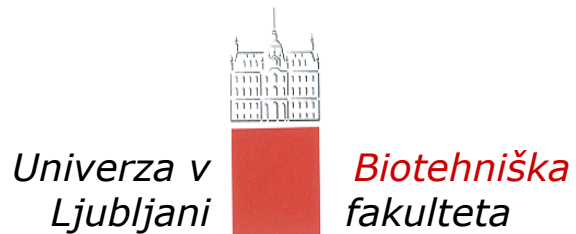


Genomska selekcija

doc. dr. Klemen Potočnik



Novi Sad, 25.11.2014

Obradene teme

- Princip genomske selekcije GS
- Razvoj GS po vrstama - specijes
- Praktična primena GS
- Mogućnosti implementacije:
 - Velike populacije
 - Male populacije

Genomski projekti

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/guide/>

- 2000 čovek
- 2004 govedo <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/guide/cow/>
- 2004 kokoš <http://www.ncbi.../chicken>
- 2005 pas <http://www.ncbi.../dog>
- 2006 pčela <http://www.ncbi.../bee>
- 2007 konj <http://www.ncbi.../horse>
- 2009 svinja <http://www.ncbi.../pig>
- 20?? ovca <http://www.ncbi.../sheep>
- 20?? kunič <http://www.ncbi.../rabbit>

Novi termini

- SNP – najmanja varijabilna jedinica na genomu
- UV → BV
- DGV – direktna vrednost genoma oz. svota efekata SNP na pojedino svojstvo
- GEBV – genetsko dopunjena uzgojna vrednost, kombinacija klasičnoga načina ocenjivanja sa dodanima informacijama sa genoma
- PV – ocenjena fenotipska vrednost, verovatno stvar budućnosti, kada će se na osnovi genoma za svaku životinju za pojedino okolinu procenilo njeno potencijalno fenotipsku vrednost

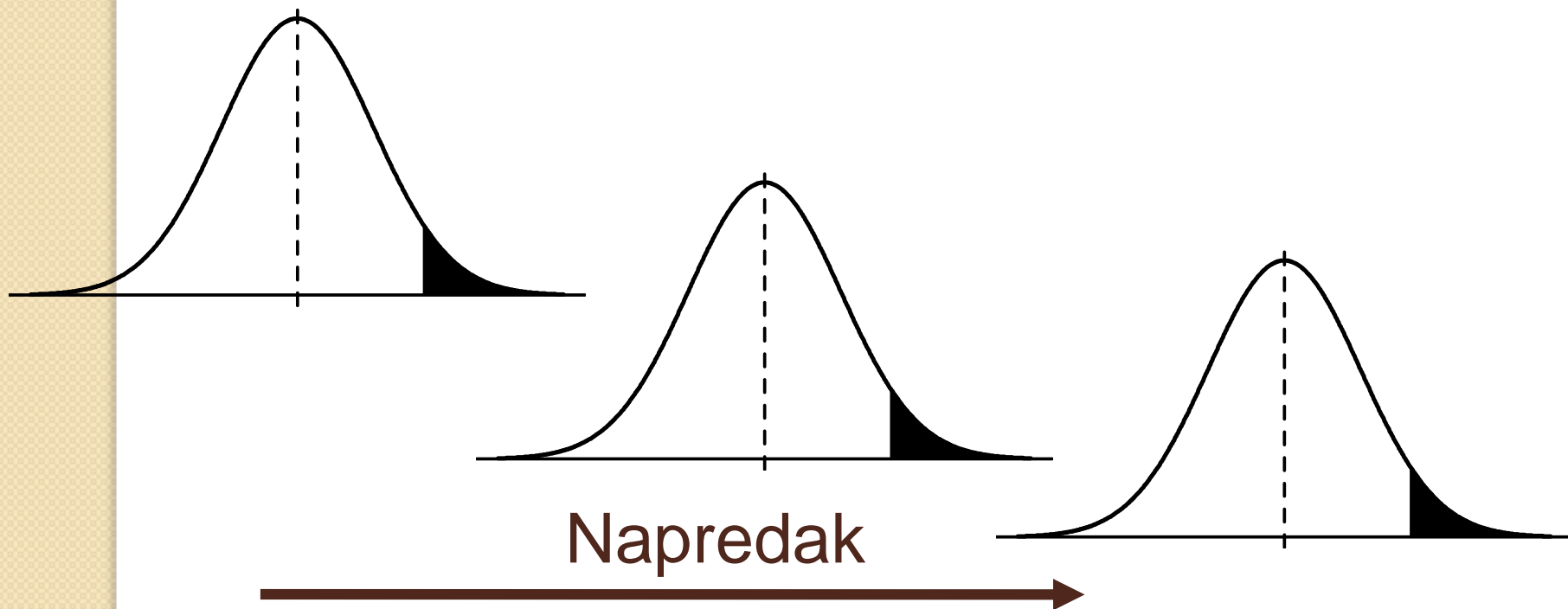
- Od klasične do genomske UV
- Uzimanje uzorka za genotipizaciju
- Genotipizacija
- Izračuni genomskih UV



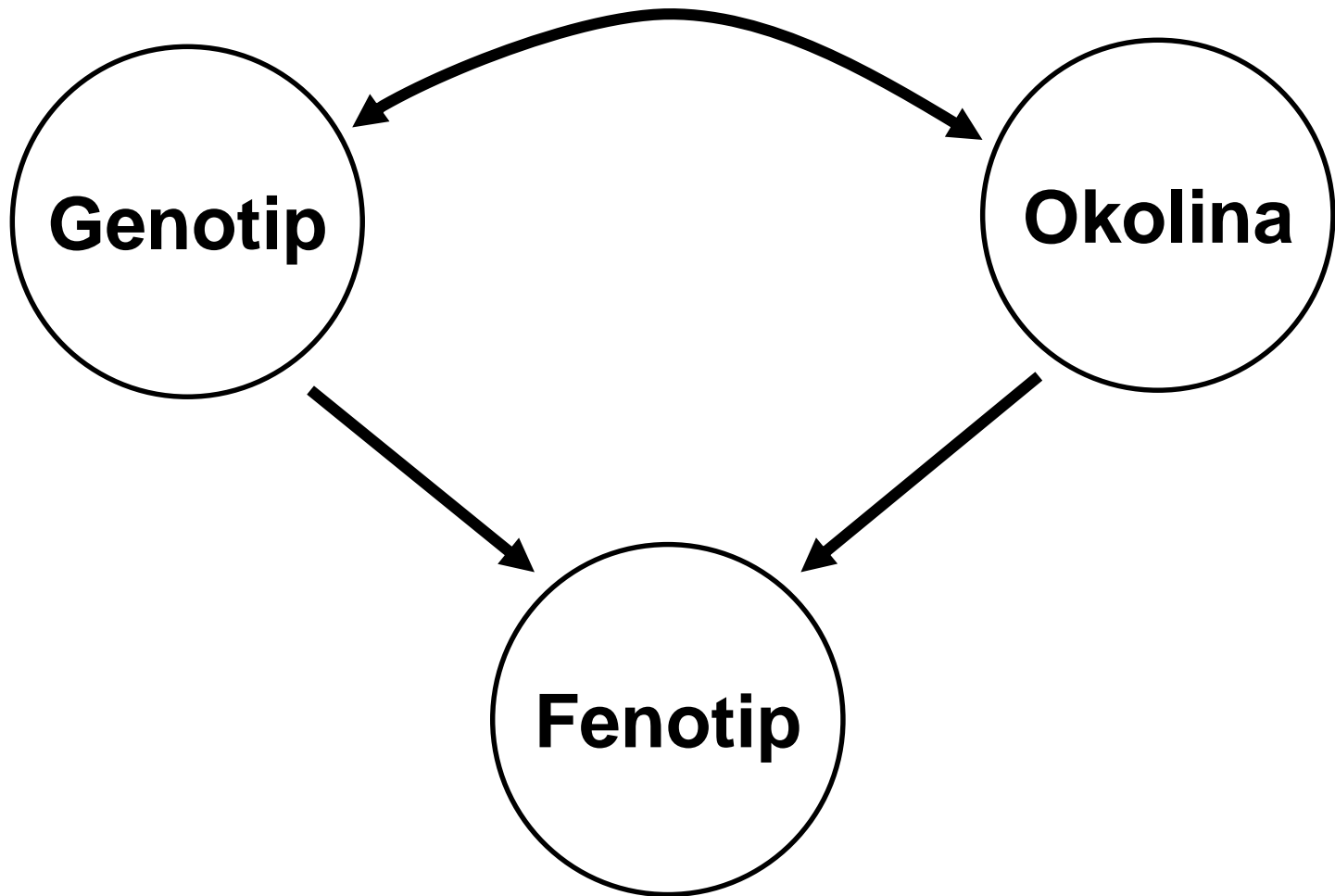
PRINCIP GENOMSKE SELEKCIJE

Selekcija

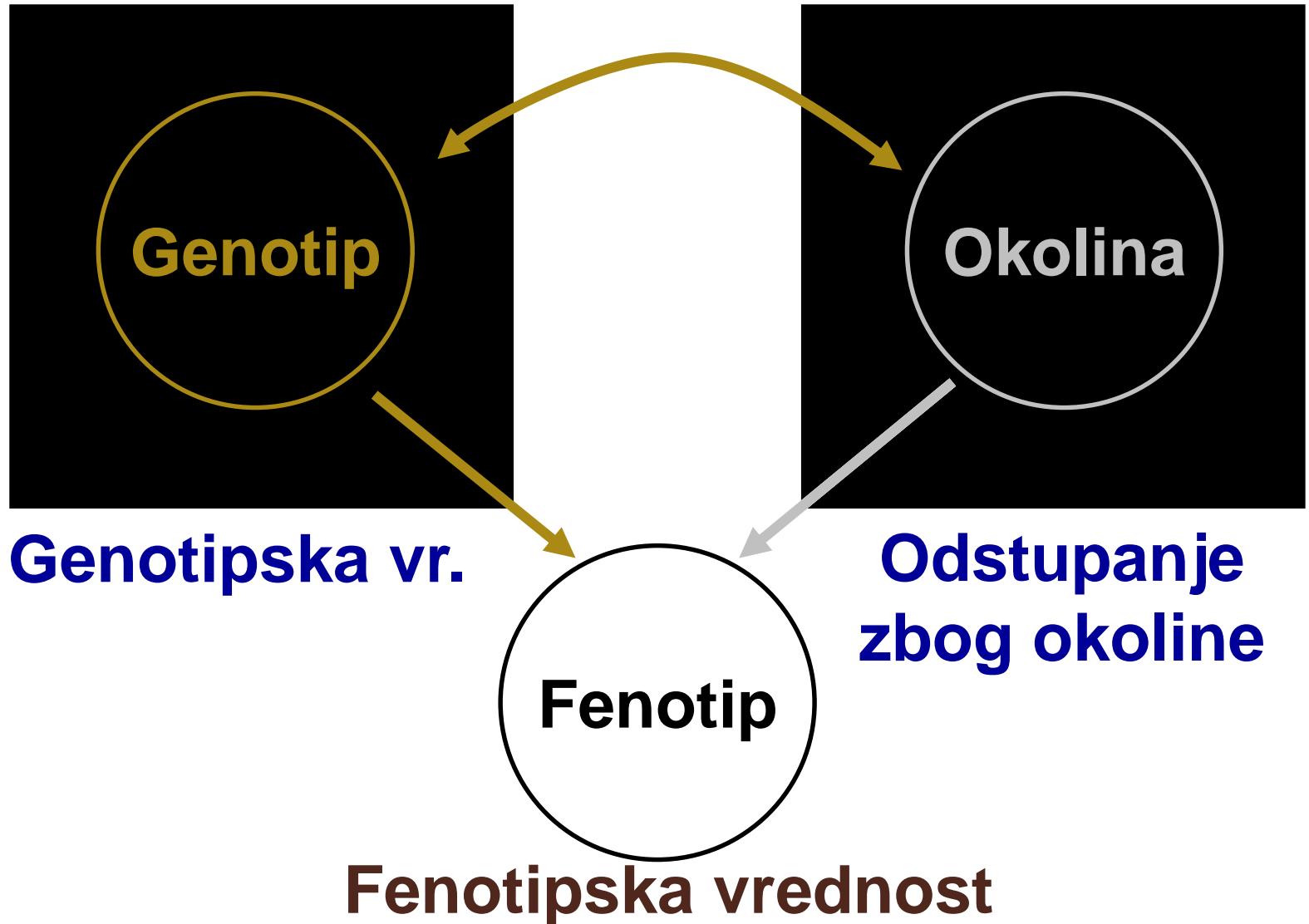
- “Izbor (odabir) najboljih jedinki z namenom, da bi promenili populacijo”
- Merimo **fenotip** – **fenotipska vrednost**



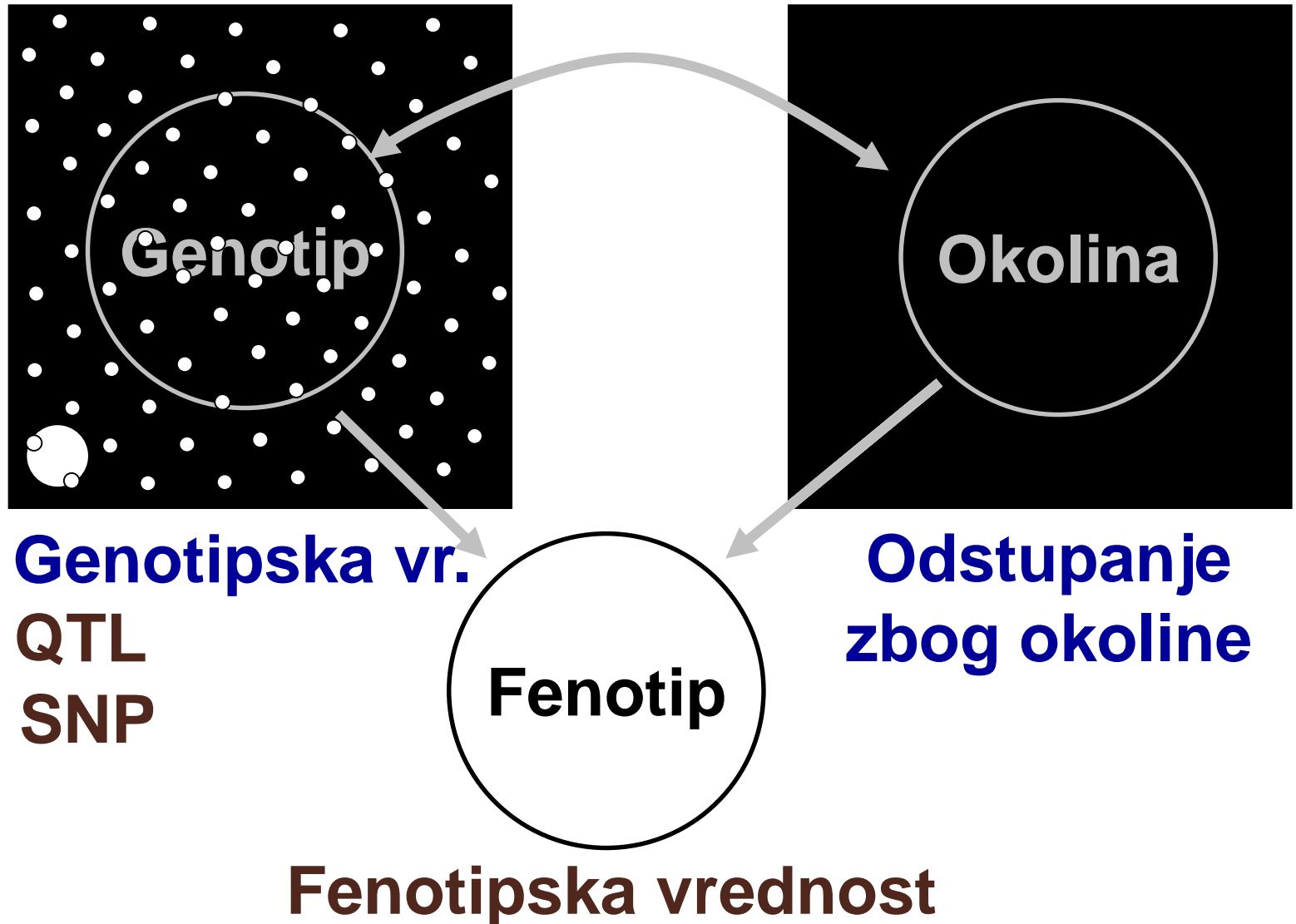
Fenotip = ???



