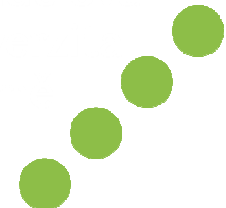


Kurzu genetiky a molekulární
biologie pro učitele středních škol



Biotechnologie ve šlechtění zvířat

*Doc. Ing. Tomáš Urban, Ph.D.
Ústav morfologie, fyziologie a genetiky zvířat
AF MENDELU
urban@mendelu.cz*



Historie živočišných biotechnologií

- Tradiční šlechtitelské techniky před 5000 př.n.l.
 - Křížení rozdílných populací (hybridizace) k vytvoření větší genetické variability a následně selekcí zlepšovat žádoucí vlastnosti
 - Např. křížením kobyly s oslem -> mula, a hřebce s oslicí -> mezek, jako pracovní zvířata
- Moderní éra biotechnologií - 1953 (objev struktury DNA – Watson a Crick)
- 60. léta - objev restričních enzymů
- 1974 – rekombinantní DNA technologie (genetické inženýrství)



- Transgenoze (rekombinantní DNA) – vnášení cizích genů -> produkce lidských proteinů ve vejcích, mléce, krvi...
- Klonování (reprodukční technika)
- Genový knockout (inaktivace specifického genu)
- Xenotransplantace
- Etické a náboženské problémy



Šlechtění zvířat

- ~ umělá evoluce populací pod kontrolou člověka
- Selektce, hybridizace, inbreeding
- Kvalitativní znaky – minimálně významné
- Kvantitativní (komplexní) vlastnosti
 - -> nutnost analýz fenotypové variability v populacích, v kterých jsou známy příbuzenské vztahy
 - -> **cíl** -> odhad **genetických parametrů** – genetická variance, heritabilita, opakovatelnost, genetické korelace
 - -> **využití genetických parametrů** v rovnicích (Animal model) při odhadech **plemenné hodnoty** potenciálních rodičů další generace
- Nelze jinak než aplikovat statistické analýzy!!! ☹



Šlechtění zvířat vychází z těchto hypotéz:

