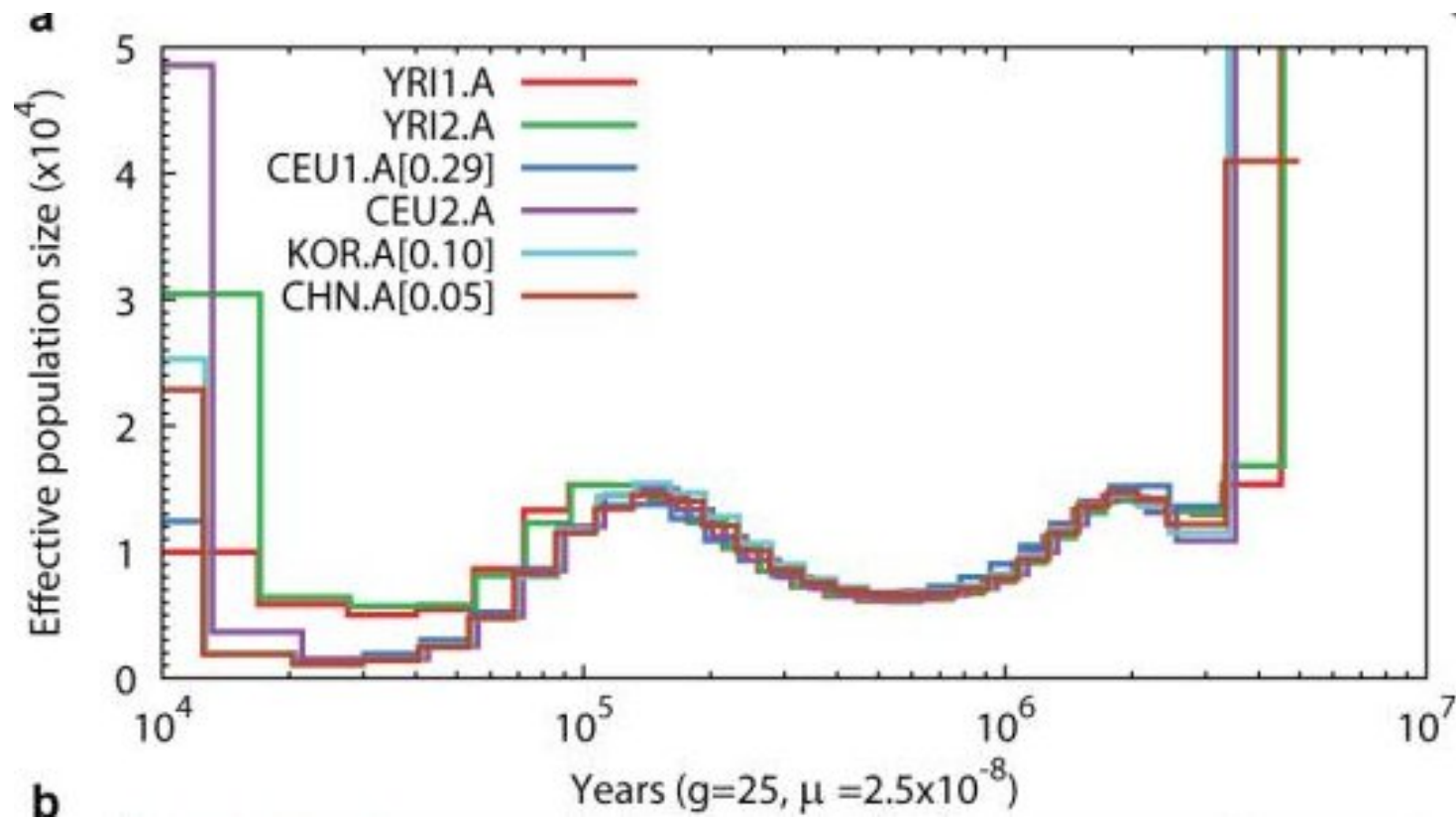
Z lokálnej hustoty mutácií odhademe TMRCA