V praksi poznamo le ...



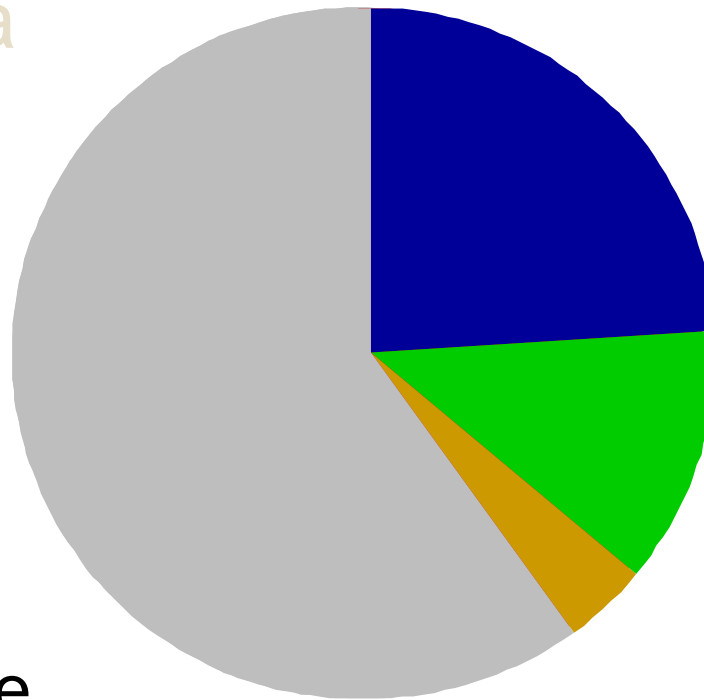
V praksi poznamo le ...



Fenotip. vrednosti + rodovniki

Osnove - kvantitativne genetike, Fisher 1918

Fenotipska
vrednost



Genotipska
vrednost

Uzgojna
vrednost (PV)

Odstupanje
zbog

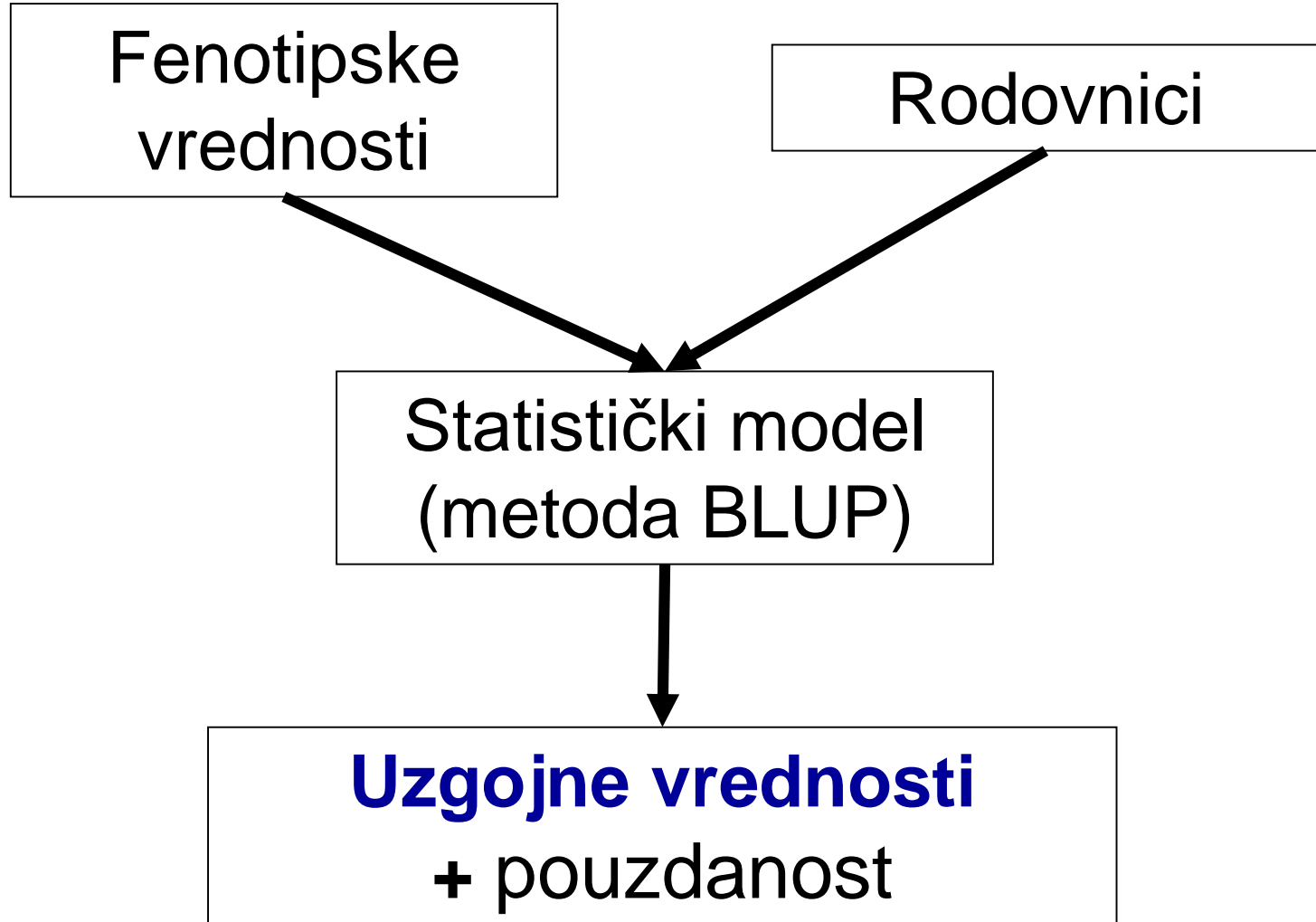
dominance

Odstupanje

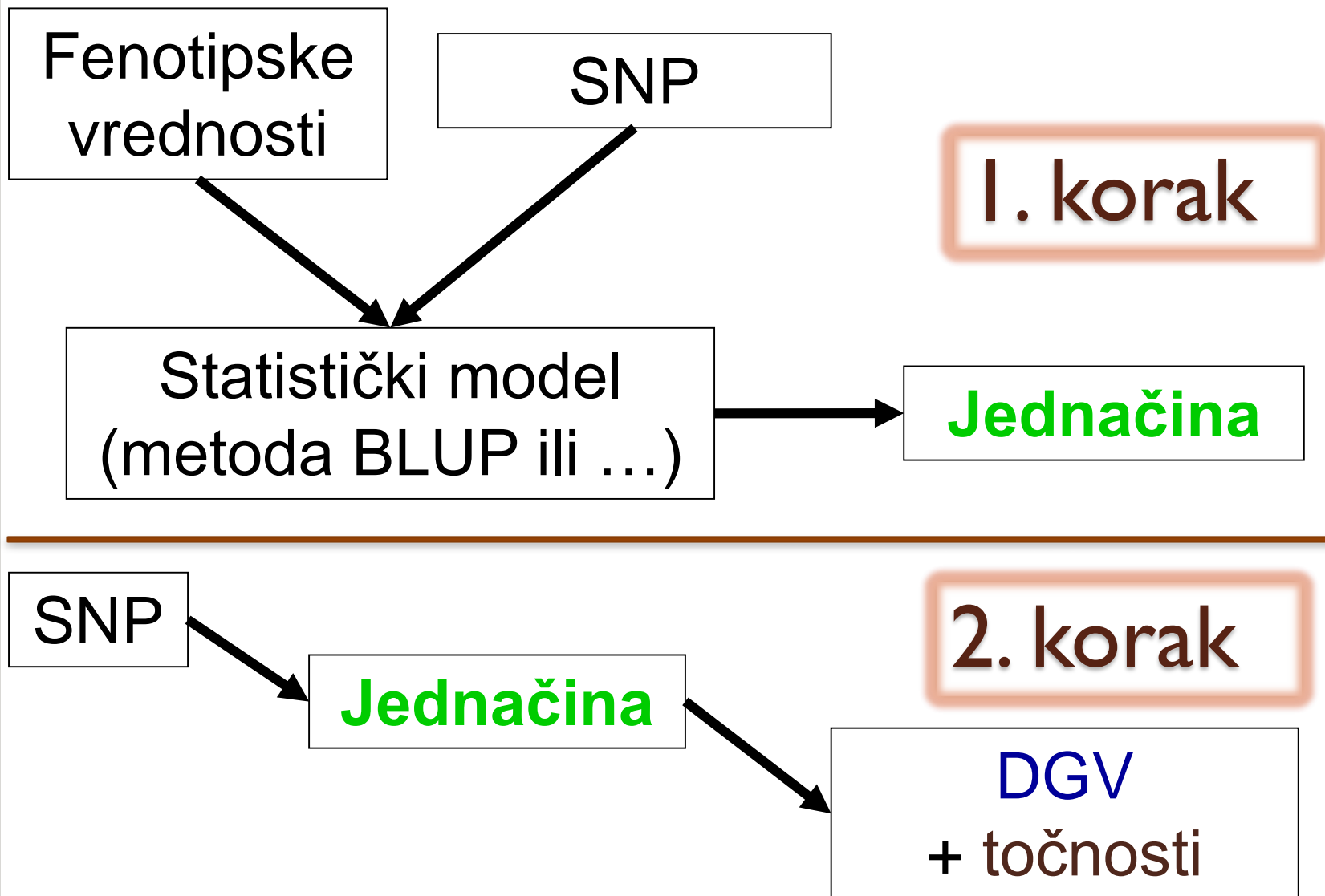
Zbog epistaze

Kvantitativni
genetičari bave
se sa genetikom, ne
da bi se direktno
bavili sa genima!

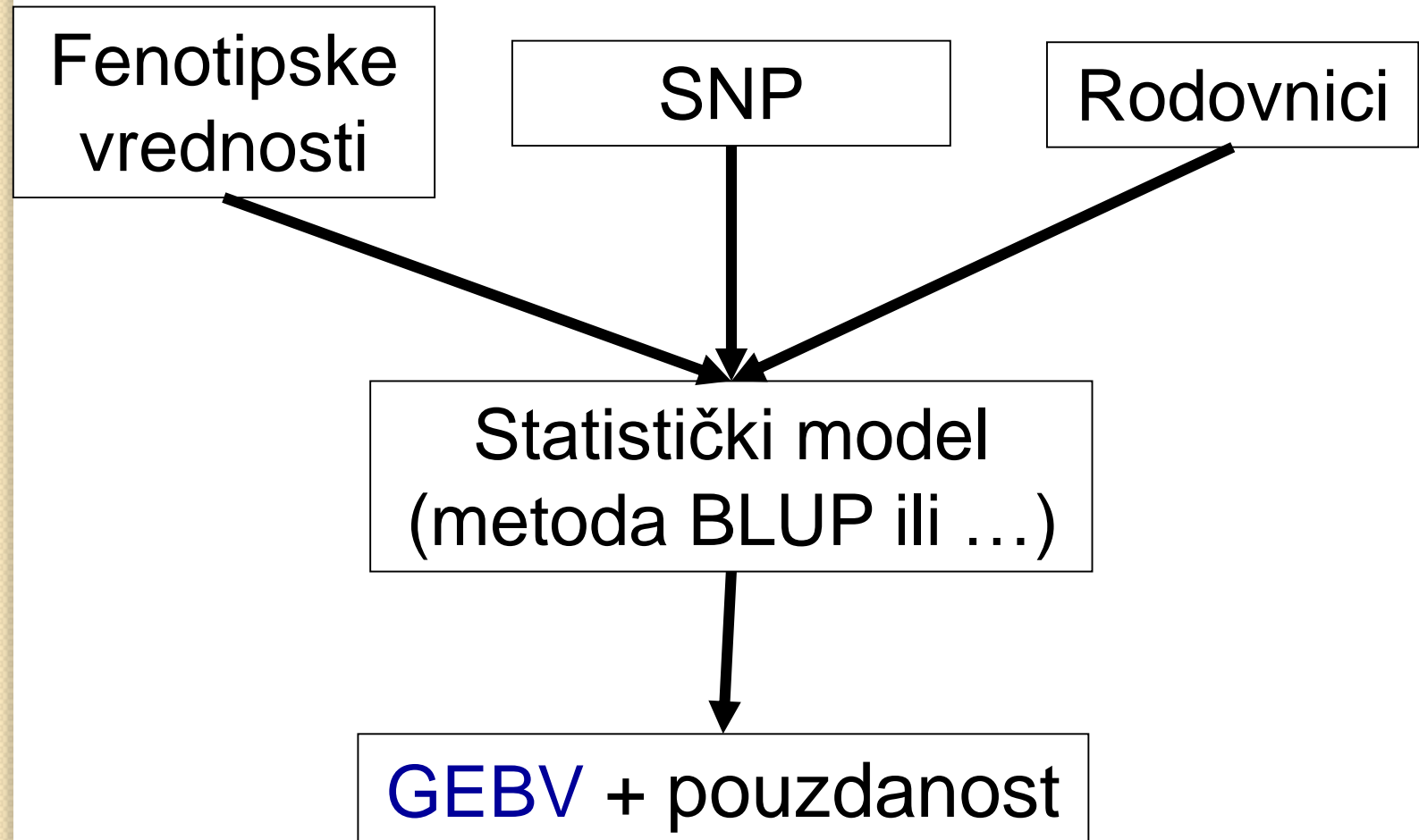
Postupak izračuna UV?



