

9. Genetické markery ve šlechtění

Dobrý den. Molekulární genetika ovlivňuje nové metody ve šlechtění. Tato přednáška se zabývá genetickými markery a jejich aplikace. Přednáška je součástí modulu 3, Šlechtění zvířat. Vytvoření této prezentace bylo podpořeno grantem ERASMUS+ KA2 v rámci projektu ISAGREED, Inovace obsahu a struktury studijních programů v oblasti managementu živočišných genetických a potravinových zdrojů s využitím digitalizace.

S rozvojem molekulární genetiky od 70. let 20. století, a hlavně molekulárně genetických metod práce s molekulou DNA je možné identifikovat reálnou genetickou variabilitu (genotypy) pomocí molekulárních genetických markerů. Toho se využívá např. k mapování genů či oblastí v genomu (QTL), kde by se geny pro komplexní užitkové vlastnosti mohly nacházet. Díky těmto analýzám se nabízí využívání těchto informací ve šlechtění, a to konkrétně ke zpřesnění odhadů genetických parametrů (jako je heritabilita) a plemenných hodnot, čímž dochází k zefektivnění šlechtění pomocí zvýšení genetického zisku a zkrácení generačního intervalu.

Na počátku (tj. od 80. let 20. století) vznikla myšlenka využívání genetických markerů jako selekční kritérium, tedy po identifikaci genotypu jedinců následně selekci genotypově vhodného rodiče. Říká se tomu selekce s podporou markerů (tzv. MAS). Reálně se ale využívá tento přístup omezeně. Takováto selekce byla použita např. na gen stresu u prasat (CRC gen) nebo BLAD u skotu. Jednalo se o geny s monogenní dědičností, jejichž mutace způsobovalo snížení fitness jedinců. Pro užitkové, komplexní, kvantitativní znaky je přímé selektování podle genotypu jednoho genu nevhodné, nebo muselo být zahrnuto více markerů do statistických modelů a odhadovaly se už plemenné hodnoty. Pokud byl přímo určena markerem variabilita v příčinném genu, pak se hovoří o GAS, selekce s podporou genů. Velkou revolucí v těchto přístupech byly nové technologie masivního sekvenování genomů a identifikace milionů markerů (SNP) a přesnější určení oblastí QTL a genů v genomu pro kvantitativní znaky. Od roku 2009, po osekvenování genomů skotu, a postupně dalších hospodářsky významných druhů zvířat, je postupně zaváděna genomická selekce. Jedná se o metodu, která začleňuje genomické SNP markery (desetitisíce až statisíce) do genomické matice příbuznosti a tu do rovnic např. BLUP (různé varianty) s cílem odhadnout plemennou hodnotu - GEBV (genomická OPH). Což je zase jen jedno číslo, které je snadno použitelné ve šlechtitelské praxi.

Protože využíváme reálnou genetickou variabilitu, tak se výrazně zefektivňuje šlechtění – snižují se náklady, zpřesňuje odhady PH a zkracuje generační interval.

Co je tedy genetický molekulární marker? Jedná se o detekovatelný polymorfismus (více alel) se známou pozicí v genomu. Rozlišují se tři typy těchto markerů: I. Typu jsou kódující geny, tzv. kandidátní geny (např. CRC gen, ESR u prasat). Markery II. Typu jsou mikrosatelity, tedy krátké tandemově opakující se sekvence bází (STR) – nacházejí se mimo kódující sekvence. III typem jsou bialelický jednonukleotidový polymorfismus (SNP) v kódujících nebo častěji v nekódujících intronových či intergenových oblastech. Na obrázku dole je příklad jednoho SNP.

Na schématu je ukázán polymorfismus u SNP pro jeden nukleotidový pár, a polymorfismus u mikrosatelitů, který je dán délkovou variabilitou tandemových repetit (zejména dinukleotidových). U SNP jsou zpravidla dvě alely, u mikrosatelitů může být alel v populaci i dvacet, je jich však v genomech výrazně méně než SNP.

