

BREED ID: основы понимания, перспективы и этапы для породы якутская лайка

Вебинар по генетике

Вебинар проведен по инициативе НКП «Якутская лайка»
Присутствовали : Москва, Якутск, Тюмень, Сочи, Харьков, Краснодар

Лектор:
генеральный директор Центра ветеринарной генетики «Зооген»

Антон Владимирович Марков

Записала Е.Раменская

Вопрос:

Каждое сообщество собаководов думает о перспективе развития породы, и одним из направлений, в котором движется сейчас сообщество владельцев собак породы якутская лайка - это создание так называемого генетического профиля (паспорта) породы, или Breed ID.

Что понимается в науке и практике под этим термином, какие технологии применяются для этой цели, каким образом происходит исследование, насколько достоверны результаты и какой опыт есть в России и, в частности, у лаборатории «Зооген» в этом направлении?

Ответ:

Идея типирования пород появилась лет 10 назад и получила, по большому счету, коммерческое распространение, примерно 5-7 лет назад. До этого это было в основном предметом фундаментальной науки, когда получило бурное развитие изучение происхождения пород не по историческим, а по молекулярным данным.

Понятие генетический паспорт чаще всего употребляется в случае типирования по наследственным заболеваниям, сюда может входить типирование по окрасам, по длине шерсти. Но это не будет уникальная особь, можно иметь огромное количество собак, свободных по заболеваниям, с одним окрасом и длиной шерсти. И по генетике, согласно таким тестам, они не будут никак между собой отличаться. Поэтому мы не употребляем термин «генетический паспорт», а пользуемся термином идентификация породы.

При идентификации породы используется набор маркеров, который не несет какой-либо смысловой нагрузки с точки зрения заболеваний или еще чего-либо. Это просто уникальный генетический код, используя который, можно однозначно идентифицировать животное.

Сейчас существует две системы: одна старая, утвердившая себя, используемая в большинстве лабораторий, в частности в тех случаях когда мы говорим об установлении родства - генетическая идентификация животного внутри породы. Между породами её тоже можно применять, эта система уникально

Каждые несколько строчек с набором букв - это часть (!) одной (!) хромосомы собаки с указанием ее породы. Размер гаплоидного генома одной собаки весит 2,4 Гб.

Буквы - это просто буквы, обозначающие один из миллиардов нуклеотидов в ДНК: так же как в книгах из букв собираются слова – из нуклеотидов состоят гены (за счет уникального сочетания букв/нуклеотидов формируются слова/гены).

Для каждой породы устанавливается своя последовательность букв, которая отличает ее от референса. Это такая огромная матрица, для каждой хромосомы прописывается несколько десятков тысяч букв, и соответственно для каждой породы. Таким образом типировуются все породы. Затем происходит идентификация породы/собаки:

Пример идентификации:

ПОРОДЫ

Порода №1 G H R S A P....
Порода №2 G R A S H S....

СОБАК одной породы

Собака №1 C T G A C G T....
Собака №2 C T C T C C A

Между двумя собаками есть определенные буквы, которые не отличаются, а есть не совпадающие буквы. По несовпадающим буквам определять породу нельзя, и сравнивать собак нельзя, потому что это вариации внутри одной породы. Берется достаточно большое количество собак - для того, чтобы исключить такие вариации. Далее выбираются именно те буквы, которые внутри одной породы идентичны. И дальше, уже исходя из этого формируется матрица, характеризующая именно эту породу. И между породами эти буквы уже будут отличаться.