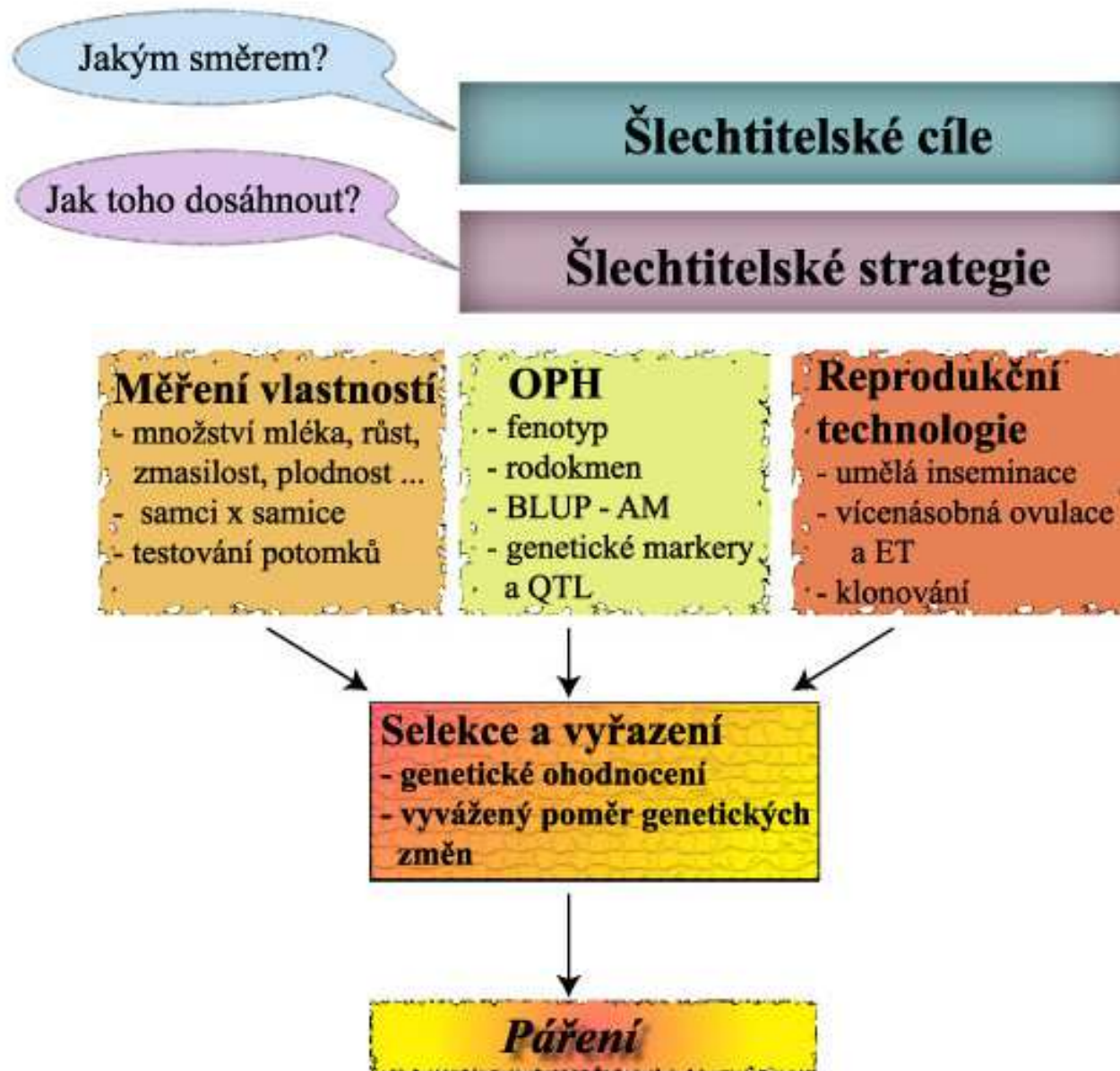


- Primární podmínka pro šlechtění je ...
- Předmětem není jedinec, ale populace.
- Většina užitkových vlastností je determinována polygeny – kvantitativní vlastnosti (i když se již mapují i QTL – geny většího účinku).
- Nepřenášejí se z generace na generaci genotypy, ale geny pomocí gamet, jejichž spojením se vytváří nové genotypy u generace potomků.
- Fenotyp kvantitativních vlastností je také modifikován vlivy prostředí ($P = G + E$)



Ro

í



Genetika a šlechtění

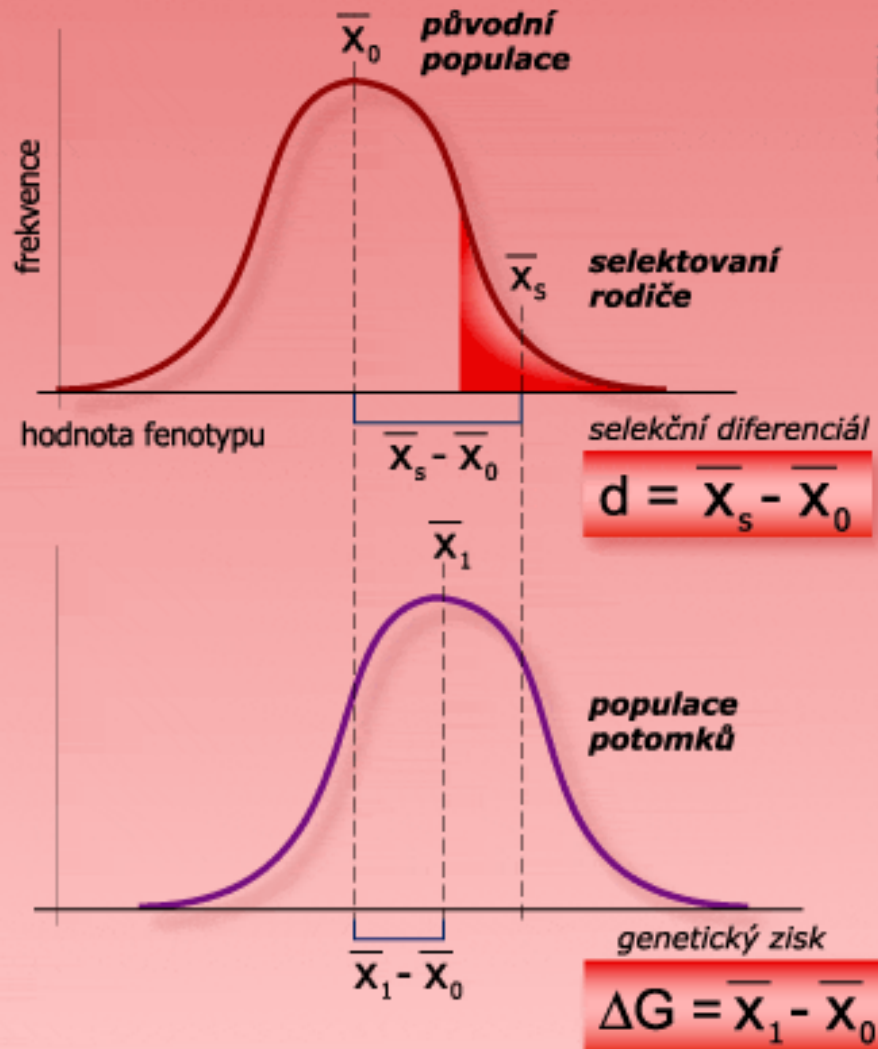
- Většina ekonomicky významných vlastností u HZ jsou kvantitativní vlastnosti
 - U jedince platí: $P = G + E$
 - U populace platí: $V_P = V_G + V_E$
 - heritabilita (dědivost) $h^2 = V_G / (V_G + V_E)$ $h^2 = \frac{\sigma_G^2}{\sigma_P^2} = \frac{\sigma_G^2}{\sigma_G^2 + \sigma_E^2}$
 - (x dědičnost)
- Klasickým šlechtěním se pomalu ale kumulativně mění průměrná hodnota vlastnosti
- Dnes nastupuje éra využívání skutečně detekované genetické variability -> MAS, genomická selekce
- Genetická selekce na fenotypové vlastnosti není nic jiného, než vybírání rozdílných kombinací alel
- ALE pořád se jedná o kvantitativní znaky!!! $P = G + E$