Postupak izračuna DGV! – 2 koraka

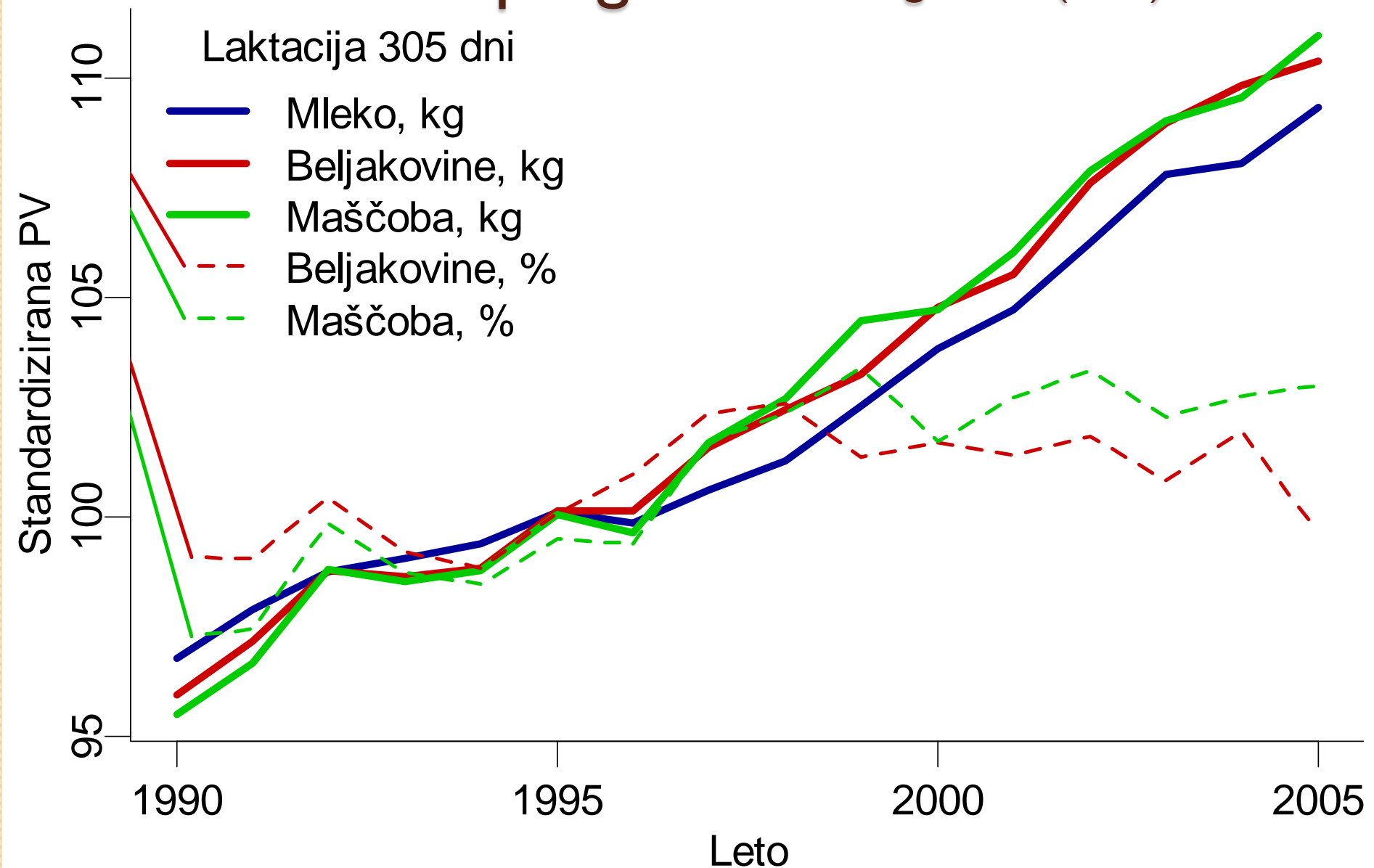


Postupak izračuna DGV! – 1 korak



Dosežki pri govedu – LI govedo (SLO)

Laktacija 305 dni



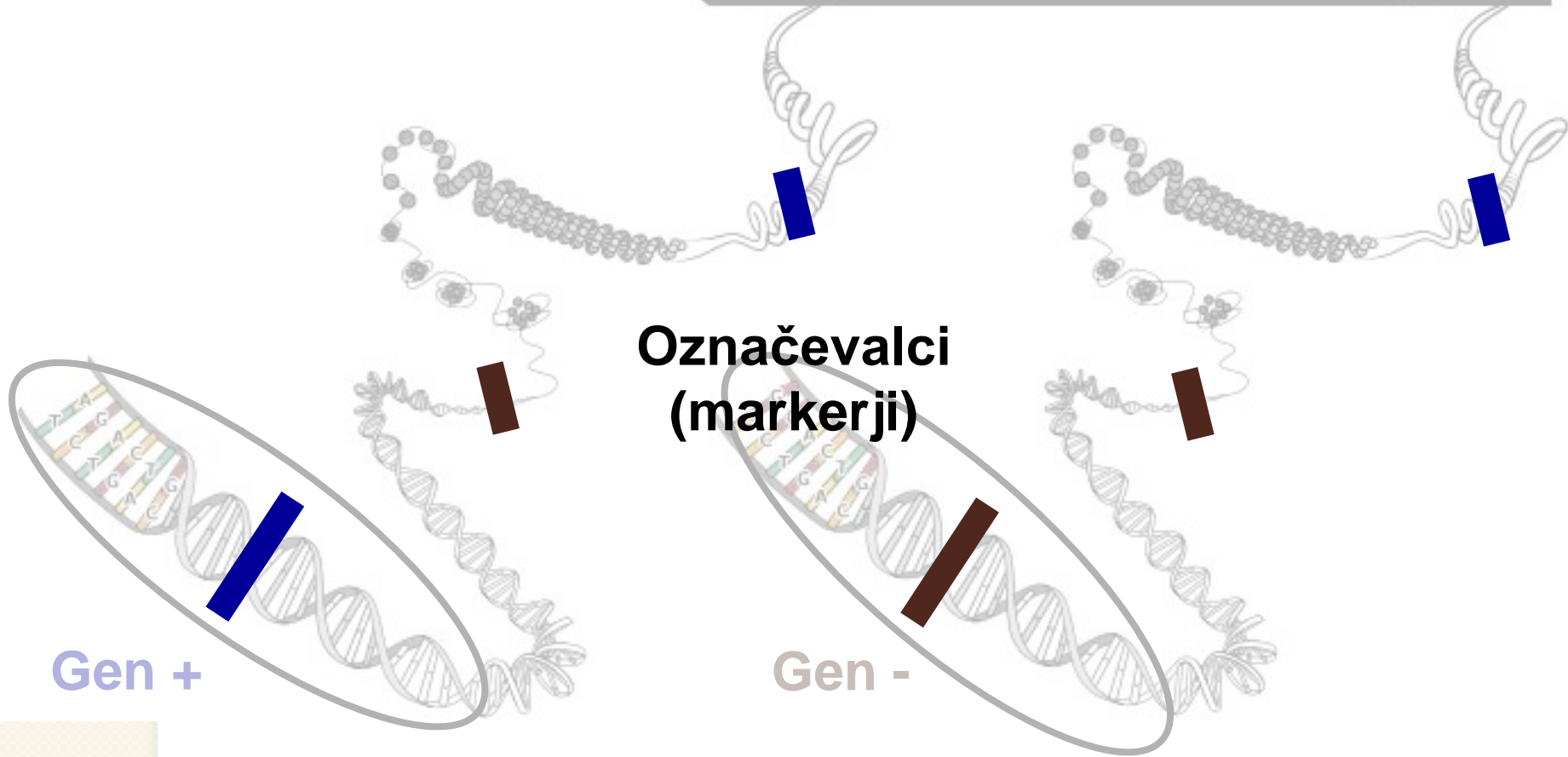
Genetski napredak

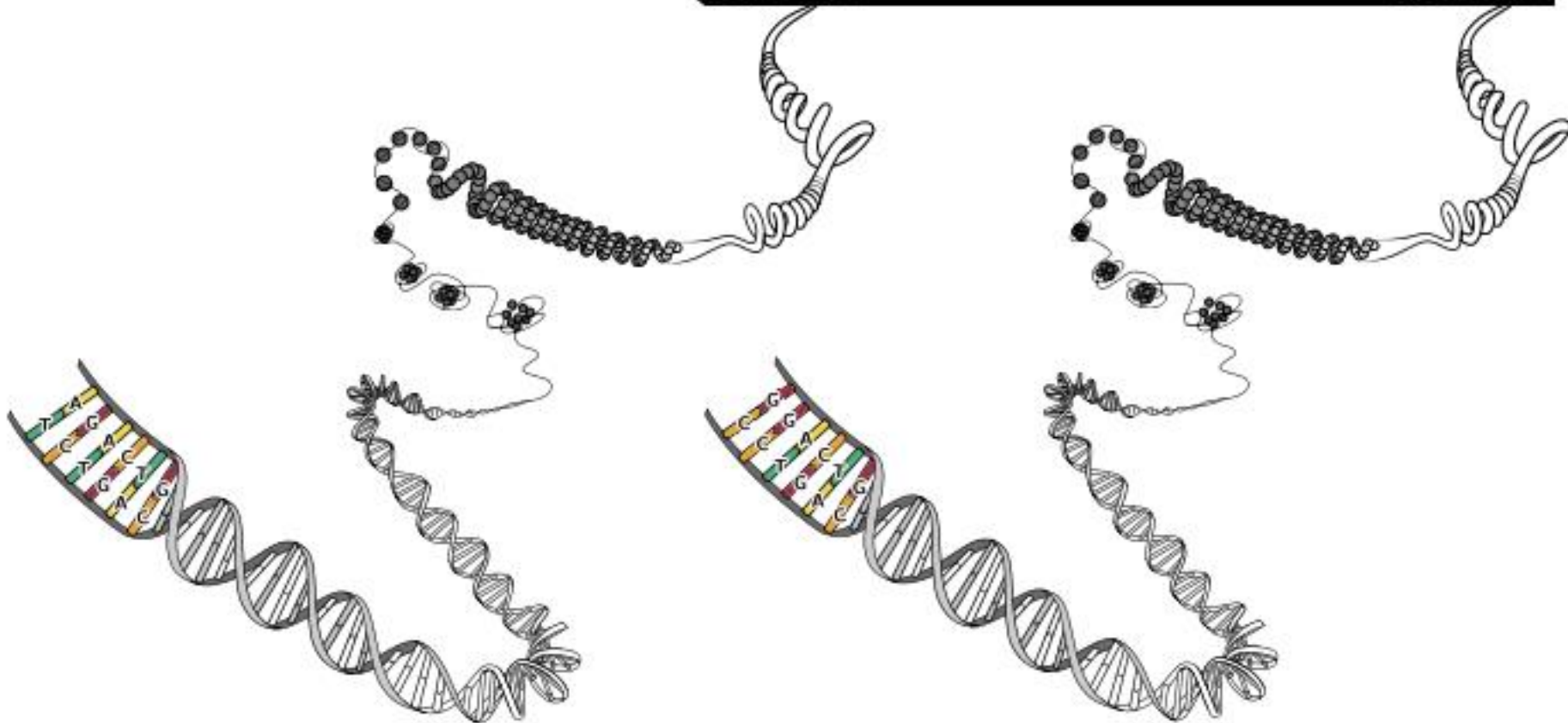
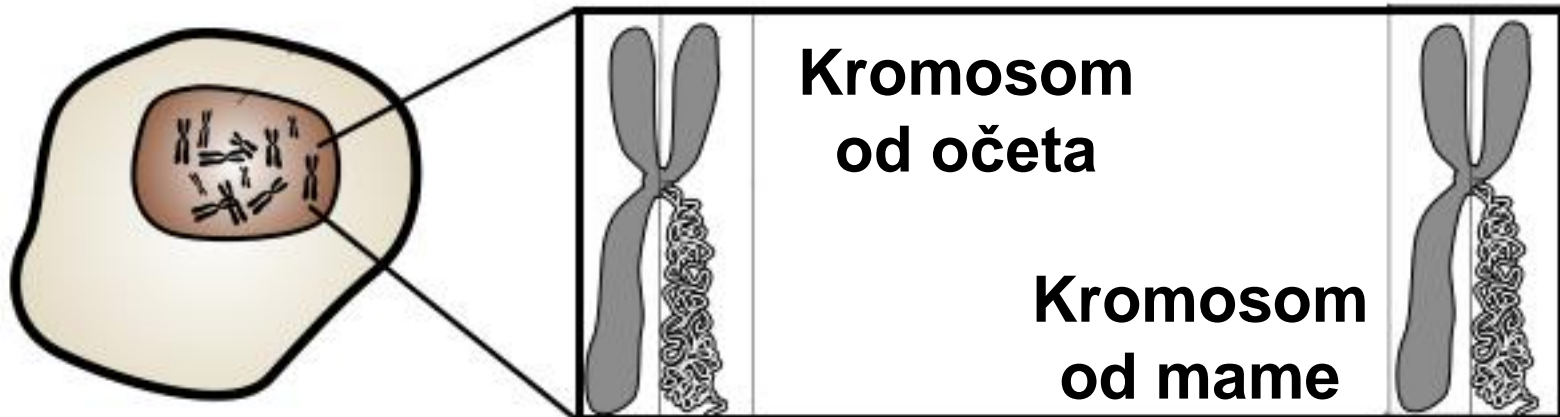
$$\Delta G = (i \times r \times \sigma_a) / g$$

- **i** – intenzivnost selekcije
 - 50 % odabranih $\rightarrow i \sim 0,8$
 - 5 % odabranih $\rightarrow i \sim 2,0$
- **r** – pouzdanost uzgojnih vrednosti
 - na osnovi roditelja $\rightarrow r \sim 35 \%$
 - test na potomstvu $\rightarrow r \sim 80 \%$ i više
- **σ_a** – varijanca uzgojnih vrednosti
- **g** – generacijski interval

Genetski napredak - govedo

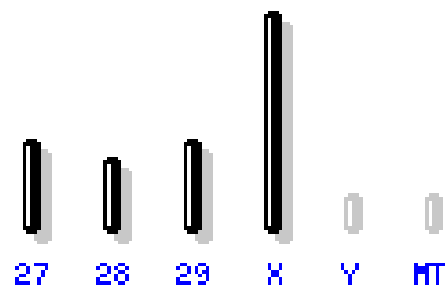
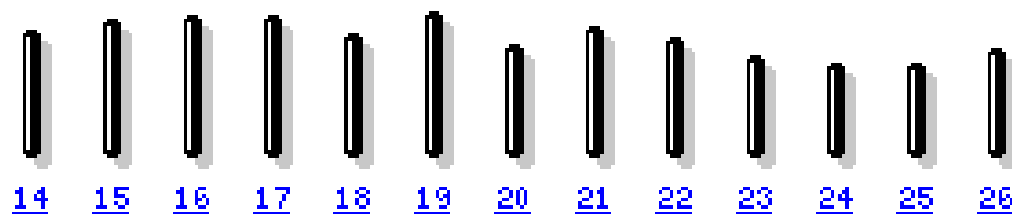
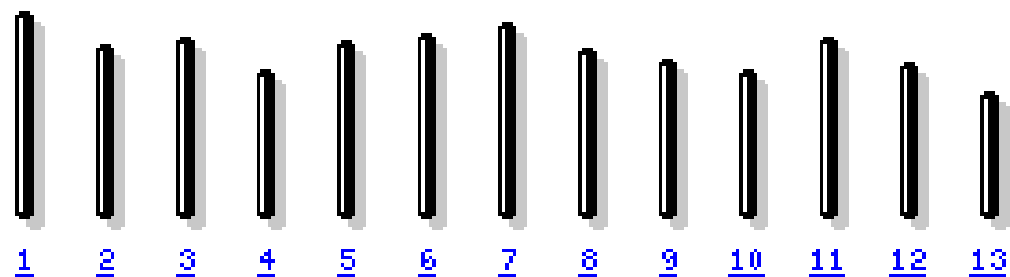
- Veća intenzivnost selekcije po ♂ strani
 - $\Delta G = (i_{\sigma} \times r_{\sigma} + i_{\phi} \times r_{\phi}) / (g_{\sigma} + g_{\phi})$
- Testirani bikovi – progeni test (MI – $\sigma_a \sim 300$ kg)
 - $\Delta G = (2 \times 0,8 + \sim 0) / (6 + 2) = 0,20 \rightarrow 60$ kg
- Mladi bikovi
 - $\Delta G = (2 \times 0,35 + \sim 0) / (2 + 2) = 0,18 \rightarrow 54$ kg
- GS bikovi
 - $\Delta G = (2 \times 0,60 + \sim 0) / (2 + 2) = 0,30 \rightarrow 90$ kg
- GS bikovi+ “bikovske” majke
 - $\Delta G = (2 \times 0,60 + 0,8 \times 0,6) / (2 + 2) = 0,42 \rightarrow 126$ kg