Вопрос:

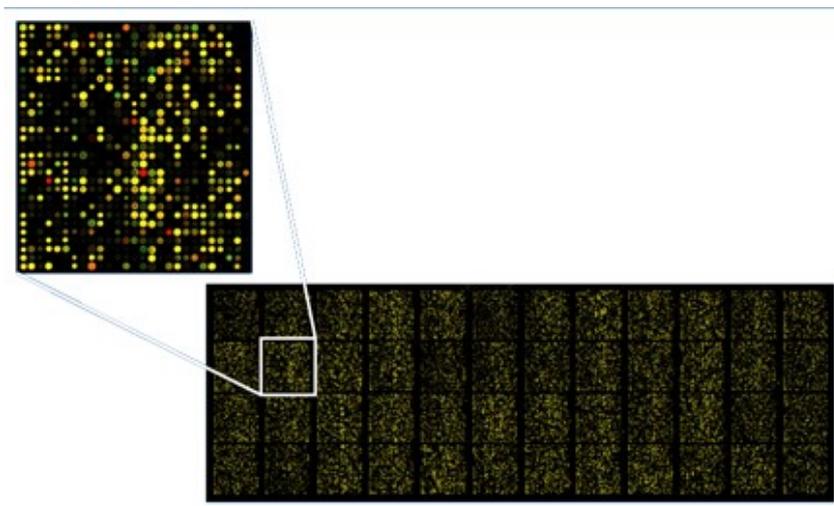
Последовательность букв вычисляется путем секвенирования каждой хромосомы?

Ответ:

Сейчас используется немного другой подход, то есть не полногеномное секвенирование, а компания Illumina упростила задачу, разработав специальные чипы, представляющие собой «лабораторное стеклышко» (6см x 2 см). На этом чипе собран набор точек для идентификации одной собаки, каждая точка - это отдельная буква. По тому, каким цветом эта точка светится, компьютер прочитывает эту последовательность точек и на основании этого выставляет последовательность букв. Это известно, в одних и тех же местах точки анализируются, и ошибок быть не может. На одном чипе может быть проанализировано порядка 20 собак. Таким образом полное геномное секвенирование каждый раз не проводится. Такие же чипы существуют и для

заболеваний, и для окрасов, только у них другая цель и соответственно на них анализируются другие точки. Таким образом, для каждой породы выстраивается определенная последовательность букв.

Чип для идентификации выглядит таким образом:



Технически это довольно сложная процедура. К примеру, геном человека прочитали давно, прочитаны геном собаки, кошки и т.д. Огромное количество геномов прочитано, а толку с этого никакого. Потому что на самом деле обработать, интерпретировать весь геном практически невозможно. Геном живого существа содержит в среднем 4-5 млрд. букв, для наглядности: геном собаки содержит 2,4 млрд. букв - это 3-2 тысячи томов «Войны и мира». Для обработки генома, этого огромного массива информации, сгенерированного секвенатором, нужны большие вычислительные ресурсы, чтоб было понятно - это уровень больших серверных станций. Компания Illumina предоставляет свои ресурсы для обработки с использованием панели компании Mars и разработанных специальных чипов.

В настоящее время одна из используемых панелей - это Wisdom Panel, разработанная Mars Veterinary (Великобритания), и которую предлагает компания Illumina, производитель секвенаторов и наборов для секвенирования, так называемых чипов.

Для идентификации породы необходимо не менее 50, а лучше 300 собак этой породы.

По поводу положения дел в России. У нас такие работы не проводятся. На самом деле геномных секвенаторов в Москве под сотню, в Санкт-Петербурге - около десяти, есть в Новосибирске. В силу дороговизны, они используются для фундаментальных научных целей и, во вторую очередь, для коммерческих целей, в частности, появилось много компаний, предлагающих генетические тесты человека, в основном - на генетическую предрасположенность к заболеваниям. Для животных ни одна компания не предоставляет возможность использования секвенаторов.

Можно использовать ресурсы Illumina для анализа на их платформе, можно приобрести микрочипы, то есть выделенное нами и подготовленное ДНК мы отправляем в эту компанию для анализа, они просчитывают ряд букв числом не менее 20 тысяч, что является достаточным для идентификации породы. Другой вопрос, что потом этот ряд необходимо сравнить с другими породами, для этого существует ресурс Броудеровского института, который, используя свои ресурсы, прогоняет нашу последовательность через известную базу с уже описанными породами.