Šlechtěn zvířat vychází z těchto hypotéz:

- Předmětem není jedinec, ale populace.
- Většina užitkových vlastností je determinována polygeny – kvantitativní vlastnosti.
- Fenotyp kvantitativních vlastností je modifikován vlivy prostředí.
- Výše hodnot genetického zlepšování a její odraz v ekonomické účinnosti závisí na:
 - Genetickém založení vlastností
 - Odhadu plemenné hodnoty jedinců a populací (genotypová hodnota)
 - Přesnost definování šlechtitelského cíle
 - Optimální využití populace a zvířat s vysokou PH



Realizovaná heritabilita



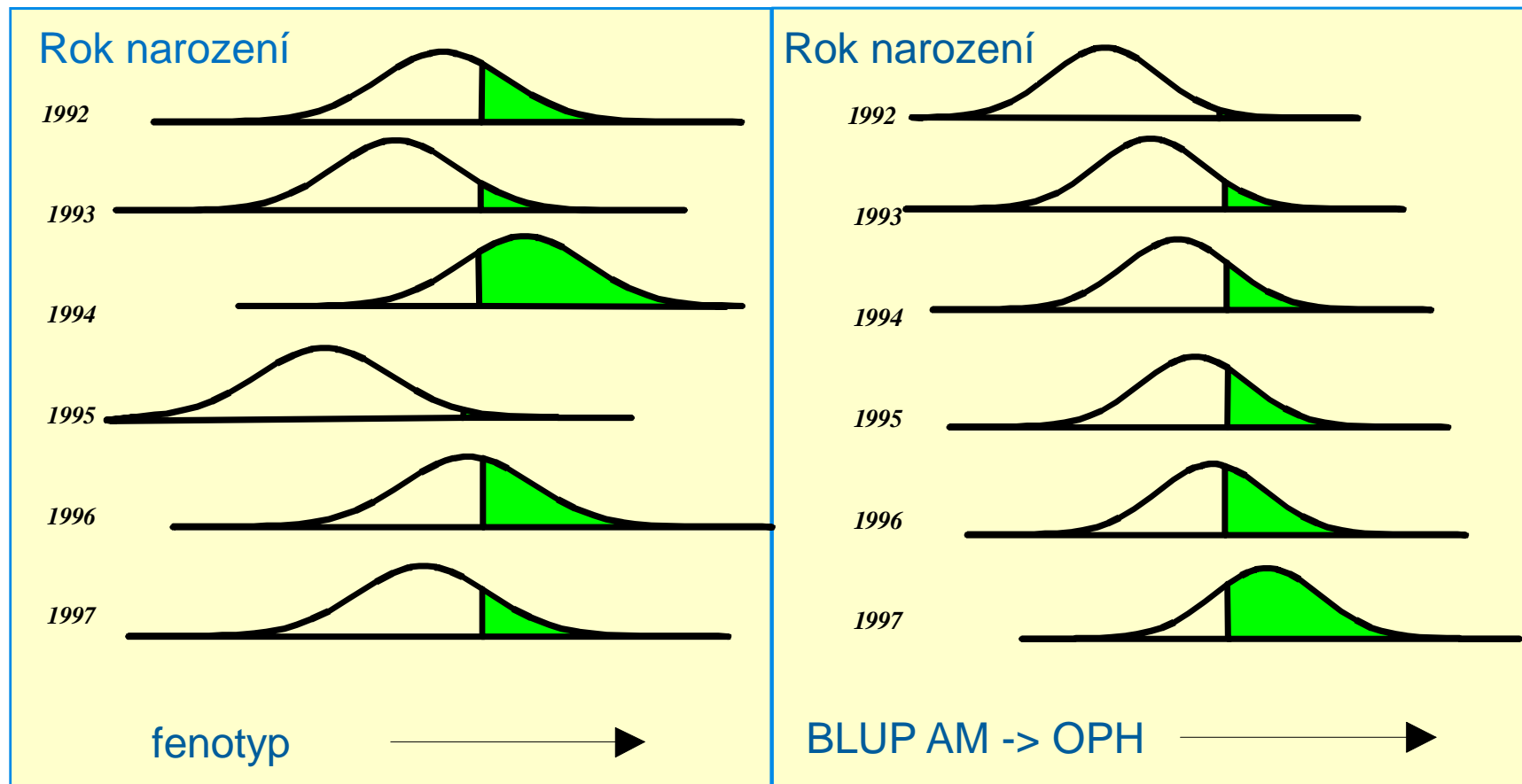
$$\Delta G = d \cdot h^2$$

$$h^2 = \frac{\bar{X}_1 - \bar{X}_0}{\bar{X}_s - \bar{X}_0} = \frac{\Delta G}{d} = \frac{\text{genetický zisk}}{\text{selekční diferencíál}}$$

System genetického hodnocení pomáhá při navrhování šlechtitelských programů.

Selekce na fenotyp

Selekce na OPH



Praxe ve šlechtění zvířat

■ Tradiční šlechtění

- Záznamy užitkových vlastností
- Rodokmenová data (matice příbuznosti)
- Výpočet odhadu plemenné hodnoty (OPH)
 - $OPH = h^2 (y_i - \mu)$
- Selektce rodičů dle OPH
- Genetická variabilita odhadována pomocí fenotypové variability a příbuznosti - h^2)

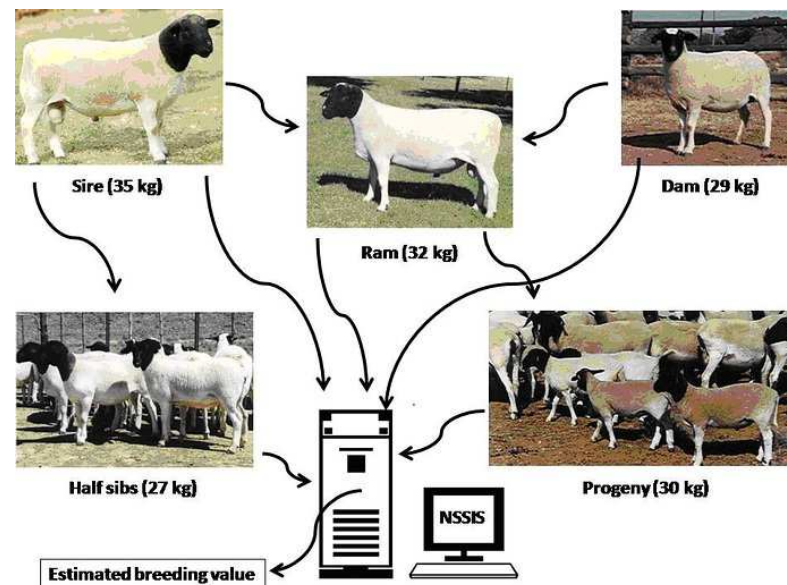
■ Nové metody

- MAS – jednotlivé genetické markery
- Genomická selektce – genomické markery
 - Výpočet odhadu genomické plemenné hodnoty (GEPH) a selektce rodičů dle GEPH
 - Genetická variabilita určována pomocí tisíců SNP markerů (DNA chipy)



- Plemenná hodnota – hodnota genů zvířete, které jsou předány jeho potomkům
 - (součet efektů všech jeho genů pro danou vlastnost)

- Plemenná hodnota – pravděpodobnost, že potomstvo bude vykazovat dobré genetické založení



PH odhadnutá BLUP

- Pro předpověď plemenné hodnoty (PH) se dnes téměř celosvětově používá metoda BLUP (best – nejlepší, linear – lineární, unbiased – nevychýlená, prediction – předpověď) (Henderson, 1975), která umožňuje současnou předpověď PH i odhad pevných efektů (~ prostředí)
- Obecný lineární model zahrnující pevné a náhodné efekty používaný pro předpověď PH (Mrode, 2005):

Zobecněný lineární model

vektor pozorování (fenotypů)

vektor pevných efektů, který se odhaduje (vlivy prostředí)