Genom goveda

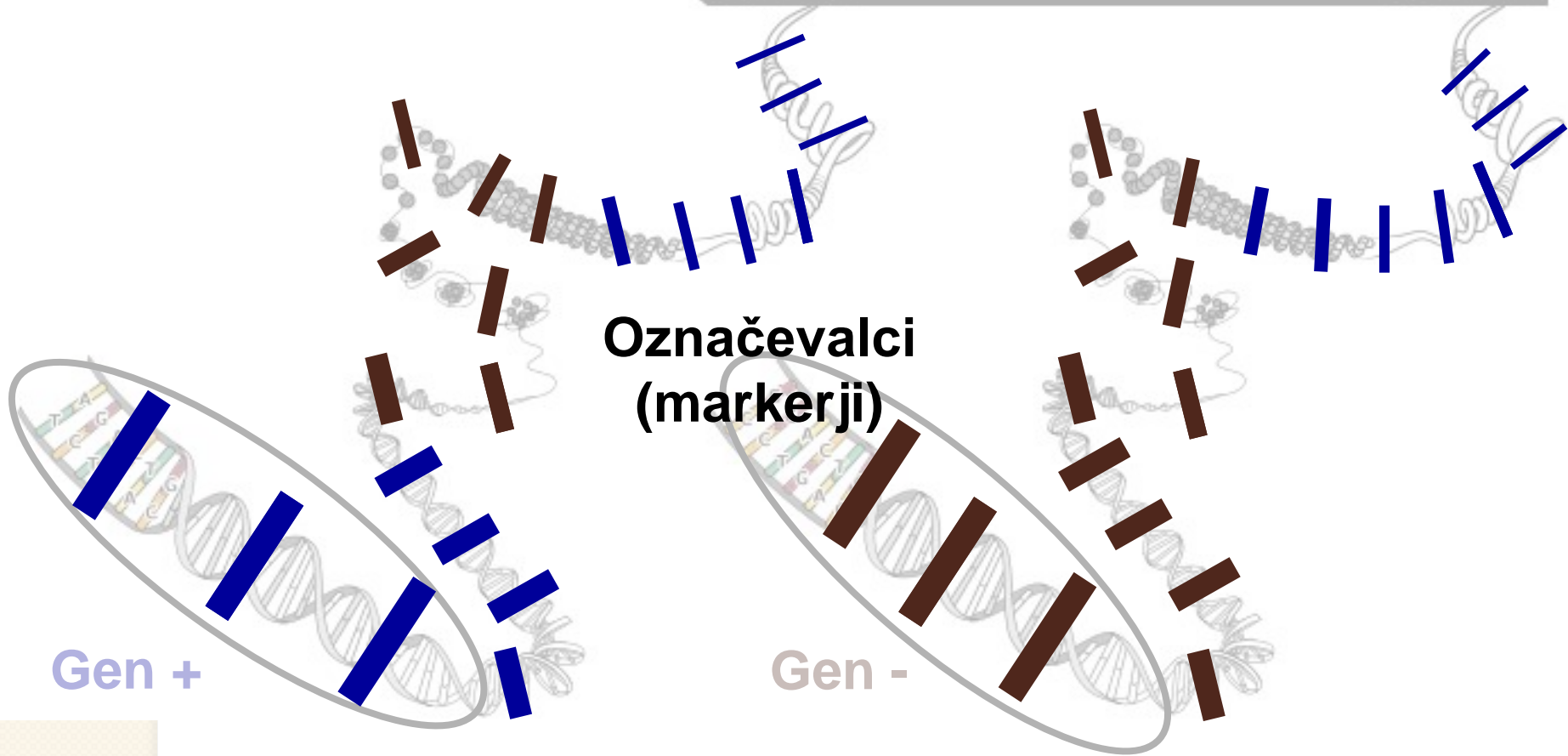
- 29+1 kromosomov
- vsaj 22.000 genov



Čipi

- leta 2001 se je ideja Meuwissen in sod. zdela “nora”, saj je bil takrat cilj zmanjšati stroške za genotipizacijo – le nekaj označevalcev
- vpeljava čipov in padec cene (~200 \$) danes omogočata uporabo velikega števila (50 k in več) označevalcev tudi v živalihoreji

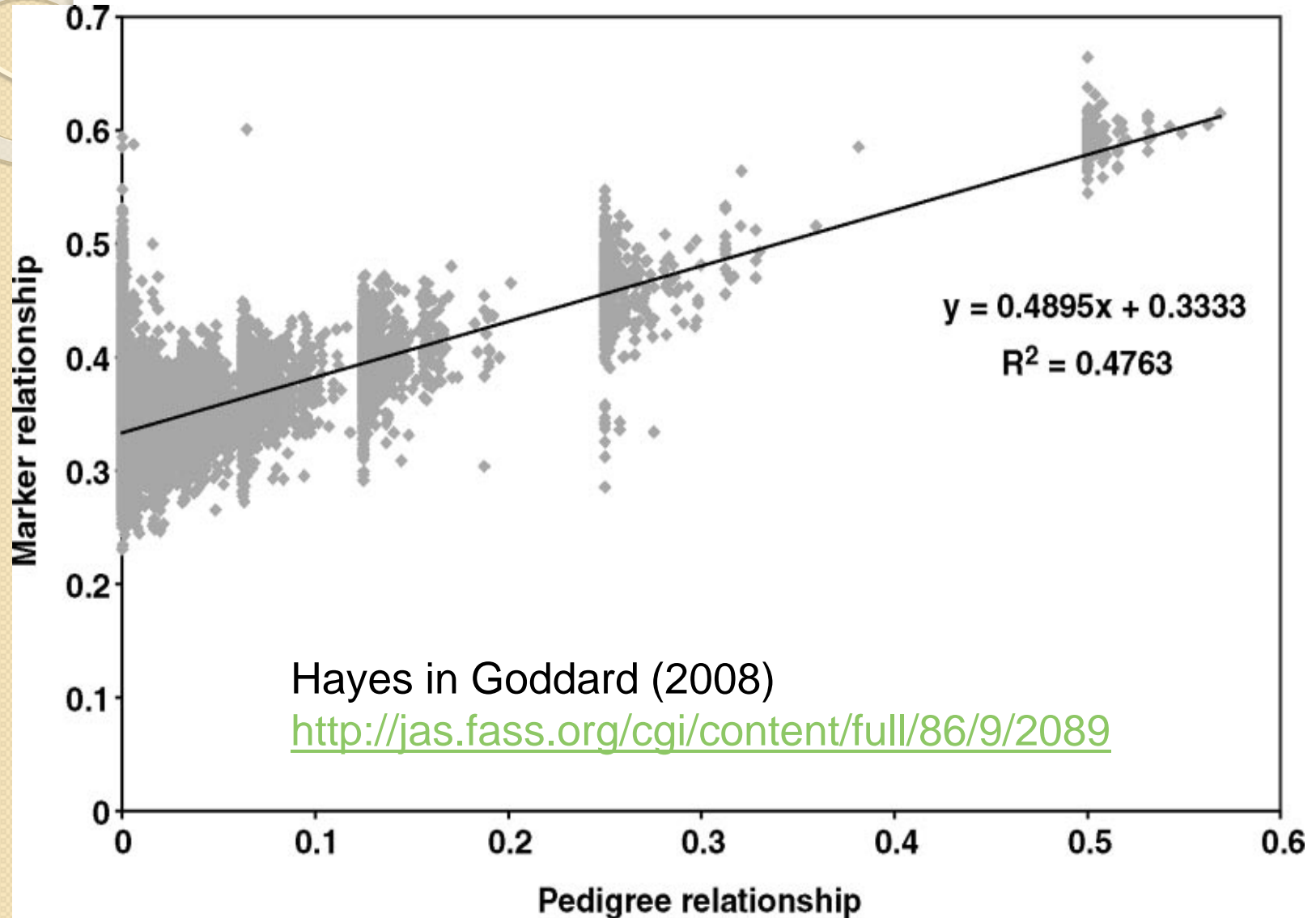




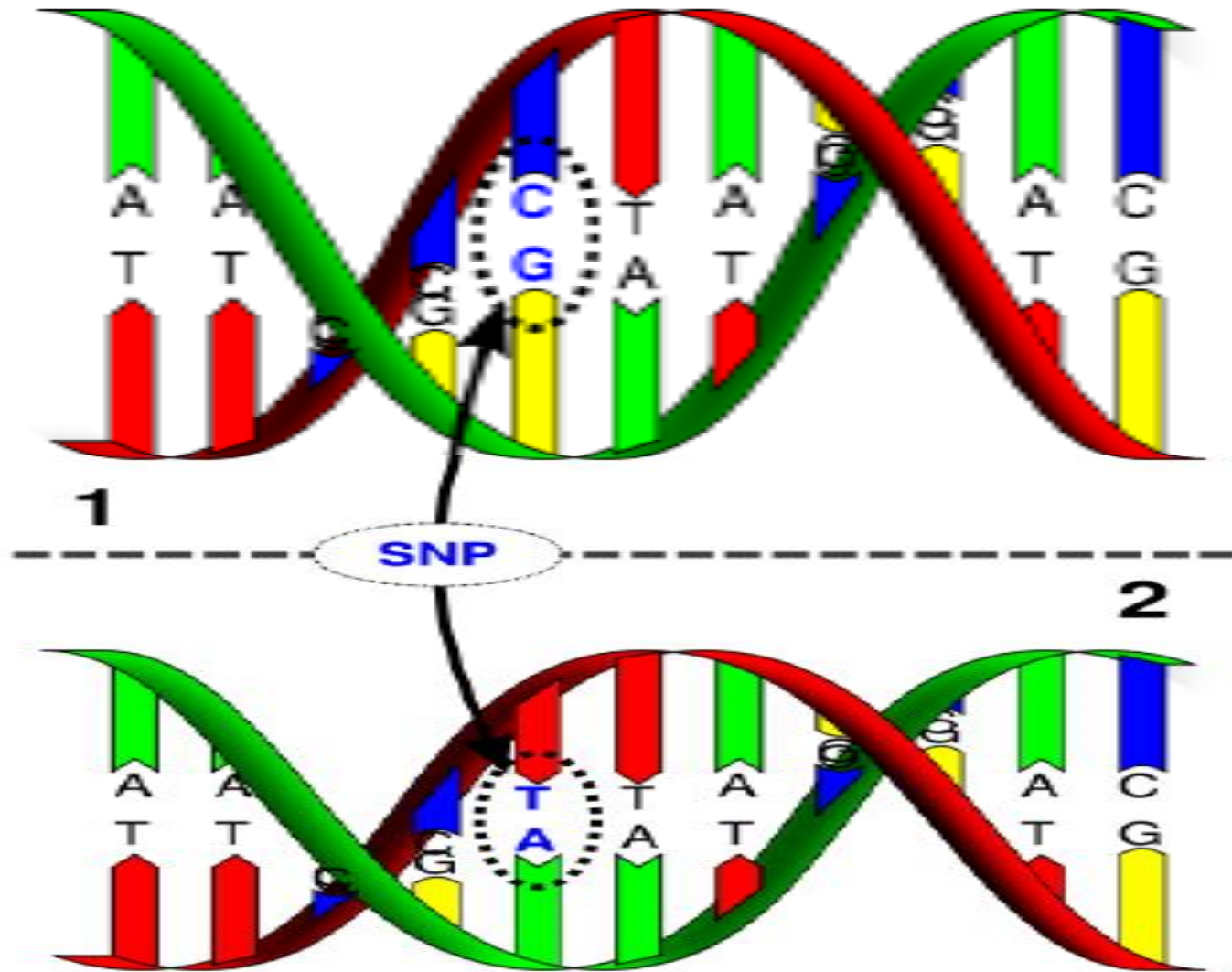
Kako poteka izračun?

- Ocena vpliva SNP-jev
 - SNP₁
 - CG + 5 kg
 - TA – 5 kg
 - SNP₂
 - CG + 2 kg
 - TA – 2 kg
 - SNP₃
 - CG + 1 kg
 - TA – 1 kg
 - ...
- Izračun PV
- Bik A
 - SNP₁ CG + 5 kg
 - SNP₂ CG + 2 kg
 - SNP₃ TA – 1 kg
 - Skupaj → 6 kg
- Bik B
 - SNP₁ CG + 5 kg
 - SNP₂ TA – 2 kg
 - SNP₃ TA – 1 kg
 - Skupaj → 2 kg

Identičnost po izvoru vs. funkciji



SNP – “snip”



Čipi

- leta 2001 se je ideja Meuwissen in sod. zdela “nora”, saj je bil takrat cilj zmanjšati stroške za genotipizacijo – le nekaj označevalcev
- vpeljava čipov in padec cene (~200 \$) danes omogočata uporabo velikega števila (50 k in več) označevalcev tudi v živinoreji



Odvzem tkiva – nosna sluznica



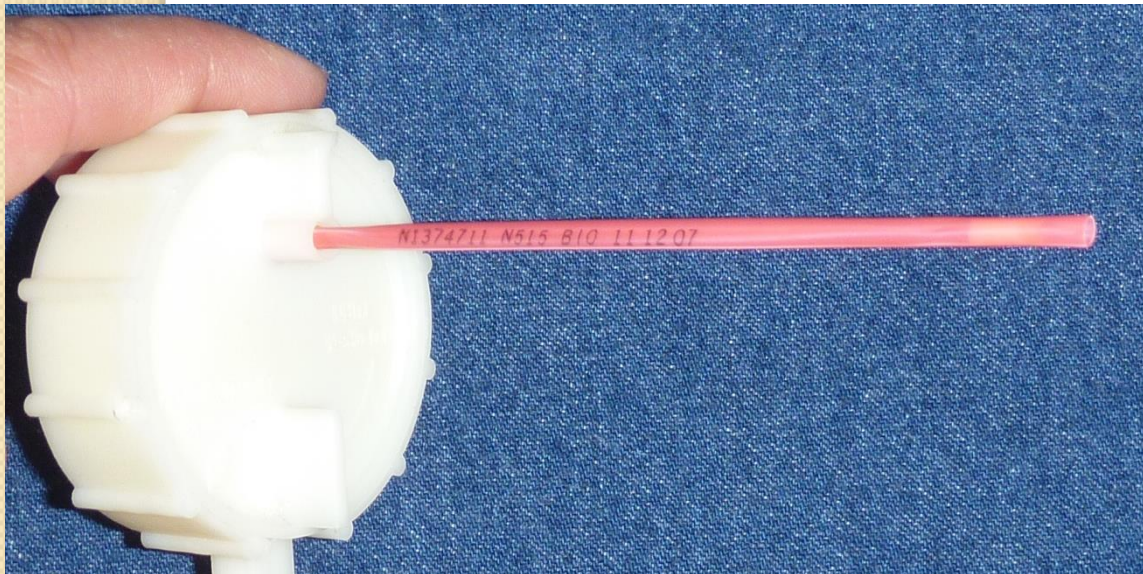
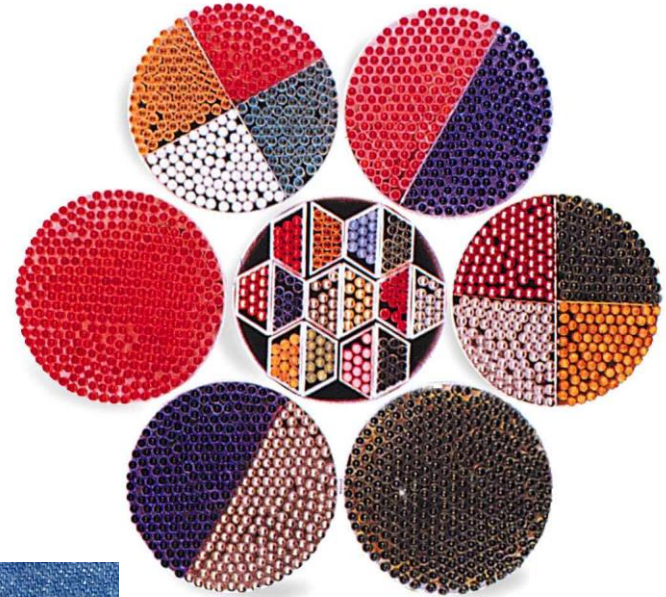
Odvzem tkiva - številčenje