<https://www.broadinstitute.org/disease-research/dog-snp-canfam-20>

Это, собственно говоря, и будет Breed ID. Эта база выдаст вам результат, что ваша порода похожа на, к примеру, на аляскинского маламута на 40%, на самоеда на 50%, на боксера на 5%. Это нормально, порода никогда не может быть абсолютно уникальна. Она так или иначе по каким-то буквам будет совпадать. При определении чистопородности собак, эта услуга сейчас востребована, возникают вопросы, когда одна собака совпадает по последовательному ряду с породой на 90%, другая на 91%, что одна собака породистой другой. Это не так. Ответ один - это собаки одной породы, и все.

У вас задача совсем другая - вам необходимо получить картину, характерную для вашей породы. Вам нужно в итоге попасть в базу CanFam 2.0 Броудеровского института (ссылка выше), это надо действовать официально, обычный человек не сможет занести породу в базу. Но это все возможно и ваша порода якутская лайка будет внесена в этот длинный список SNP-листов.

Поэтапно:

1. Сбор биоматериала (Зооген) <http://zoogen.org/rus/index.php/yourself-collection/bussal>
2. Выделение ДНК (Зооген)
3. Анализ ДНК с получением последовательного ряда букв (Illumina) либо российская фирма с приобретением чипов Illumina
4. Включение породы в базу CanFam 2.0 (Broad Institute)

В настоящее время в России для собак это не делает никто.
В отношении человека все работает.

Проблемы с приборами нет, есть связи с фирмами, которые смогут это сделать и в России. Есть проблема с покупкой чипов, потому что они дороги. По стоимости сказать в настоящий момент сказать трудно. Вне потоковости (массовости) анализа, в силу индивидуальности работы, это может стоить довольно дорого. Наш центр займется поисками возможностей за рубежом и в России, а также переговорами по стоимости.

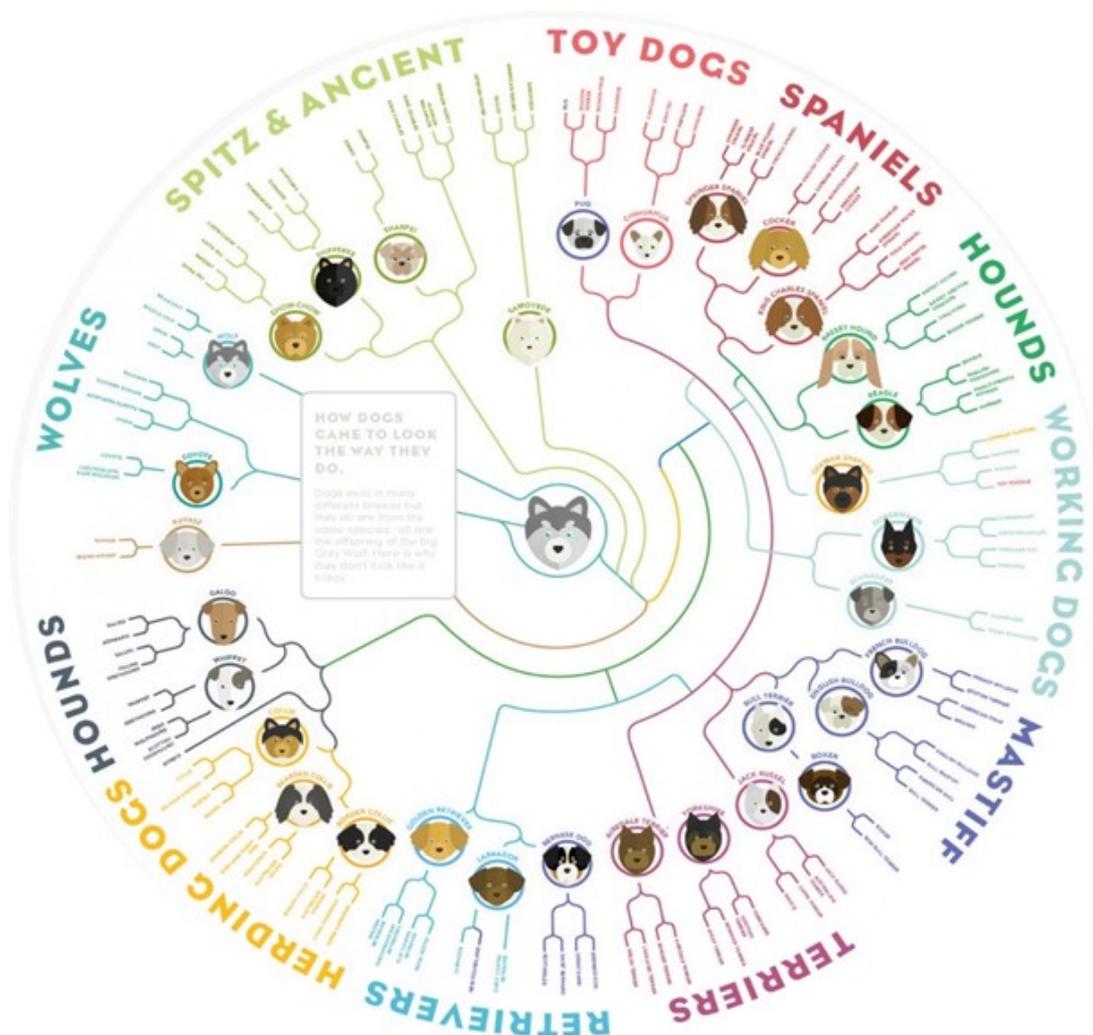
Вопрос:

Для общего понимания наших владельцев, нам следует уточнить следующую ситуацию. Наши португальские друзья сделали генетический тест якутской лайки, который показал наличие 25% самоеда в крови собаки, 75% неизвестных пород,

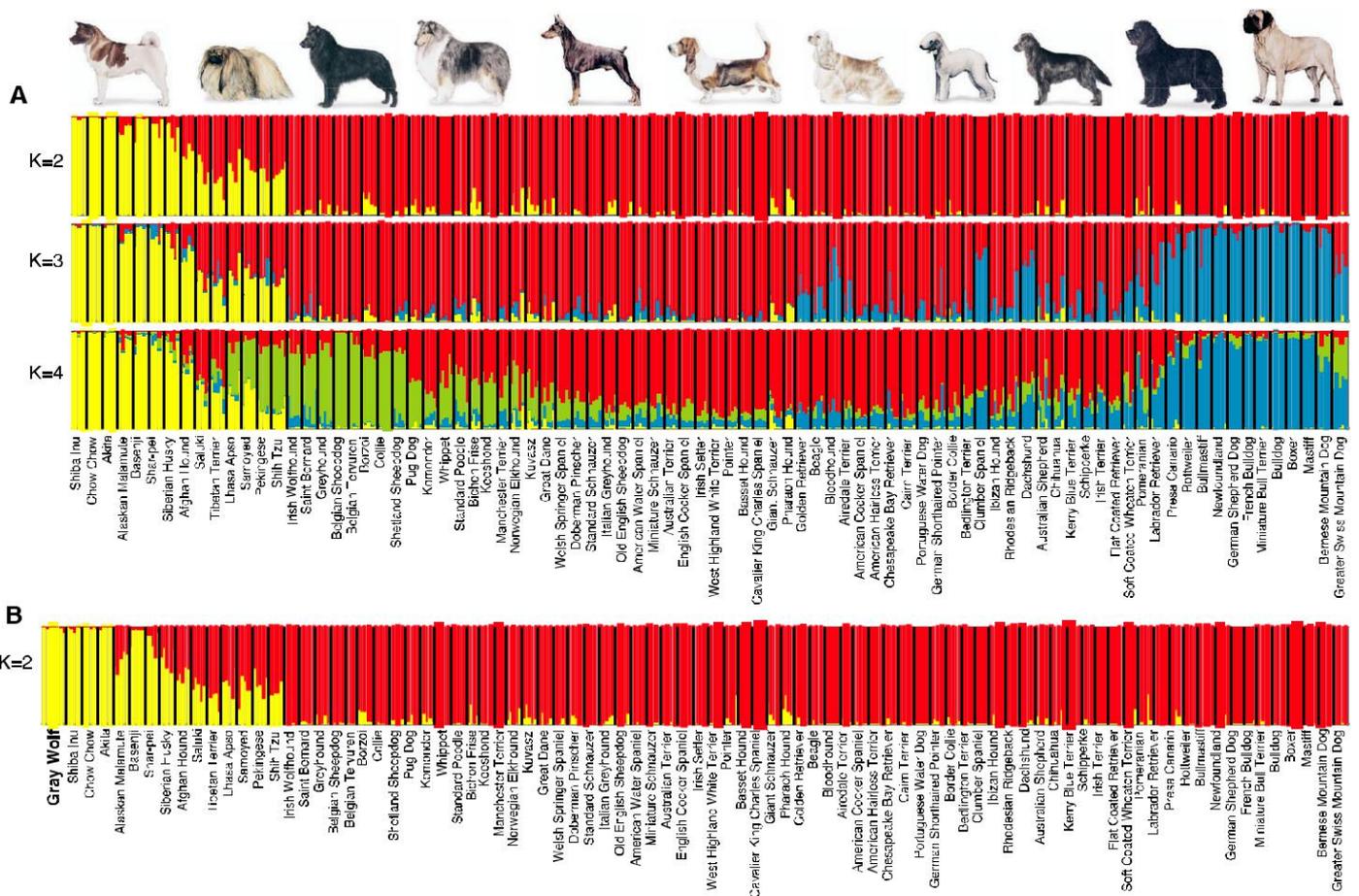
что создало мнение у некоторых владельцев, что в нашу породу подмешали самоедов.