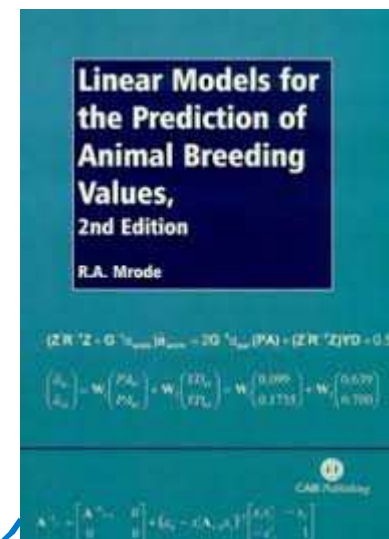
incidenční matice pro pevné efekty

incidenční matice pro náhodné efekty

vektor reziduálních chyb (náhodné efekty)

vektor náhodných efektů, který se odhaduje (individuální genetická hodnota ~ plemenná hodnota)

$$\mathbf{y} = \mathbf{Xb} + \mathbf{Za} + \mathbf{e}$$



- Soustava rovnic pro víceznakový model

$$\begin{bmatrix} \mathbf{X}'\mathbf{R}^{-1}\mathbf{X} & \mathbf{X}'\mathbf{R}^{-1}\mathbf{Z} \\ \mathbf{Z}'\mathbf{R}^{-1}\mathbf{X} & \mathbf{Z}'\mathbf{R}^{-1}\mathbf{Z} + \mathbf{M}^{-1} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \hat{\mathbf{b}} \\ \hat{\mathbf{a}} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \mathbf{X}'\mathbf{R}^{-1}\mathbf{y} \\ \mathbf{Z}'\mathbf{R}^{-1}\mathbf{y} \end{bmatrix}$$

$$\mathbf{M} = \mathbf{G} \otimes \mathbf{A}$$

- \mathbf{G} je variančně-kovarianční matice náhodných (genetických) efektů,
- \mathbf{A} je matice příbuznosti

- V případě jednoznakového modelu

$$\begin{bmatrix} \mathbf{X}'\mathbf{X} & \mathbf{X}'\mathbf{Z} \\ \mathbf{Z}'\mathbf{X} & \mathbf{Z}'\mathbf{Z} + \mathbf{A}^{-1}\alpha \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \hat{\mathbf{b}} \\ \hat{\mathbf{a}} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \mathbf{X}'\mathbf{y} \\ \mathbf{Z}'\mathbf{y} \end{bmatrix} \quad \alpha = \sigma_e^2 / \sigma_a^2$$

- modelová rovnice (maticový zápis):

$$\mathbf{y} = \mathbf{Xb} + \mathbf{Zu} + \mathbf{e}$$

- soustava normálních rovnic

(Henderson, 1950)

$$\begin{bmatrix} \mathbf{X}'\mathbf{R}^{-1}\mathbf{X} & \mathbf{X}'\mathbf{R}^{-1}\mathbf{Z} \\ \mathbf{Z}'\mathbf{R}^{-1}\mathbf{X} & \mathbf{Z}'\mathbf{R}^{-1}\mathbf{Z} + \mathbf{H} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \mathbf{b} \\ \mathbf{u} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \mathbf{X}'\mathbf{R}^{-1}\mathbf{y} \\ \mathbf{Z}'\mathbf{R}^{-1}\mathbf{y} \end{bmatrix}$$

LS
PS

T

$$\mathbf{LS} \cdot \mathbf{T} = \mathbf{PS}$$

$$\mathbf{T} = \mathbf{LS}^{-1} \cdot \mathbf{PS}$$

Př.

BLUP AM:

$$y_{ijkl} = \mu + S_i + L_j + g_k + e_{ijkl}$$
$$y = Xb + Zu + e$$

y_{ijkl}	[~ y]	- naměřená užitkovost
μ	[~ X]	- populační průměr
S_i, L_j	[~ b]	- stádo a laktace- působení chovatele na zvířata, na jejich užitkovost
g_k	[~ u]	- efekt jedince (genetický) – ten chceme určit - PH !
e_{ijkl}	[~ e]	- reziduum

jedince	stádo	laktace	užitkovost
1	1	1	4500
2*	1	1	5000
3	1	2	6500
4	2	2	8000
5*	2	1	7000

pořadí	kráva	OPH	užitkovost
1	5	+62	7000
2	3	+53	6500
3	2	+47	5000
4	4	-53	8000
5	1	-88	4500

1. stádo: 5472 kg 2. stádo: 7352 kg

1. laktace: - 574,4 kg 2. laktace: + 861,6 kg

PH jedinců (krav):