Odvzem tkiva – dlaka

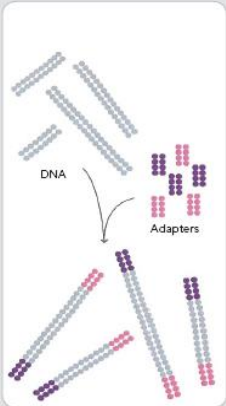


Odvzem tkiva – Al biki



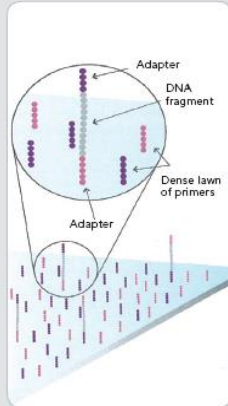
Genotipizacija

1. PREPARE GENOMIC DNA SAMPLE



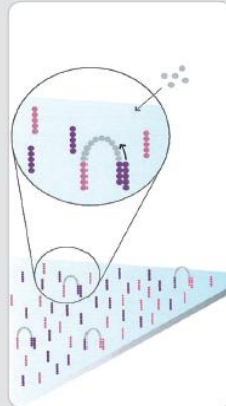
Randomly fragment genomic DNA and ligate adapters to both ends of the fragments.

2. ATTACH DNA TO SURFACE



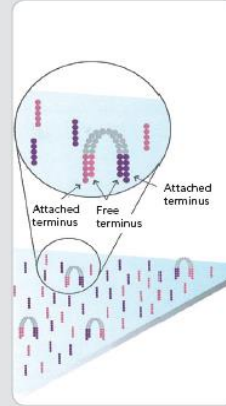
Bind single-stranded fragments randomly to the inside surface of the flow cell channels.

3. BRIDGE AMPLIFICATION



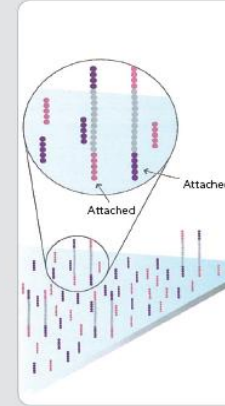
Add unlabeled nucleotides and enzyme to initiate solid-phase bridge amplification.

4. FRAGMENTS BECOME DOUBLE-STRANDED



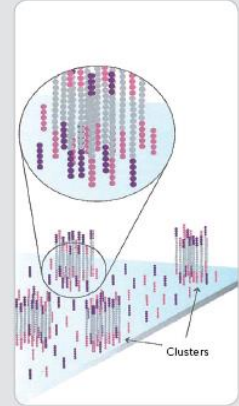
The enzyme incorporates nucleotides to build double-stranded bridges on the solid-phase substrate.

5. DENATURE THE DOUBLE-STRANDED MOLECULES



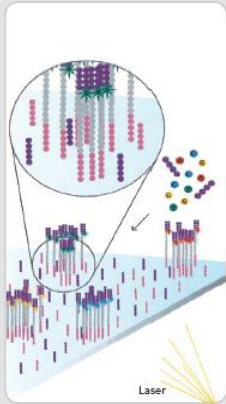
Denaturation leaves single-stranded templates anchored to the substrate.

6. COMPLETE AMPLIFICATION



Several million dense clusters of double-stranded DNA are generated in each channel of the flow cell.

7. DETERMINE FIRST BASE



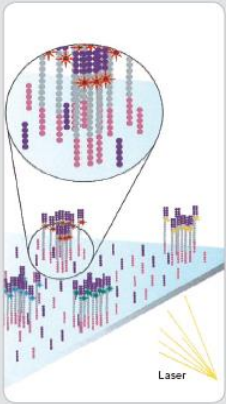
The first sequencing cycle begins by adding four labeled reversible terminators, primers, and DNA polymerase.

8. IMAGE FIRST BASE



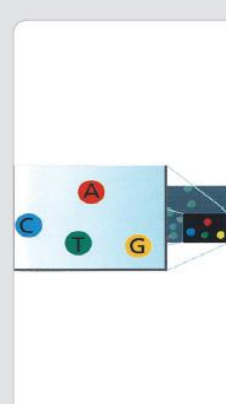
After laser excitation, the emitted fluorescence from each cluster is captured and the first base is identified.

9. DETERMINE SECOND BASE



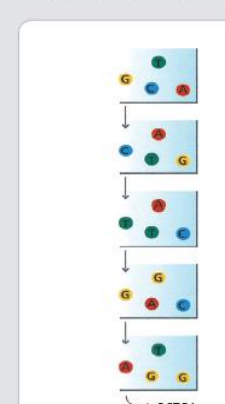
The next cycle repeats the incorporation of four labeled reversible terminators, primers, and DNA polymerase.

10. IMAGE SECOND CHEMISTRY CYCLE



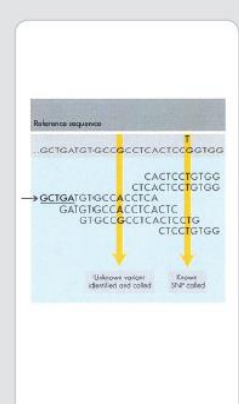
After laser excitation, the image is captured as before, and the identity of the second base is recorded.

11. SEQUENCING OVER MULTIPLE CHEMISTRY CYCLES



The sequencing cycles are repeated to determine the sequence of bases in a fragment, one base at a time.

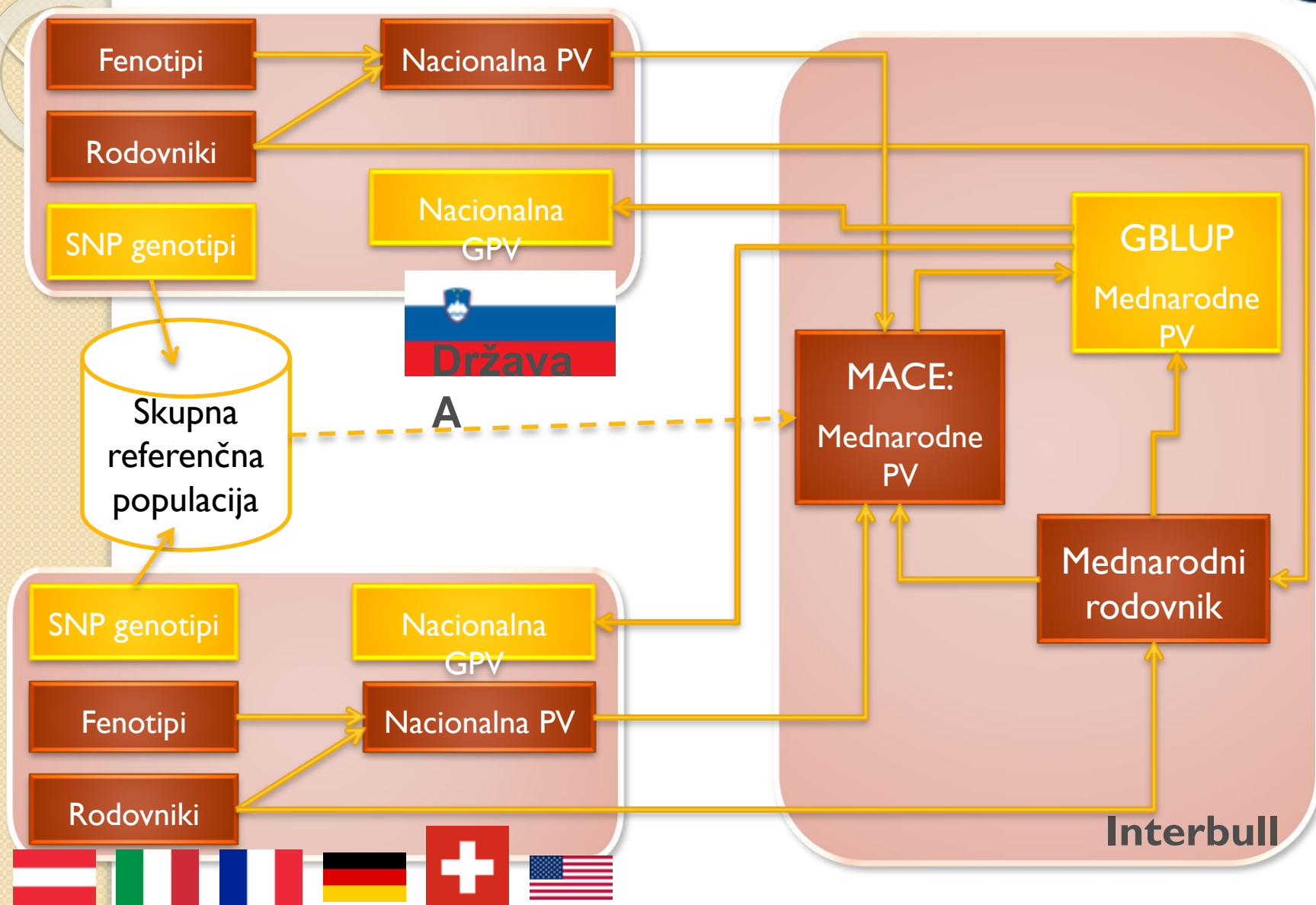
12. ALIGN DATA



The data are aligned and compared to a reference, and sequencing differences are identified.