Ответ:

Нижеприведенная картинка иллюстрирует происхождение пород:



Этот тест абсолютно не означает метизацию. То, что анализ показал, что ваша собака на 25% похожа на самоеда, это означает только одно: самоед - это ближайшая порода к вашей, что у вас общий предок. В принципе это даже логически понятно, потому что это все собаки северные, и, скорей всего они произошли от одного общего предка. Собаки произошли от волков, как мы знаем, есть породы, подмешанные с шакалами и койотами, но базовый вид - это волк. В вашем случае это полярный волк, как я предполагаю. Кстати, северные собаки наиболее приближены к генотипу волка:



Желтым цветом определен волк, наиболее приближенными породами к нему, согласно генетическим тестам пород, оказались азиатско-северные породы, а наиболее отдаленными (красный цвет) -европейские собаки бульдог, боксер, немецкая овчарка.

25% - на самом деле это очень хороший показатель, свидетельствующий, во-первых, что ваша порода **отличается** от других пород, вы не принадлежите к какой-либо конкретной породе; и второе, он говорит о том, что ваша собака имеет просто какое-то родство с самоедом.

Такой анализ может ввести в заблуждение неискушенную публику - он не говорит, сколько в вашей собаке намешано пород, он говорит о том, насколько ваша собака похожа на другую - не более того! 2 % пуделя - это не значит, что ваша собака состоит на 2% из пуделя, а просто она похожа на пуделя на 2%. Люди тоже в чем-то похожи друг на друга и мы тоже отличаемся друг от друга на какие-то проценты. В этом состоит коварность Breed ID - он нужен для того чтобы описать породу, показать, что ваши собаки находятся в пределах одной породы - и все. Понятное дело, что если покажет, что 50% лайки и 50% таксы, то скорей всего, это помесь лайки с таксой, но так и не будет никогда. То есть для чистопородной собаки таких значений не будет: всегда будет 80-90% «своей» породы, плюс случайная схожесть с другими. Метизация «ломает» это соотношение очень жестко – именно на уровень 40-50% схожести.