1. -88 kg

2. 47 kg

3. 53 kg

4. -53 kg

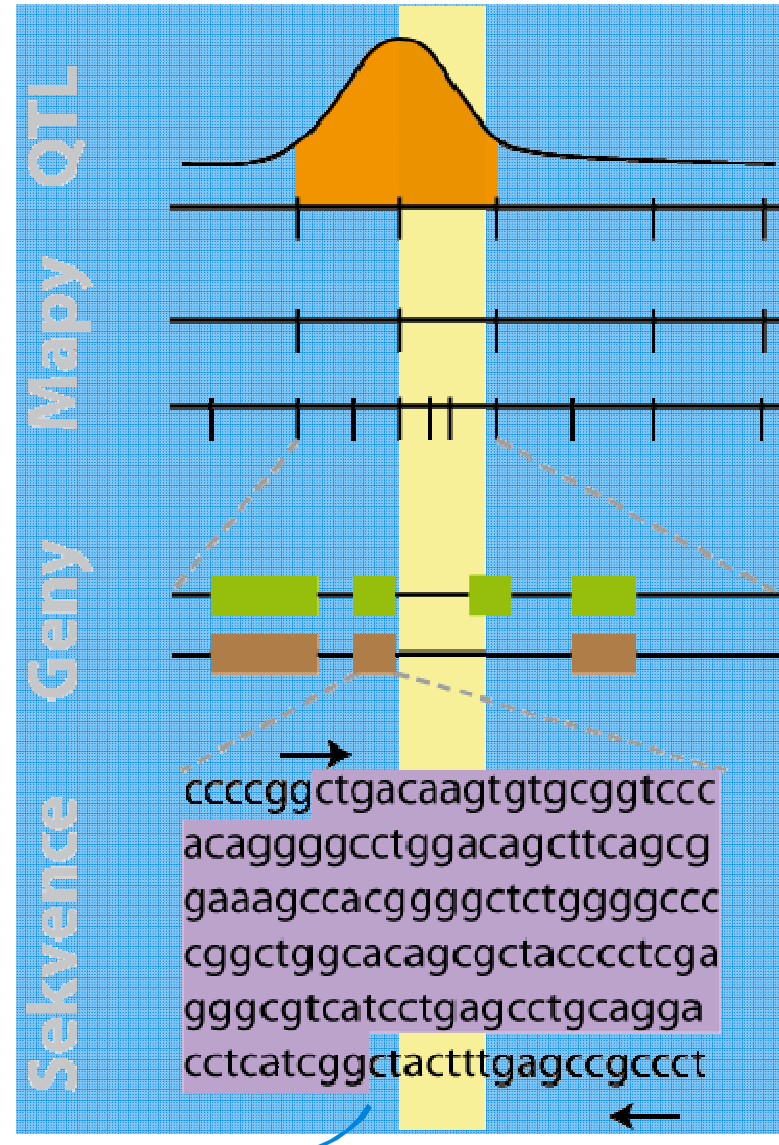
5. 62 kg

PH otce: 44 kg mléka

pořadí 5 → 3 → 2 → 4 → 1

Nové biotechnologie ve šlechtění

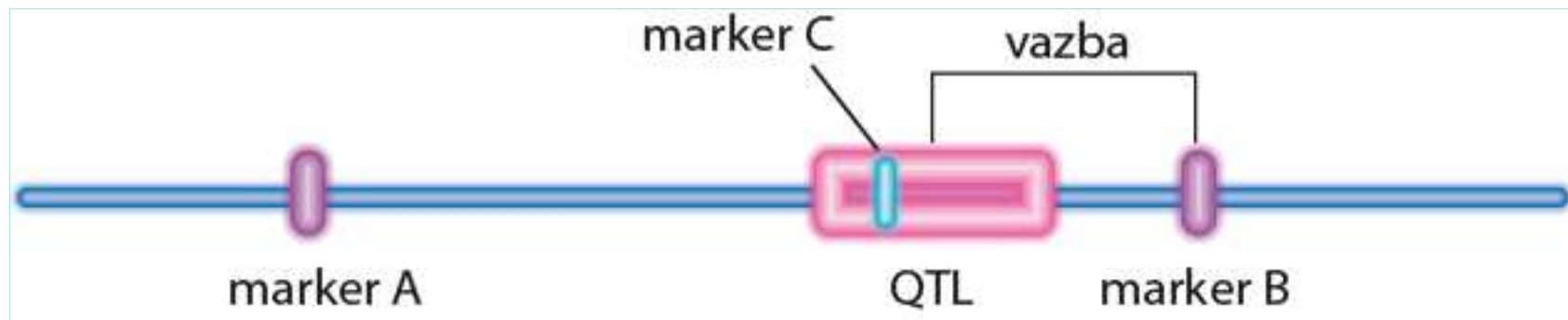
- **Quantitative Trait Loci (QTL)** jsou hypotetické specifické oblasti na chromozomu, které obsahují geny, přispívající na expresi **komplexní (kvantitativní) vlastnosti**.
- QTL jsou identifikovatelné pomocí porovnání asociací **polymorfních molekulárních markerů** s fenotypovými vlastnostmi.
- Konečným cílem disekce komplexních vlastností je **identifikovat geny (QTN)** zapojené do vývoje vlastnosti a porozumět jejich roli v buňce a organismu.
- **Správnost a přesnost lokalizace QTL** závisí z části na hustotě vytvářených vazbových map. Čím větší hustota markerů v mapě, tím větší přesnost lokalizace domnělého QTL.