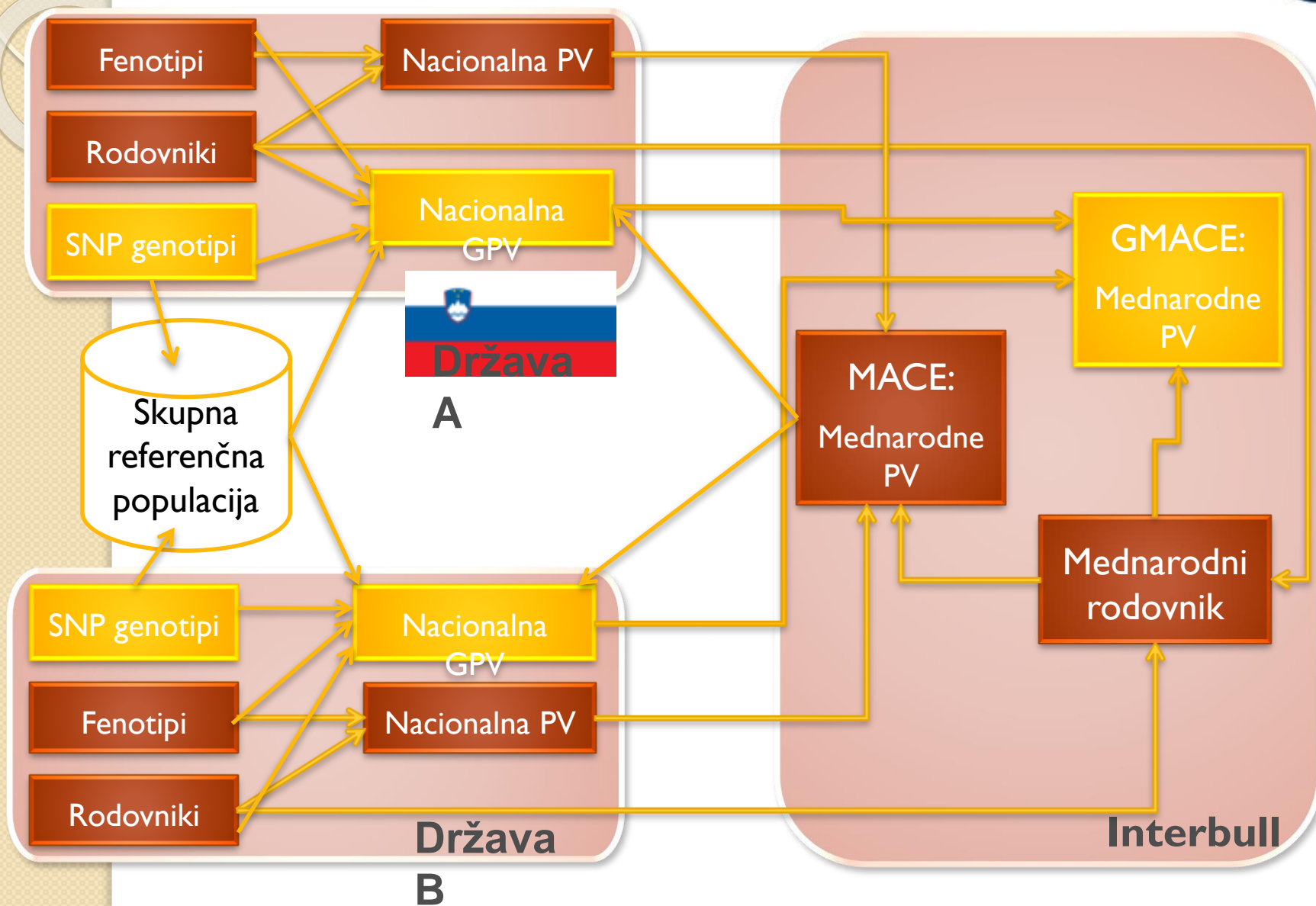


InterBull - InterGenomics



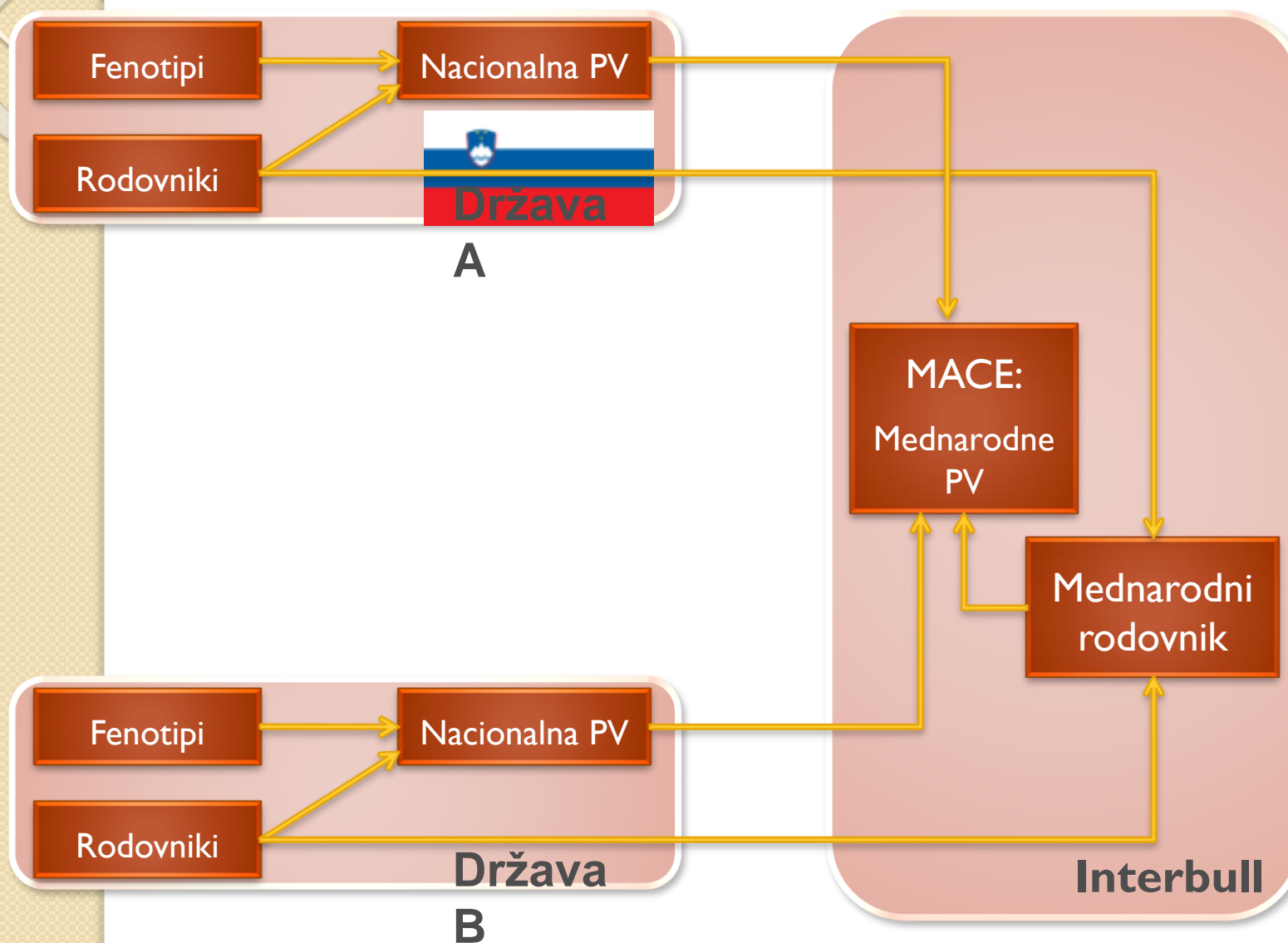


InterBull - GMACE

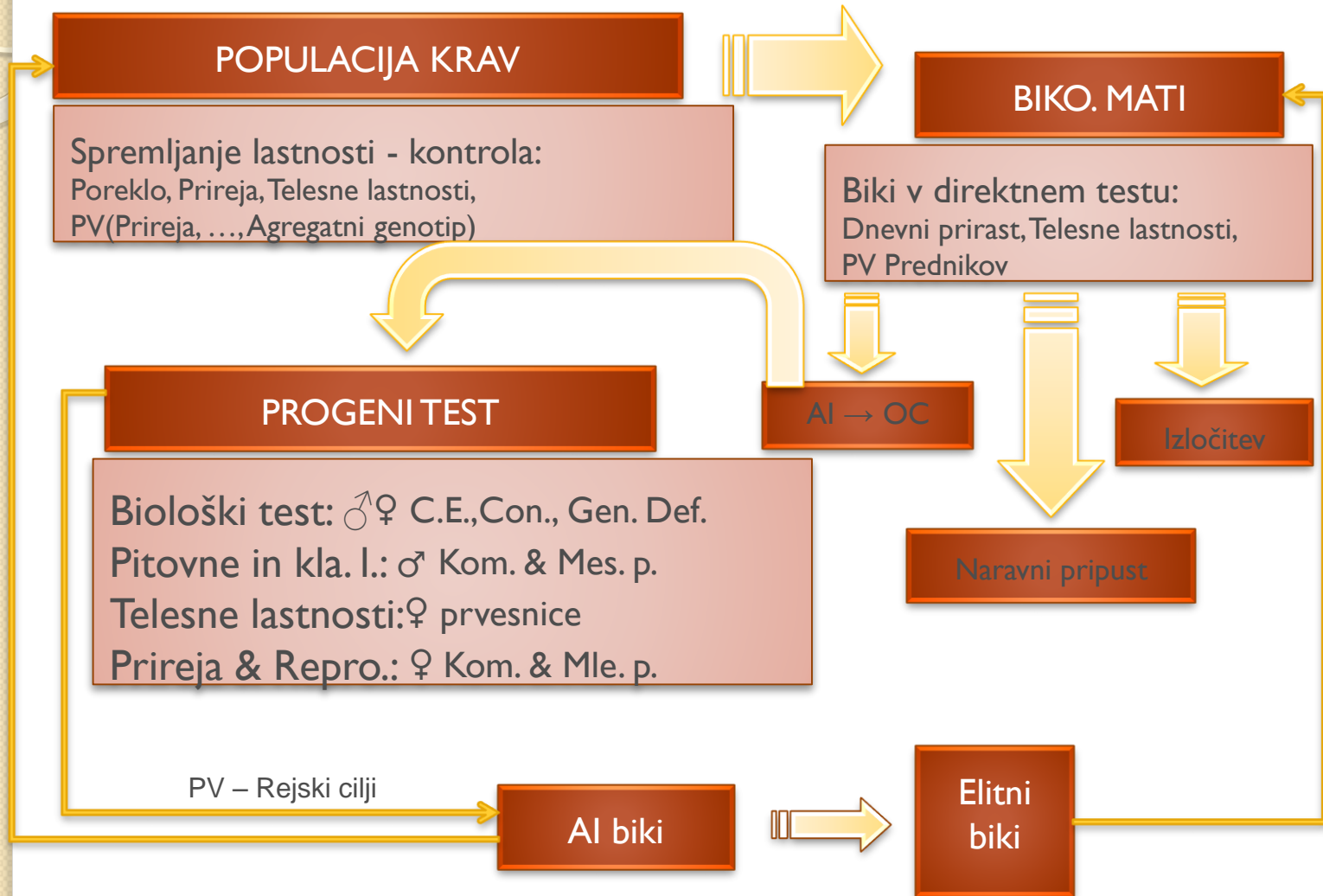




InterBull - MACE



Poenostavljena shema SP



Tok informacij

Napovedovanje PV

INTERBULL



SLO- Lastnosti mlečnosti

SLO

Svet

Podatkovno
skladišče

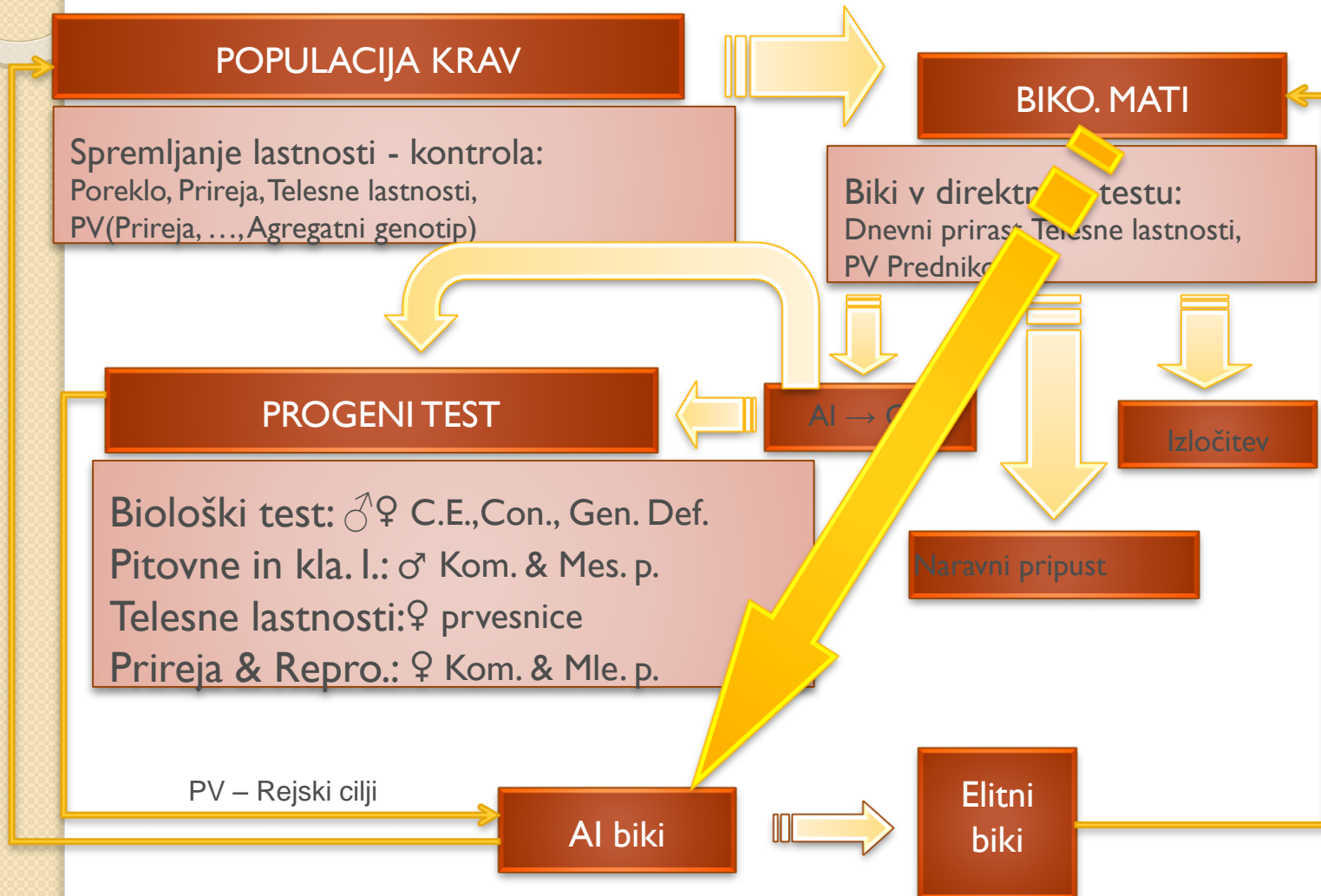
WEB

Selekcionerji,
rejci, ...

SIR, KIS, ...



Poenostavljena shema SP



- Pas
- Kokoši
- Svinje
- Konji
- Govedo



RAZVOJ GENOMSKE SELEKCIJE PO VRSTAMA - SPECIJES

Stanje pri psih

- Že nekaj let v uporabi
- ~60 k čip
- V praksi se izvaja selekcija za pse vodnike slepih
- Lastnosti obnašanja in dolgoživosti
- Dobri rezultati, validacija na telesnih lastnostih
- Ekonomsko upravičeno, 2 leti šolanja, nato ustvarjanje vezi pes-človek

Stanje pri perutnini-kokoši

- Od leta 2007
- 15 k čip, morda oz. verjetno že več
- Predrago za brojlerje
- V uporabi pri nesnicah
- Zaradi inbridinga in velikosti-majhnosti genoma, je to zelo velik čip
- lastnost je dobro oz. enostavna za definicijo
- Zelo dobri rezultati, visoka zanesljivost ocene
- Vse financira največja selekcijska hiša na svetu

Stanje pri prašičih

- Od leta januarja 2009
- 60 k čip
- Se govori o implementaciji
- Lastnosti je lahko definirati
- Verjetno bodo dobri rezultati, kako bo z gospodarsko učinkovitostjo??

Stanje pri konjih

- 60 k čip, morda oz. verjetno že več
- Še ni v uporabi
- Velike razlike med pasmami
- Dirkalni 'enostavne' lastnosti
- Športni 'kompleksne' lastnosti
- Konjerejci ne želijo jasne slike (-)
- Relativno majhne populacije, slabo definirani cilji
- Ekonomska učinkovitost vsaj pri športnih in dirkalnih konjih verjetno ni vprašljiva

Stanje pri govedu

- Izrazoslovje
- Vpliv na selekcijo
- Čipi
- Pomisleki
- Mednarodni nivo
- Nacionalni nivo

Govedo - selekcija

- USA, CAN, NLD, NZL vodijo
- Želijo ohraniti prednost, prodajati mlade bike
- Mladi biki so testirani pri 2. letih
- selekcijski interval iz 6 na 2 leti
- Majhne populacije ne morejo oceniti SNP vplivov
- Želja po povezovanju

Govedo - selekcija

- USA ne želi slišati o izmenjevanju genoma pri CB, izmenjuje SNP z CHE za RJ.
- DGV ene države bo v drugi neuporabna
- Ko bo narejena poštena primerjava, bomo videli kdo je v resnici boljši.
- V nekaj letih bo IB ali kaj drugega imelo zbirko vseh podatkov in konverzijskih formul

- Govedo
 - DEU, USA, NLD : FRA
 - InterGenomics
- Konji FRA



PRAKTIČNA PRIMENA GENOMSKE SELEKCIJE

- Velike populacije
 - Ubrzanje genetskog trenda
- Male populacije
 - Smanjiti sparivanje u srodstvu

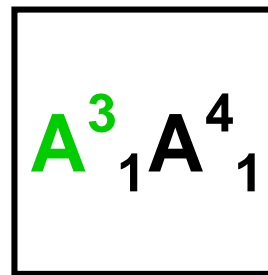
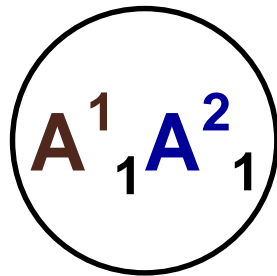


MOGUĆNOSTI IMPLEMENTACIJE

Rodovnici

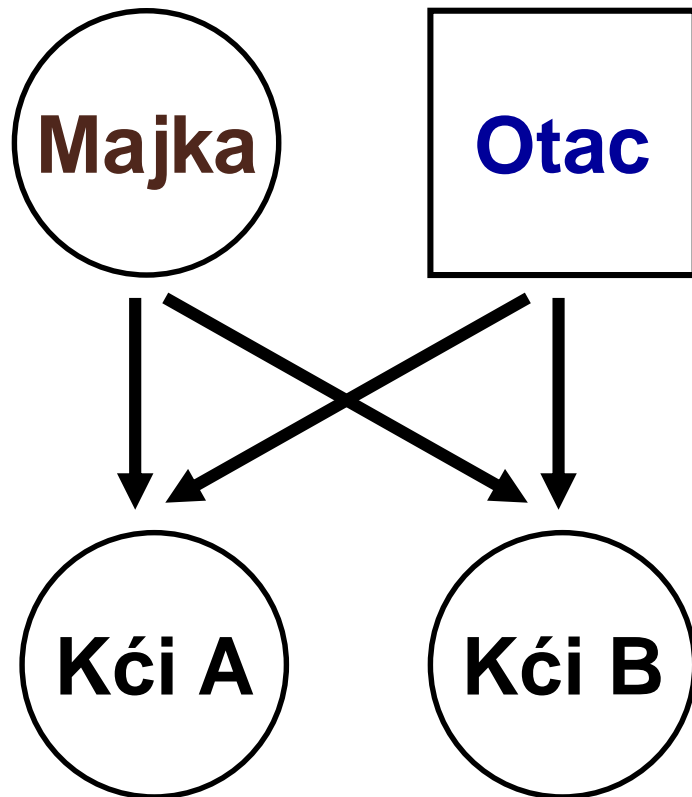
Rodovnici - dio informacija o genotipu –
očekivan udio gena (alela), identičnih po
izvoru → koeficijenti srodstva

Identični po izvoru ili funkciji?