Вопрос:

Мы обсуждали проблему идентификации породы с якутскими генетиками из Якутского университета, они проводят работу по идентификации якутских собак на базе Корейского института. Корейские ученые генетики считают, что аборигенные

северные собаки имеют наиболее древние маркеры, потому что на нашей территории археологи находили и продолжают находить останки собак вместе с мамонтами, то есть очень древние. специалисты нам сказали, что Breed ID и сравнительный анализ достаточно долгая процедура, так ли это?

Ответ:

Нет, сам процесс исследования не долог, это буквально 2 дня. Продолжительность анализа связана только с тем, что происходит накопление проб. На 1 дорогостоящий чип не помещают ДНК одной собаки, это экономически не выгодно. Поэтому надо набрать то, количество материала, чтобы он заполнил весь чип. В остальном, про аборигенность породы – полностью согласен, выше я привел доказательства древности азиатско-северных пород.

Вопрос:

Какие анализы на генетические заболевания можно рекомендовать для нашей породы?

Ответ:

Если окрасы не являются чем-то отдельным для породы, они общие для всех пород, то заболевания всегда породоспецифичны, то есть часто встречающиеся у одной породы. Какие-то заболевания, возникшие давно, распространились на большое количество пород. Те же самые PRA-PRCD (прогрессирующая атрофия сетчатки), DM (дегенеративная миелопатия), лекарственная чувствительность MDR (генная множественная лекарственная устойчивость), злокачественная гипертермия (реакция на наркоз) встречаются практически во всех породах. Оговорюсь, что последние два диагноза не являются заболеванием, это реакция животного на препараты. Не доказав наличие каких-либо мутаций в вашей породе, что-то **рекомендовать бессмысленно**. Стандартный подход к рекомендации таков - либо путем большой массовой выборки найти носителя мутации, то есть, грубо говоря, скринировать всех на всё (всех собак на все заболевания). Этот вариант затратен и результат неизвестен - попадем/не попадем (найдем/не найдем мутацию). Либо (идеальный вариант) найти больное животное с клинически поставленным диагнозом и исследовать именно его, если мы находим мутацию, тогда мы говорим - да, в этой породе встречается это заболевание. Если мы мутацию не находим, то вопрос остается открытым. Технически анализ на какое-либо заболевание проводится тоже на чипах, на которых ставятся точки на эти заболевания, другой вопрос, что из известных заболеваний не описано ни одной - для вашей породы.

Я так подозреваю, что ваши собаки очень здоровые, у меня есть такое подозрение :-)), потому что они эндемичны, их не мешали. Пока мутация не найдена, мы не можем утверждать, что в вашей породе есть то или иное наследственное заболевание. Поэтому ничего конкретного и специфичного мы не можем вам рекомендовать. Если есть желание, можно сделать анализы на известные и широко распространенные заболевания : PRCD, DM - дегенеративная миелопатия, MDR - это древние мутации, которые, повторюсь, встречаются у очень большого количества пород и не исключено, что они есть и в вашей породе. То есть сдав такие анализы, вы с большой вероятностью найдете эти мутации, другой вопрос - каков смысл, если они находятся в большинстве пород?

То, что встречается у самоедов, маламутов и хаски – PRA-XL и, возможно, чисто по родству, имеет смысл проверить ваших собак на PRA-XL. Опять же не

рекомендовать, с точки зрения опасности заболевания, а проверить с целью поиска этой мутации.

Я не сторонник того, чтобы скринировать всех собак на все заболевания.

К примеру, ген PRCD имеет около 15 описанных мутаций (постоянно пополняющийся список), одна из них PRA-XL, встречающаяся у собак, имеющих северное происхождение. Проверив собаку на это заболевание, вы получите, предположим результат, что ваша собака чиста по этой мутации. Не факт, что она не заболеет в последствии атрофией сетчатки, вызванной другой мутацией PRCD, не описанной ранее, просто эта мутация находится в другом месте! Только после выявления мутации у заболевшей собаки можно говорить о встречающемся заболевании в этой породе.