Genetické markery

- Genetický marker (GM):** polymorfní znak, jehož varianty vykazují mendelistickou dědičnost a mohou být v asociaci s variabilitou znaku důležitou pro šlechtění (příp. mapování)
- DNES: Mutace v DNA, která je detekovatelná molekulárně genetickou metodou!!!

Marker přímý (příčinný gen) a nepřímý (ve vazbě s neznámým příčinným genem)



Genetické markery

- **I. typ** - kódující geny
- **II. typ** - mikrosatelity (MS), krátké tandemové sekvence bází (STR₁) – hlavně v intergenových oblastech
- **III typ** - bi-alelický jednonukleotidový polymorfismus (SNP) v kódujících nebo častěji v nekódujících intronových či intergenových oblastech (po celém genomu)

```
...ccccggctgacaagtgtgCgggtccacagg...  
...ggggccgactgttcacacGccagggtgtcc...
```

```
...ccccggctgacaagtgtgAgggtccacagg...  
...ggggccgactgttcacacTccagggtgtcc...
```

↑
SNP

~ genetická
variabilita

Mikrosatelity

Vysoce polymorfní \Rightarrow různé alely (5-20),
délkové polymorfizmy

Např. $(GC)_n$ $n = 5-25$ opakování

5'ATCGGTATCATTGCGCGCGCGCGCGCGCTACGTTAATTC 3' $n=8$

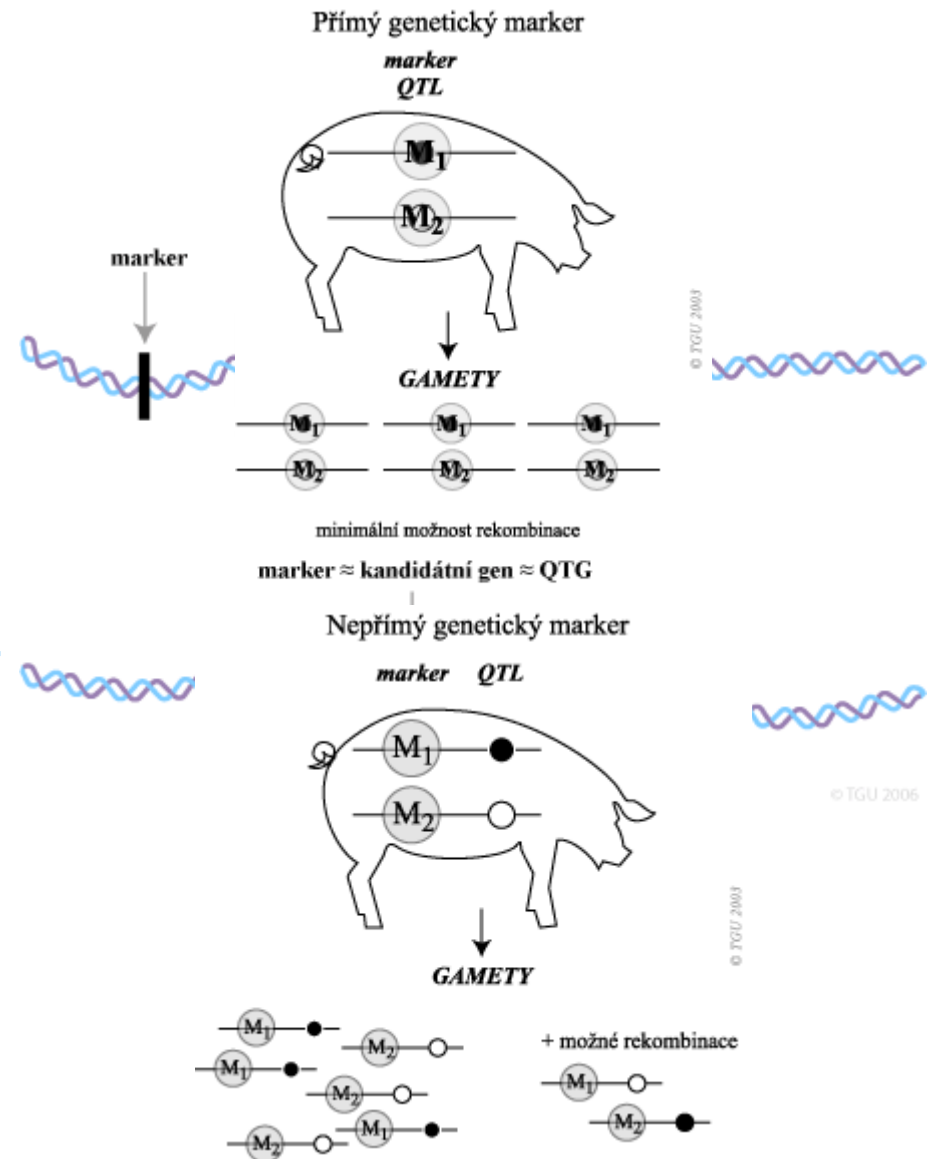
5'ATCGGTATCATTGCGCGCGCGCTACGTTAATTC 3' $n=5$