Z rozdelenia TMRCA odhadneme veľkosti populácie



## Príklad: História ľudskej populácie z genómu jedinca

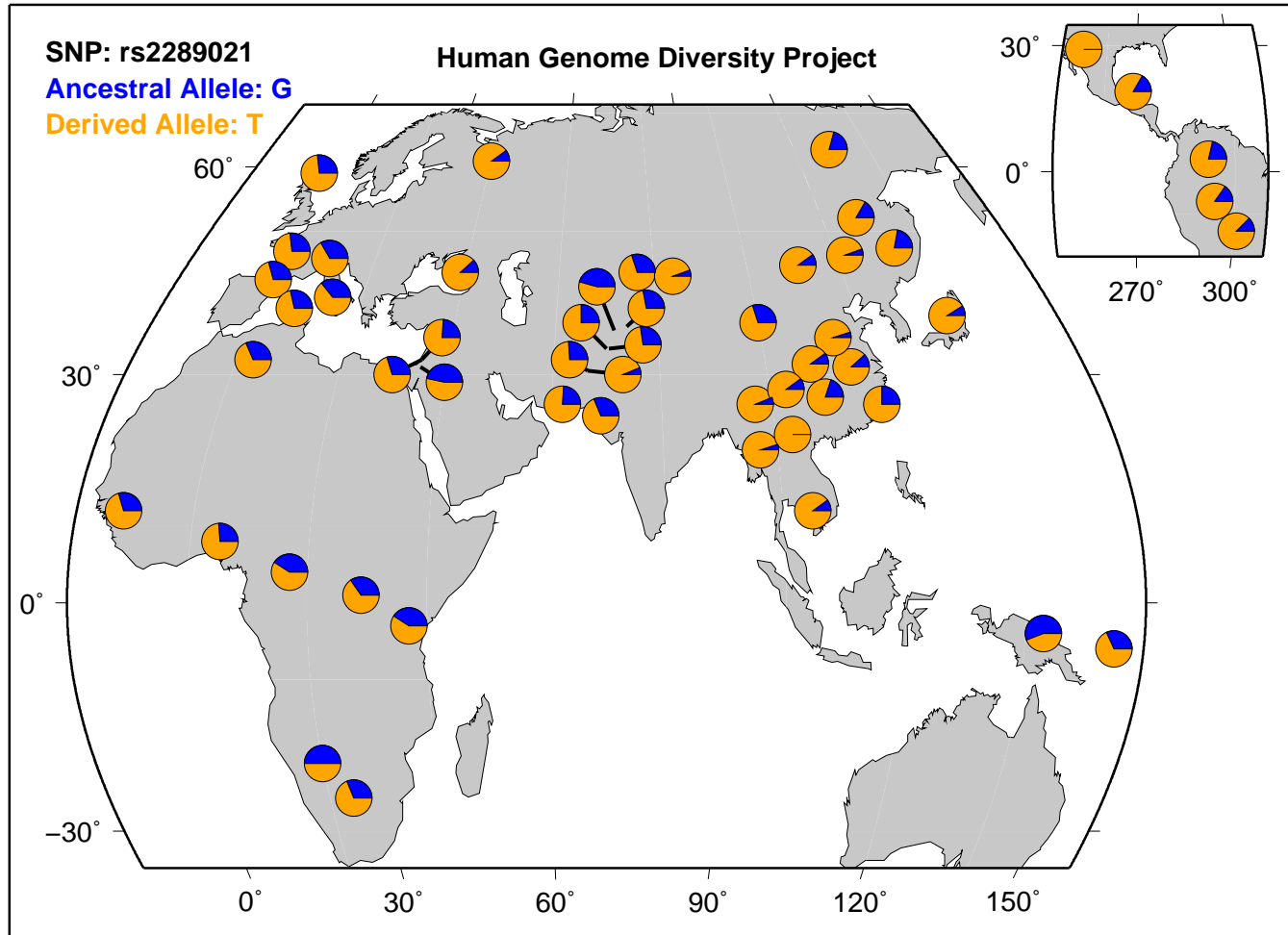
**Úloha:** Nájdi históriu vývoja efektívnej veľkosti ľudskej populácie, ktorá najlepšie vysvetľuje pozorované dáta