Когда мы проводим генетический анализ имеющей симптомы собаки (желательно с заключением врача), мы делаем это **БЕСПЛАТНО**. Более того, владелец может обратиться к нам анонимно, без указания имен собаки и владельца, если он не хочет афишировать свое обстоятельство.

Вопрос:

Существует ли генетический тест для выявления предрасположенности к отсутствию / потере слуха?

Ответ:

Генетические причины отсутствия / потери слуха у людей гораздо более изучены, чем у других животных, особенно у собак. Для собак основной причиной сейчас является недоразвитость слухового нерва, а также внутреннего уха, вызванная нарушением незаращением нервной трубки во время эмбриогенеза. Визуально это чаще всего проявляется в виде особенностей пигментации: большие белые области на теле и прежде всего на голове. Пигментные клетки являются производными нервных клеток, а после образования нервной трубки эти клетки мигрируют в эпителий кожи и становятся меланоцитами. Если клеткам не удалось попасть в эпителий, есть основания подозревать, что нервная трубка не успела полностью сформироваться, а ухо - последний формирующийся орган, связанный с нервной системой. Несмотря на то, что известно довольно много генов, участвующих в развитии слуха, специфические мутации, влияющие на слух, насколько я знаю, не описаны.

Таким образом, на самом деле основным критерием для собаки, попадающей в группу риска потери слуха, является цвет. Основным диагностическим инструментом здесь является тест Вагн - очень хороший тест, который позволяет объективно понять, слышит ли собака или нет, но не раскрывает причины глухоты.

Вопрос:

Мы с вами начали работу по генетическому анализу окрасов шерсти. Мы рекомендуем всем нашим владельцам сделать анализ на ген А и анализ на ген К, а также длину шерсти. Это необходимо нам для исследования, какие окрасы у нас в породе, как происходит наследование, в этом нам помогает проф. Сотская М.Н., что будет оформлено в отдельную научную работу. Базовые моменты по окрасам попадут в стандарт породы.

Со временем наша порода становится разнообразнее по окрасам. Популяция, привезенная с Севера, изначально была серая, серо-белая. Затем постепенно цвет стал темнеть, появились собаки, преимущественно черные, затем белые собаки (на самом деле зонарные), белые собаки с черными пятнами (крайняя степень пятнистости), и затем появились собаки с крапом, а затем коричневые и рыжие собаки. Когда мы начали изучать документацию о северных собаках (ее оказалось достаточно много за три века), то оказалось, что рыжие окрасы в описании 19 века указывались, но как крайне редкий, нетипичный окрас. А коричневый вообще не упоминался.

Ответ:

Вам надо исключить возможность межпородных вязок, что само собой разумеется. Окрасы могут вылезать также просто в результате инбридинга. Пока собаки жили в своей популяции, и селекция происходила естественным путем, такие окрасы могли просто элиминироваться (растворяться). Вам главное сейчас понять какие окрасы и, когда вы будете знать генетику окрасов, вы спокойно сможете избавиться от лишних окрасов и вывести их просто из породы, это уже не будет для вас составлять проблемы.

ЗАВОДЧИКАМ И ВЛАДЕЛЬЦАМ!

НКП «Якутская лайка» рекомендует сделать следующие анализы на окрасы:

Сбор биоматериала и высылка по почте:

<http://zoogen.org/rus/index.php/yourself-collection/buccal>

Стоимость анализов:

ген А	2000 руб
ген К	1750 руб
на длину	
шерсти	1850 руб

5600 руб - 30%= 3920 руб.

(для получения скидки указать в графе заказчик НКП «Якутская лайка»)

Для попадания в ПУЛ ГЕНОФОНДА якутской лайки следует сдать хотя бы один анализ, тогда ДНК вашей собаки будет храниться в базе лаборатории Центра «Зооген»

Запись и редактирование:

Елена Раменская.
член президиума НКП «Якутская лайка»