- boja ili superscript označuje izvor
- uderscript označuje vrstu/funkciju alela

Koeficijent srodstva - R_{XY}



Koeficijenti srodstva

- $R_{MO} = 0$ (pred postavka)
- $R_{MA} = R_{MB} = \frac{1}{2}$ (tačno)
- $R_{OA} = R_{OB} = \frac{1}{2}$ (tačno)
- $R_{AB} = \frac{1}{2}$ (u proseku!)

Koeficijent srodstva II

- Genotip majke: A^1A^2
- Genotip otaca: A^3A^4
- Genotipi potomaca

Aleli od majke

		A^1	A^2
Aleli od otaca	A^3	A^1A^3	A^2A^3
	A^4	A^1A^4	A^2A^4

Koeficijent srodstva III

- Primer: prava braća i prave sestre

	A^1A^3	A^1A^4	A^2A^3	A^2A^4
A^1A^3	1	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{2}$	0
A^1A^4	$\frac{1}{2}$	1	0	$\frac{1}{2}$
A^2A^3	$\frac{1}{2}$	0	1	$\frac{1}{2}$
A^2A^4	0	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{2}$	1

Očekivan koef. srodstva

$$R_{AB} = (1 + \frac{1}{2} + \dots + 1) / 6 = \frac{1}{2} \text{ (u prosjeku!)}$$

Stanje

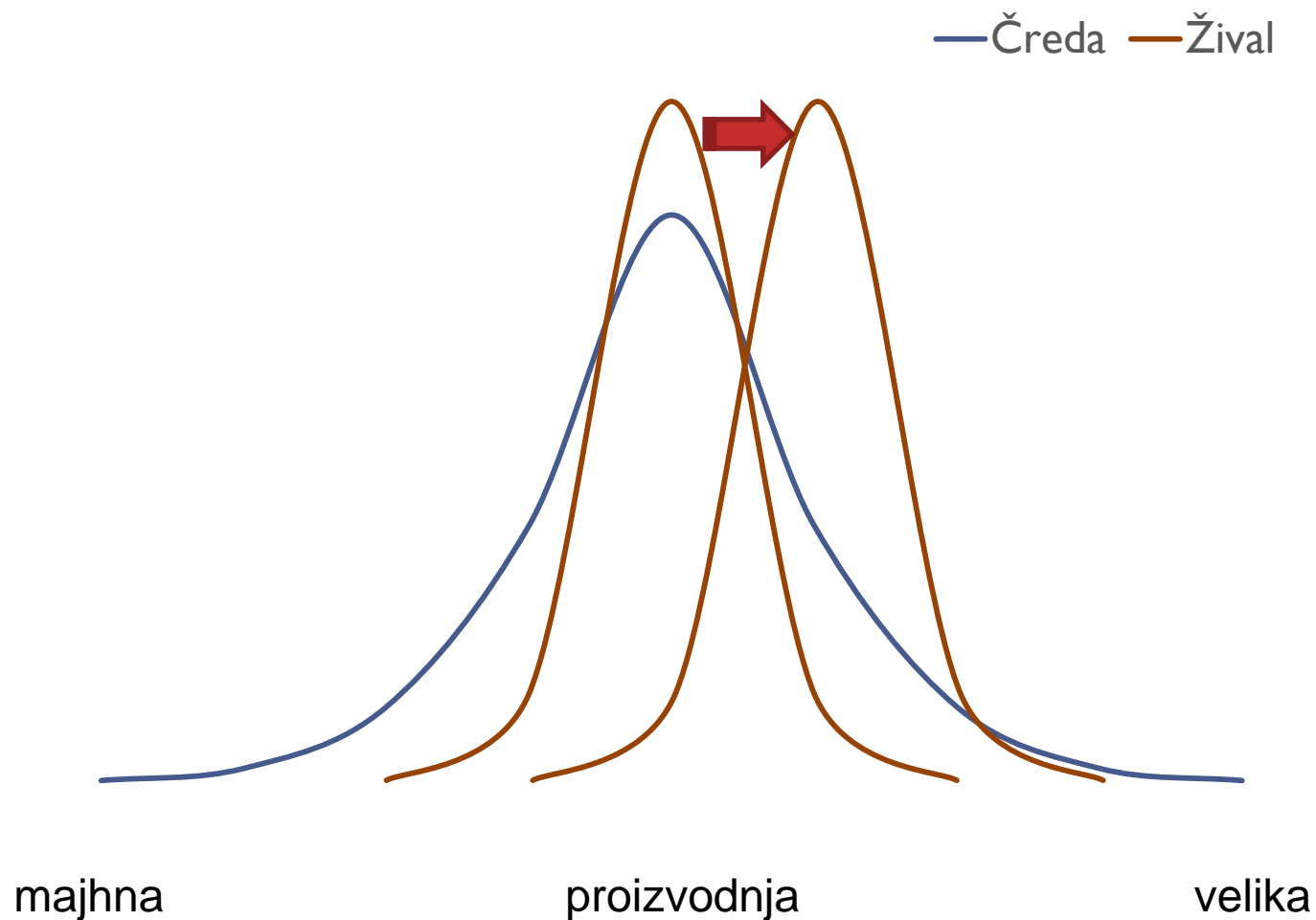
- Samooskrba z mlekom in mesom govedi (edini kmetijski produkt)
- Populacija:
 - 450.000 govedi
 - 160.000 krav (25.800 kmetij – povp- 6,2)
 - 60.000 krav dojilj (19.200 kmetij – povp- 3,1)
 - 100.000 mlečnih krav (6.600 kmetij – povp- 15,2)
 - 80.000 mlečnih krav v kontroli

EU 23 mio

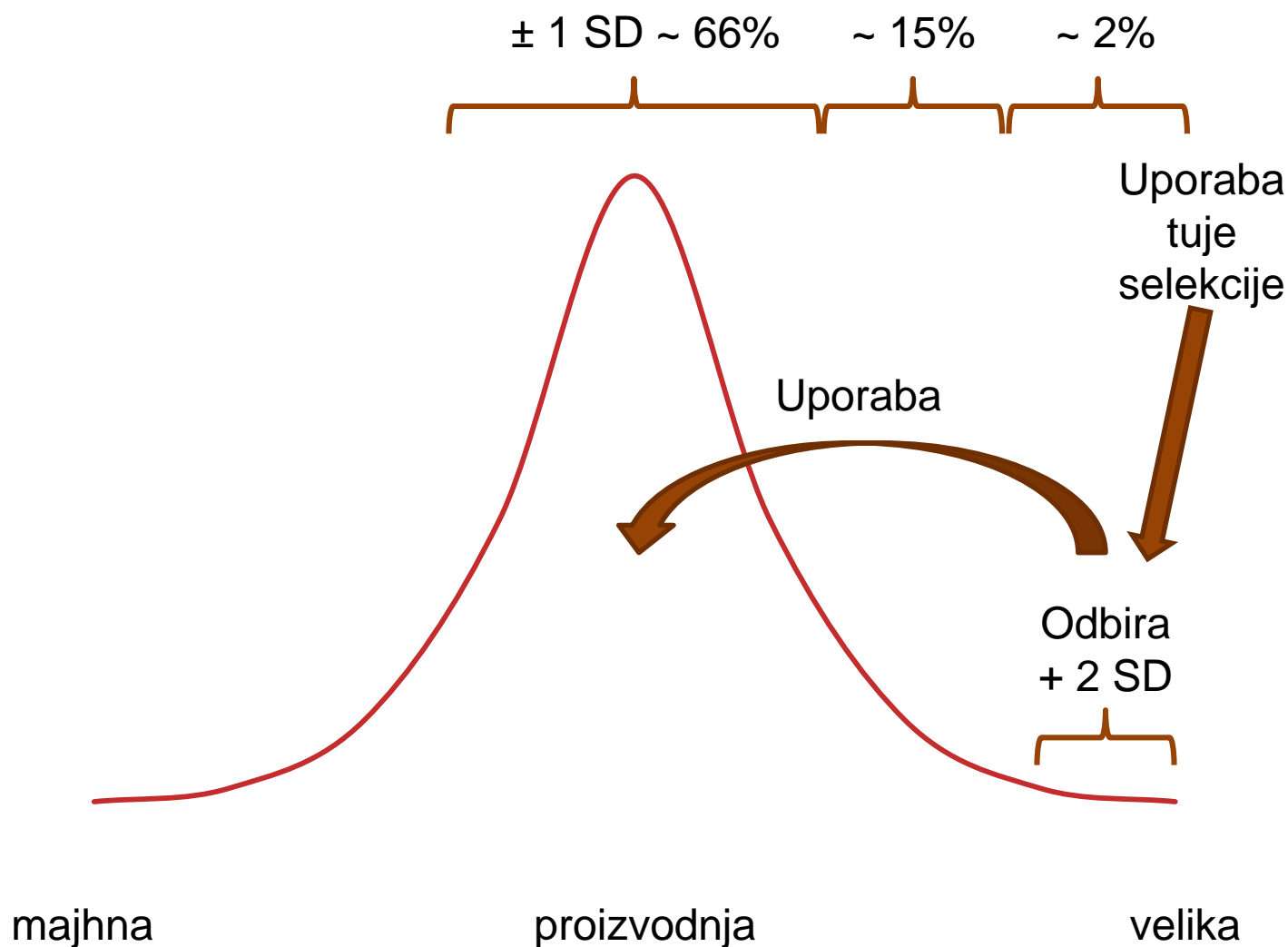
Odsotnost
selekcije!

Pasma	Σ %	Mleko	Meso	Št. Tel ML	MI kg
Črno-bela	17,5	34.400	0	3,1	7.400
Rjava	7,0	12.300	2.500	3,9	5.500
Lisasta	39,0	40.300	32.800	3,7	5.700
Drugo	36,5	13.000	24.700	3,3	6.000

Variabilnost management/žival



Odbira staršev naslednjih generacij in njihova uporaba





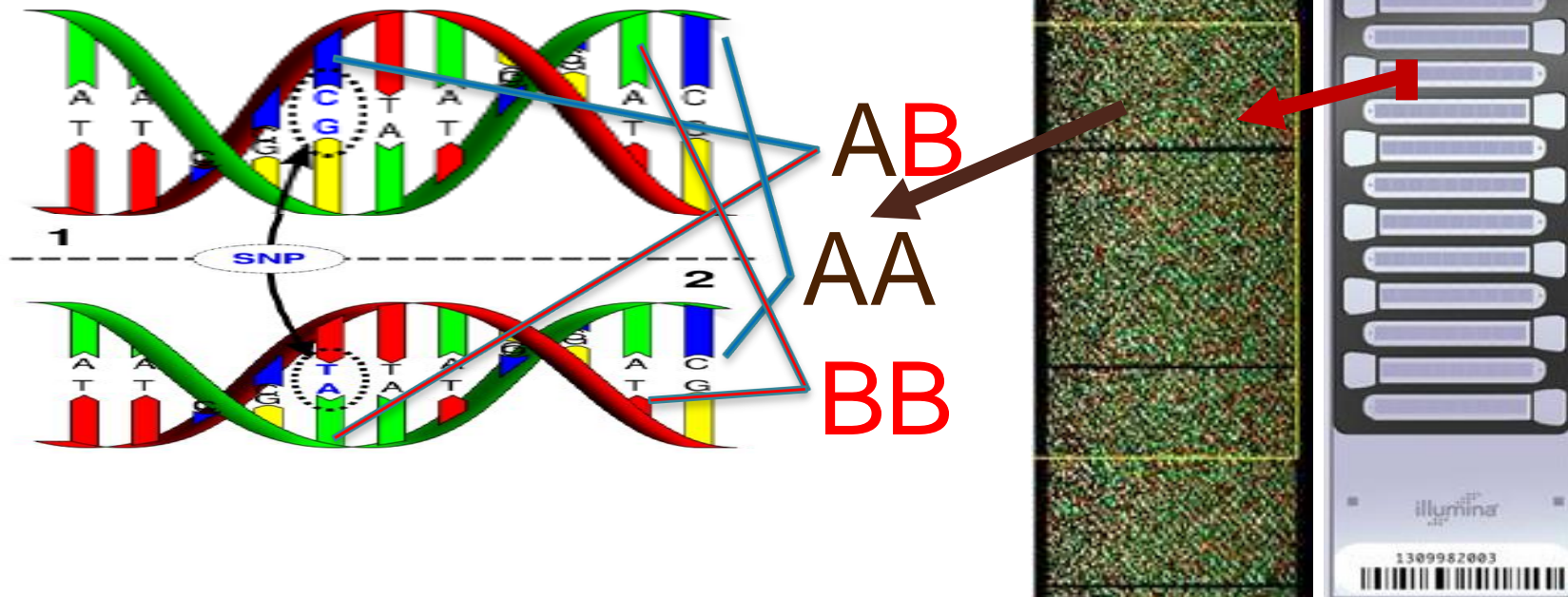
GENOMSKA SELEKCIJA

Stanje pri nekaterih vrstah

- Psi prva uporaba – dolgoživost – psi vodniki
- Perutnina (kokoši) – od 2007
- Prašiči – čip od jan 2009
- Konji – 2009/10 čip – predispozicije za bolezni
- Govedo:
 - 2009 – skepsa (USA, CAN, AUS, NZL – vodijo igro)
 - 2010 – uporaba; pričetki povezovanje InterGenomics
 - 2011 – “mladi bik“ postane “testiran“
 - 2012 → trženje GS, “pobiranje vložkov“
 - 2013 → povezovanje, cenitev, široka uporaba, špekulacije

Do PV takoj po rojstvu ali že prej!