## Štruktúra populácie

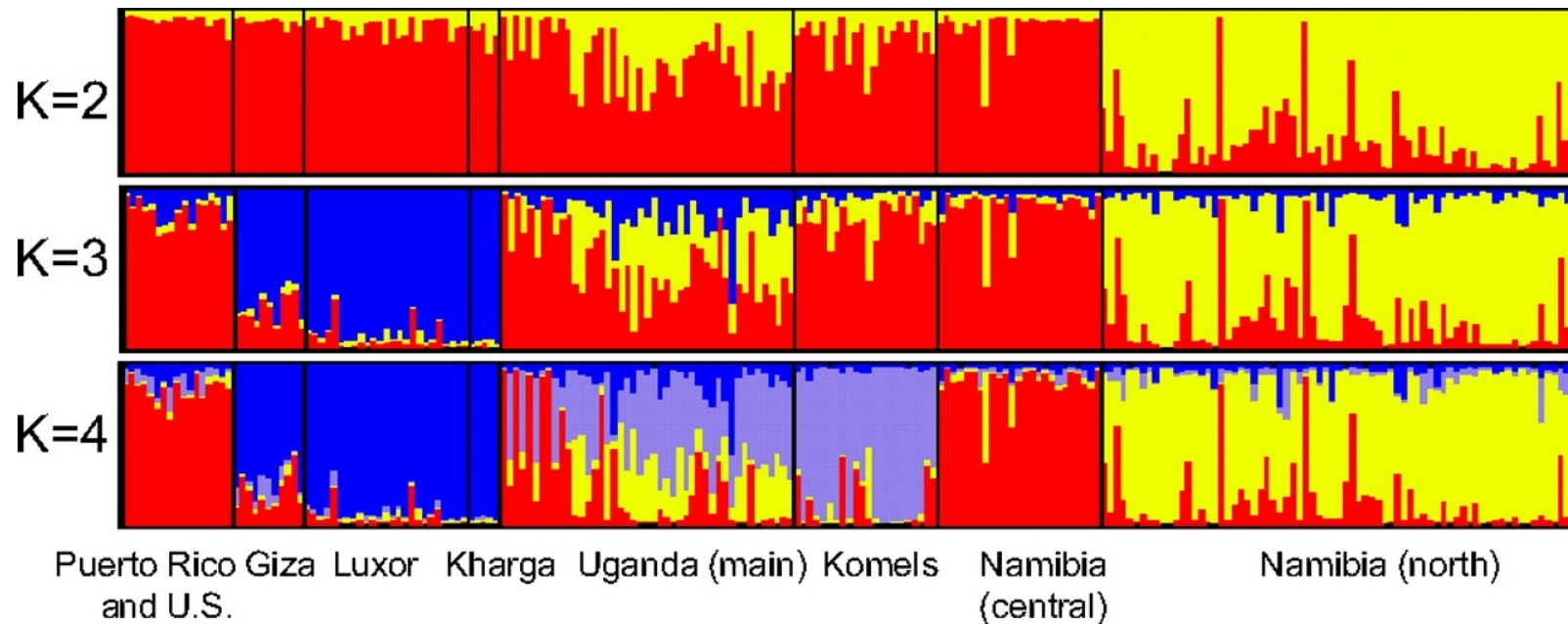
- Doteraz sme predpokladali, že nová generácia vzniká **náhodným párovaním** (random mating)
- Väčšina organizmov sa vyvíja v **subpopuláciách**, s obmedzeným prenosom genetického materiálu medzi subpopuláciami
- Frekvencie toho istého SNPu v dvoch subpopuláciách môžu byť značne odlišné
- $\Rightarrow$  “falošné” korelácie medzi SNPami (napr. aj medzi chromozómami), ak pracujeme s viacerými subpopuláciami naraz
- $\Rightarrow$  chybné výsledky pri LD a GWAS

## Príklad: frekvencie alel jedného konkrétneho SNPu u ľudí v rôznych častiach sveta



zdroj: [genome.ucsc.edu](http://genome.ucsc.edu)