Hlavní význam genetického markeru je, že může být ve vztahu, asociaci s fenotypovou variabilitou produkčního znaku důležitého ve šlechtění, ačkoliv nemusí mít přímý biologický efekt na znak. Pak je takový marker označován jako nepřímý. Nepřímý je proto, že je ve vazbě (tedy v blízkosti na chromozomu) s jiným genem, který nemusíme znát (oblast QTL), a který přímo ovlivňuje užitkovou vlastnost. Využívá se pak vazbová nerovnováha markeru s QTL. Čím silnější vazba je, tím informativnější je marker pro šlechtění.

Příklad SNP zároveň i jako kandidátního genu je SNP na 4. chromozomu, které se nachází v genu leptinu, je tam polymorfismus záměny adenina a guaninu. Dále vidíme, že mutace je v kódující sekvenci a způsobuje změnu čtení, záměnu 40. aminokyseliny z threoninu na alanin. Toto SNP je tedy přímým markerem. Navazující asociační analýzy pak musí určit, jestli toto SNP ovlivňuje variabilitu v efektu působení leptinu a v tomto případě na ukazatele tuku ve svalovině skotu.

Vztah mezi markerem a QTL souvisí tedy s jejich vzájemnou vzdáleností a možností crossing-overu mezi nimi. Pokud marker není přímý a příčinný, může být ve vazbě s příčinným lokusem QTL. Na obrázku vidíme různé kombinace vazebné nerovnováhy mezi alelami markeru (M1 a M2) a alelami QTL (L – horší-low a H lepší-high užitkovost). Podle toho v jaké kombinaci na chromozomu jsou, je v jednom případě výhodnější alela M1, podle které by se mohlo selektovat, v druhém alela M2. Ve třetím případě není vhodná žádná markerová alela, protože obě jsou vázány se stejnou alelou H v QTL.

V krátkosti si popíšeme princip selekce s podporou markerů. MAS v selekčních programech hospodářských zvířat umožňuje zvýšit přesnost výběru specifických variací DNA, které jsou spojeny s měřitelnými rozdíly v hospodářsky významných vlastnostech. Míra genetického zlepšení dosažená pomocí MAS může být podstatně vyšší než zlepšení dosažené selekcí založenou na plemenných hodnotách u znaků, které mají v populacích nízké hodnoty heritability nebo se určují post mortem. MAS má proto potenciál výrazně zvýšit efektivitu šlechtění zvířat u těchto vlastností.

Fáze MAS. Rozlišují se fáze detekce, hodnotící fáze a fáze implementace. Ve fázi detekce se polymorfismy DNA používají jako přímé nebo vázané markery za účelem zjištění specifických frekvencí alel v rámci segregačních populací QTL. Během této fáze jsou identifikovány markery spojené s QTL a lze odhadnout velikost alelových efektů QTL a umístění QTL v genomu.

V hodnotící fázi jsou propojené markery testovány v cílových populacích, aby se zjistilo, zda se QTL v rámci populace segregují.

A ve fázi implementace se v rámci rodin používají prediktivní propojené markery v populaci a přímé markery se používají napříč rodinami za účelem vytvoření genotypové databáze. Tyto údaje se při genetickém hodnocení kombinují s rodokmenovými a fenotypovými informacemi, aby bylo možné předpovědět individuální genetické hodnoty.

Využití MAS pro přímou selekci jedince podle genotypu genetického markeru/genu pro jednoduché vlastnosti – monogenní (nejčastěji monogenní choroby) je vhodné. Např. gen stresu *CRC* a gen nemoci *BLAD* u skotu.

Pro markery asociované s kvantitativními znaky je využití MAS menší, s menším efektem – není tolik popsanych kandidátních genů a hlavně není mnoho vlastností s jednoduchým

genetickým determinizmem. Pro tyto vlastnosti je nutné zahrnout celogenomové SNP markery a to do systému genomické selekce.

A děkuji vám za pozornost.