- Osnova Genomske Selekcije:
 - klasični obračun PV in
 - informacije genoma (SNP-čip) za živali z zanesljivimi ocenami PV



Genomski podatki pri govedu

- Genom \approx 3 milijarde baznih parov (\sim 20.000 genov)
- SNP označevalci
- SNP čipi
 - 3.000 (LD) 1:1.000.000
 - 6.000 (LD) 1:500.000
 - 50.000 (50K) 1:55.000
 - 800.000 (HD) 1:4.000
- Sekvenca 1:1

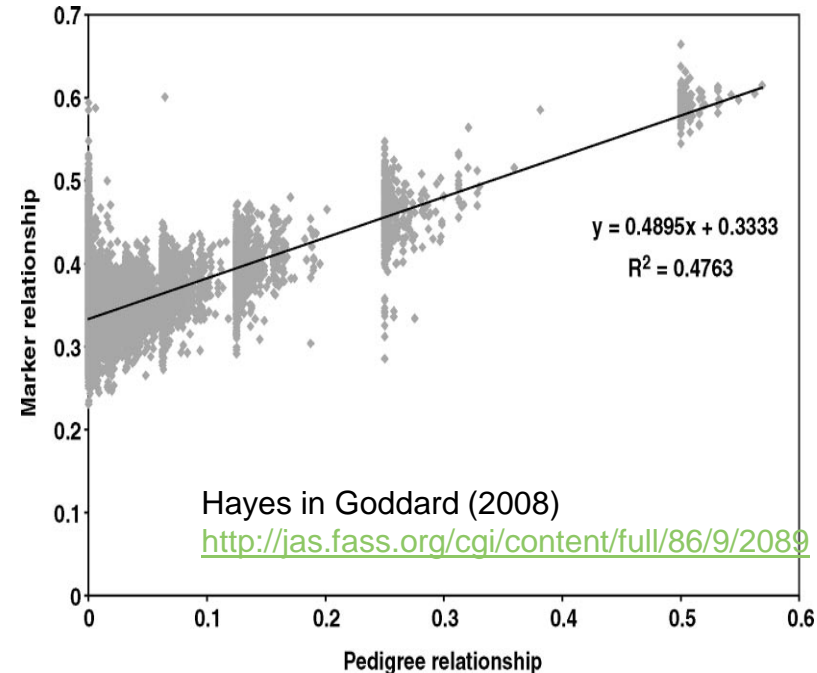
Uporabnost genomske selekcije

- Prednosti:

- Krajši generacijski interval
- “Ureditev rodovnikov“
- Večja učinkovitost selekcije pri lastnostih z manjšim h^2
- Informacije o “kvalitativnih“ lastnostih
- Orodje za preprečevanje parjenja v sorodstvu – funkcionalni inbriding

- Omejitve:

- Veliko število živali v bazni populaciji (PV+SNP)
- Velika investicija



Genomski selekcija – v praksi FRA-13

- Osemenjevalni center → Genomski center
 - Namesto bikov za odvzem semena, telice za odvzem embrijev
 - Pravičen dogovor z rejci – odsotnost špekulacij
 - Genomska selekcija embrija
 - Določitev spola
 - Ocena tveganja za bolezni
 - Ocena genomske PV
 - Ocena funkcionalnega inbridginga



Vse pred
ET



SLOVENIJA SODELUJE V PROJEKTU INTERGENOMICS

Podatki enega obračuna

- 40 vzorcev
 - 34 bikcev – 56 K čip
 - 2 telički – 56 K čip
 - 4 teličke – LD čip
- Rezultati
 - Kapa kazein
 - Beta kazein
 - DGV obračun

Kapa kazein

- Možne genetske oblike alela: B, A, E,..
- Rjava pasma praviloma le A in B
- Primerjava genotipa AA : BB
 - cca. 25 % daljši čas koagulacije
 - cca. 50% manjša čvrstost koaguluma
 - cca. 10% manjši izplen sira
 - Npr. $6000 \text{ l/lak} \times 5 \text{ lak} = 30000 \text{ l} \approx 3000 \text{ kg sira}$
 - Razlika cca. 7 % = $210 \text{ kg sira} \times 5\text{€} = 1000 \text{ €}$

Beta kazein

Etiologija:

- o diabetes tipa 1,
- o ishemična bolezen srca,
- o kot modifikator nevroloških bolezni (avtizem)
- o razlike med populacijami

- o HOL 50-50
- o GUE < 10% AI
- o BSW ~ 25%

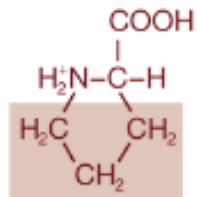
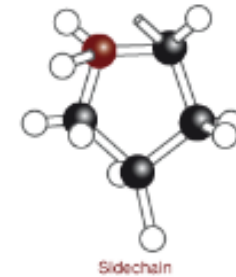
CIM 2022

Protein chain showing amino acids in A1 and A2 beta-casein

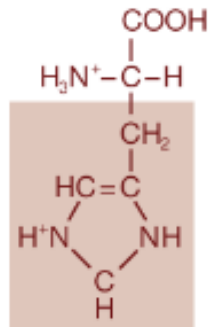
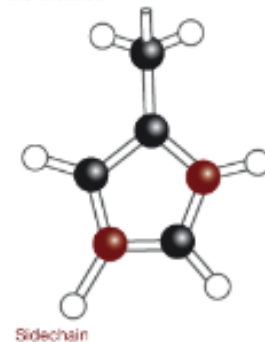


One amino acid difference at position 67 in the protein chain

Proline



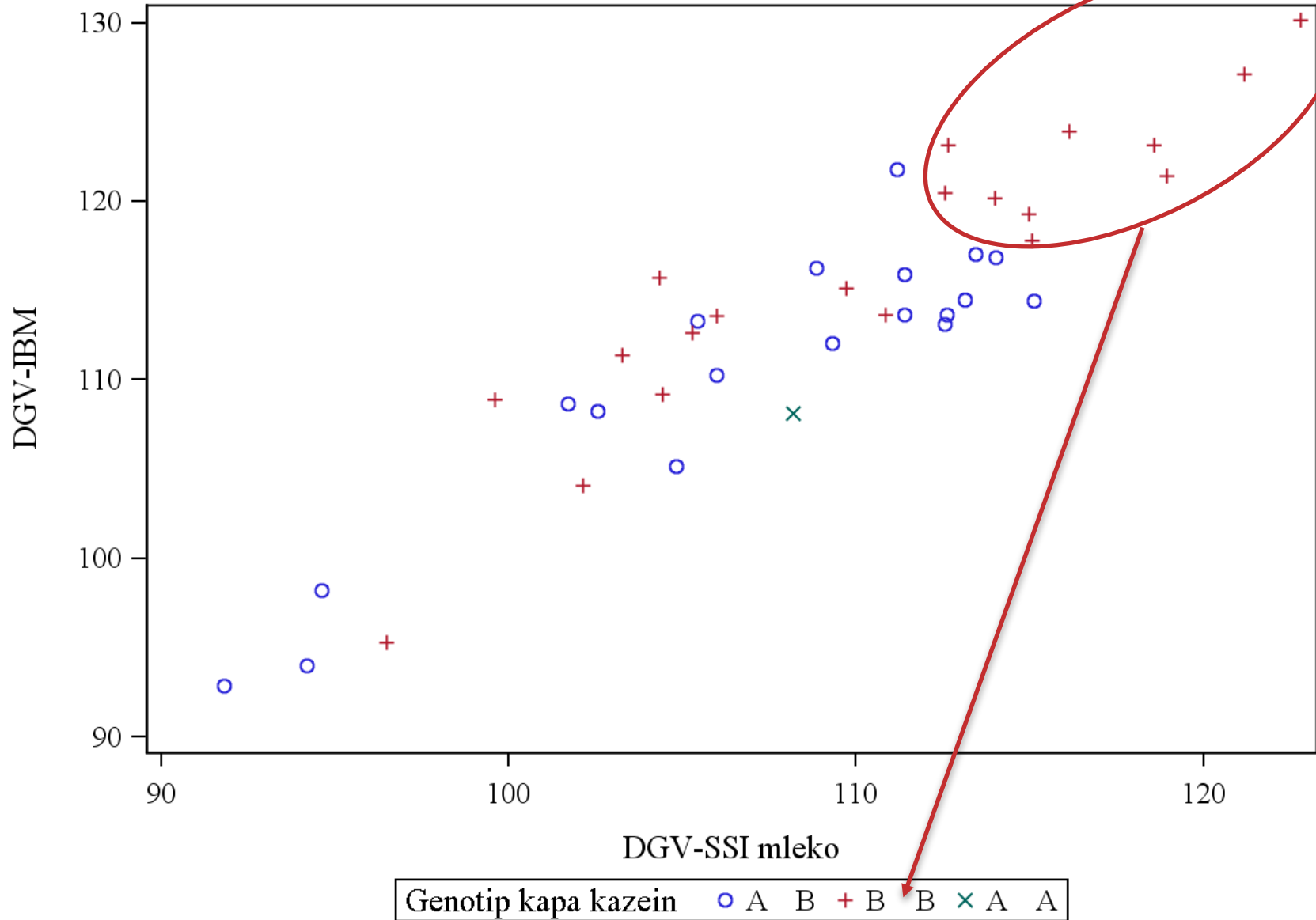
Histidine



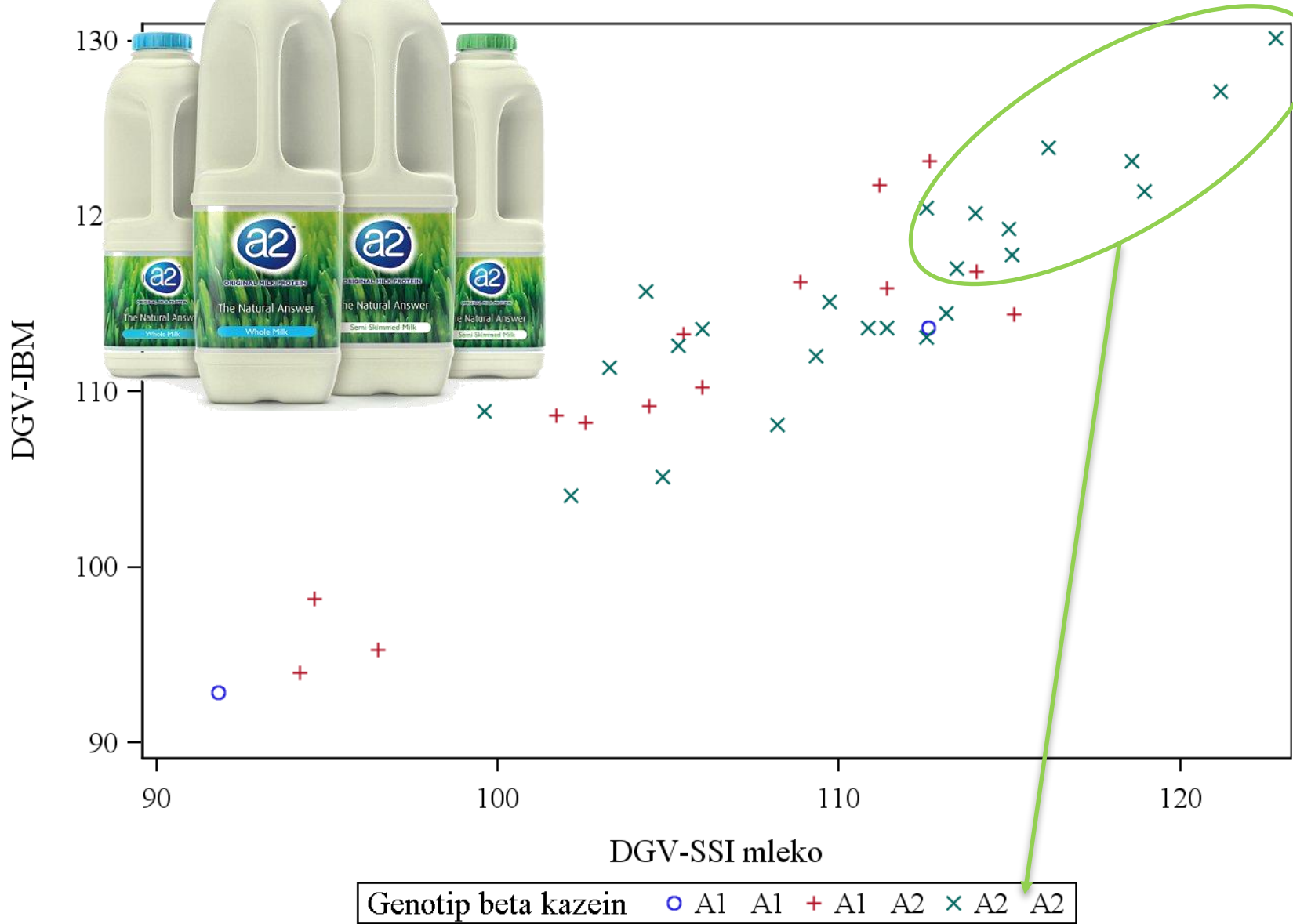
Kapa in beta kazein

Kapa kazein		Beta kazein					Skupaj
		A1	A1	A1	A2	A2	
A	A		0		0		1 2,5 %
A	B		2		11		6 19 47,5 %
B	B		0		3		17 20 50,0 %
Skupaj			2		14		24 40 5,0 % 35,0 % 60,0 %

Povezava med IBM in SSI - KK



Povezava med IBM in SSI - BK



Genomski izvid



Univerza v Ljubljani
Biotehniška fakulteta

ODDELEK ZA ZOOTEHNIKO, KATEDRA ZA ZNANOSTI O REJAH ŽIVALI,
DRUGA PRIZNANA ORGANIZACIJA V GOVEDOREJI,
Groblje 3, 1230 Domžale tel: (01) 320 3872 fax: (01) 724 1005
<http://rodica.bf.uni-lj.si/govedo> E-mail: klemen.potocnik@bf.uni-lj.si



ZOOTEHNIŠKI DOKUMENT GENOMSKI IZVID

Podatki o živali

Ime živali: VERDES
Datum rojstva: 01.01.2013
Rodovniška št.:
ID št.: BSWSVNM000004231516
Pasma: Rjavo govedo
Inbriding po poreklu: 0,0204

- Analiza GENOMA - SNP

Datum genotipizacije: 08.11.2013
SNP čip: 54609
% uspešnosti: 99
Kapa kazein: B/B
Beta kazein: A2/A2
% homozigotnosti: 73

Poreklo

Oče: BSWCHEM120026607112
VERSACE-ET
22.05.2005
SSI: 125
Mati: BSWSVNF000063320916
DESA 36
18.07.2007
SSI:

O-oče: BSWUSAM000000191215 (1995)
PRESIDENT-ET
O-mati: BSWDEUF000934303002 (1999)
VENEZIA
M-oče: BSWITAMBZ0000707500 (1999)
CONDOR
M-mati: BSWSVNF000001857747 (1999)
DANA

Rejec
URŠKA KOČNAR

Lastnik
KGZS-ZAVOD GO

Genomski izvid

	točnost %	PV12	% rang
SSI	81	121	3



Strokovni komentar

Direktne genomske plemenske vrednosti so zelo visoke za lastnosti mlečnosti, dolgoživost in lastnosti vimena. Za večino telesnih lastnosti in somatske celice so ocenjene vrednosti visoke. Povprečne so za iztok mleka in skupno oceno telesnih lastnosti. Skupni selekcijski indeks je močno nadpovprečen, kar žival po rangu uvršča med 3 % najboljših živali v populaciji.

Koeficient inbridinga je povprečen, enako velja tudi za odstotek homozigotnosti.

Potomci po tem biku podedujejo zaželen alel za beta kazein. Potomci po tem biku podedujejo zaželen alel za kapa kazein.

Glede na odlične ocene plemenskih vrednosti, povprečen koeficient inbridinga in zaželen genotip za kapa ter beta kazein, gre za izredno perspektivnega bika.

V Domžalah, dne: 17.12.2013

Vodja skupine za
vrednotenje podatkov:
dr. Klemen Potočnik

Žig

Predsednica priznane rejske
organizacije ZRGRPS:
ga. Sonja Arlič



**RAZMIŠLJANJE O
UPORABI V SLOVENSKI
GOVEDOREJI**

Selekcija na lastnosti povezane s kakovostjo proizvodov?

- A 30
- Beta – laktoglobulin
- Kapa kazein
- Beta kazein
- MK ω -3 : ω -6 = 1 : 2-3
- Zakaj?
 - Tekma 100.000 : 23.000.000 + kvote ?
 - Vse črede v selekciji : selekcija × komerciala

Slovenske populacije mlečnih pasem

- Črno-bela
 - Uporabna za nekaj farm z odličnim managementom
 - Domača selekcija? Marci, GPZ : GSS
 - Sodelovanje podobno BSW - InterGenomics
- Lisasta
 - Ureditev rodovnikov – vključitev ženskih živali v referenčno populacijo
 - Selekcija za kombinirano rejo?
- Rjava
 - Selekcija na κ in β kazein, ... v podpori z GEBV-SSI
 - Čreda – Logatec?
 - Del populacije – Krepko / OC
 - SLO populacija – Rejci / MKGP



HVALA ZA
POZORNOST