## Štruktúra populácie psov



Boyko et al. PNAS 2009; software STRUCTURE Pritchard et al. Genetics 2000

- Program STRUCTURE rozdelí populáciu na  $K$  subpopulácií (farby)
- Každý stĺpec je jedinec z populácie
- Pomer farieb zodpovedá pomeru SNPov z každej z  $K$  populácií

## Ako funguje STRUCTURE?

- **Vstup:** Vzorka haplotypov  $X$ , ktorú chceme rozdeliť do  $K$  subpopulácií
- Definujeme stochastický model s nasledujúcimi premennými:
  - $P_{i,j}$  - frekvencia SNPu  $j$  v subpopulácii  $i$
  - $Q_i$  - aká časť SNPov v haplotype  $i$  patrí ku ktorej subpopulácii
  - $Z_{i,j}$  - priradenie subpopulácie SNPu  $j$  v haplotype  $i$
- Model definuje  $\Pr[X \mid P, Q, Z]$  a apriórne rozdelenie pre  $P, Q$
- **Výstup:**  $E[Q \mid X]$

## Algoritmus Markov Chain Monte Carlo (MCMC)

- Premenné:
  - $P_{i,j}$  - frekvencia SNPu  $j$  v populácii  $i$
  - $Z_{i,j}$  - priradenie subpopulácie SNPu  $j$  v haplotype  $i$
  - $Q_i$  - aká časť SNPov v haplotype  $i$  patrí ku ktorej populácii
- Začni s hodnotami  $P^{(0)}, Z^{(0)}, Q^{(0)}$ . V každej ďalšej iterácii získame novú náhodnú vzorku:
  - Vyber náhodnú vzorku  $P^{(i)}, Q^{(i)}$  z distribúcie  $\Pr(P, Q \mid X, Z^{(i-1)})$
  - Vyber náhodnú vzorku  $Z^{(i)}$  z distribúcie  $\Pr(Z \mid X, P^{(i)}, Q^{(i)})$
- Pre vhodné  $m, c$ , priemer postupnosti

$$Q^{(m)}, Q^{(m+c)}, Q^{(m+2c)}, \dots$$

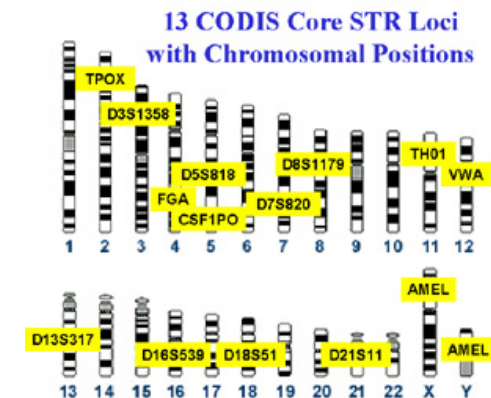
konverguje k hodnote  $E[Q \mid X]$

## Zhrnutie

- **SNPy (single nucleotide polymorphisms)** priebežne vznikajú a zanikajú v populáciách
- Ich frekvencia ovplyvnená navyše prirodzeným výberom
- Bez rekombinácie korelácia medzi SNPmi na tom istom chromozóme (**linkage disequilibrium**)
- Rekombinácie vytvárajú v genóme LD bloky
- Prítomnosť LD blokov vplýva na výsledky mapovania asociácií znakov (**genome-wide association mapping**)
- Pravdepodobnostné modely veľkosti LD blokov, frekvencií alel, heterozygosity a pod. nám môžu veľa prezradiť o **histórii populácie**
- Pri analýzach treba brať do úvahy **štruktúru populácie**, ktorú možno odhadnúť pomocou výpočtových metód

## Ďalšie typy polymorfizmov

- **Krátke indely**
- **Mikrosatelity a minisatelity** (jednoduché krátke opakujúce sa sekvencie)  
13 lokusov ako štandardný “odtlačok” pre porovnávanie DNA vzoriek na súdoch v USA



- **Transpozóny** (Alu, LINE, SINE)  
Alu má cca milión kópií, cca 1 nová kópia na 20 novorodencov
- **Veľké úseky s variabilnou multiplicitou** (Large scale copy number variations)