5'ATCGGTATCATTGCGCGCGCGCGCGCGCGCGCTACGTTAATTC 3' $n=11$



Typy genetických markerů

- I. typu - kandidátní geny ~ **přímé markery**. Kandidátní geny mohou být charakterisovány dvěma typy polymorfismů:
 - Funkční markery (Funkcional marker), což je vlastní příčinná mutace
 - Přímé markery (Direct marker), což je polymorfismus DNA přímo v sekvenci genu
- II. typu – markery ve vazbě s QTL ~ **nepřímé markery**
 - LD markery - jsou s QTL ve vazbové nerovnováze (linkage disequilibrium markers)
 - LE markery - jsou s QTL ve vazbové rovnováze (linkage equilibrium markers)

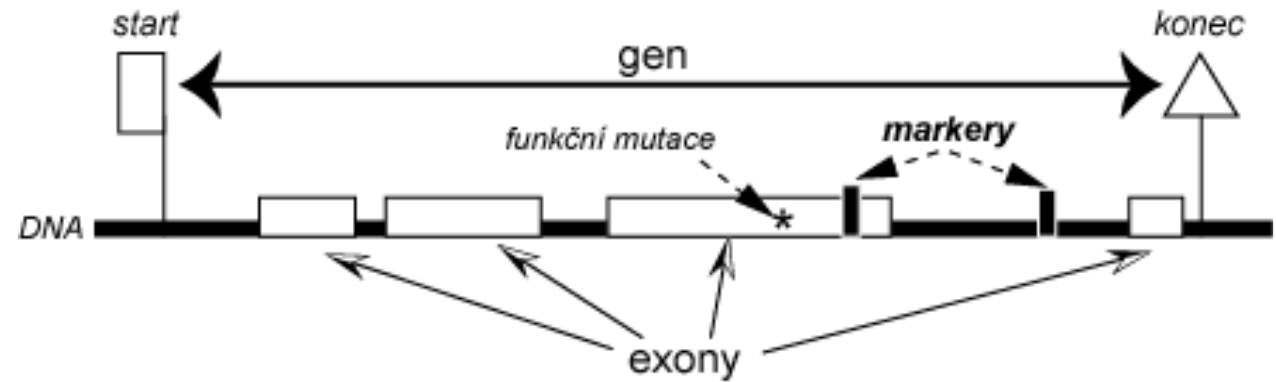


Markery a QTL

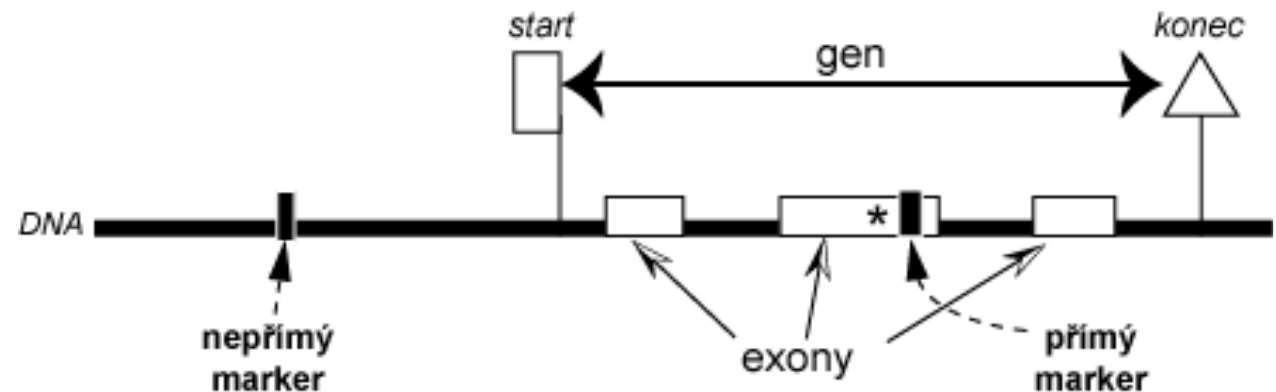
QTL - lokus pro kvantitativní znak (místo na chromozomu, které je asociované s variabilitou příslušného kvant. znaku)

QTL nemůžeme ho přímo testovat, ale využívají se GM

Genetické markery a jejich umístění



Mutace, která zapříčiňuje vliv určitého typu genu v bloku QTL (např. RYR1 gen)

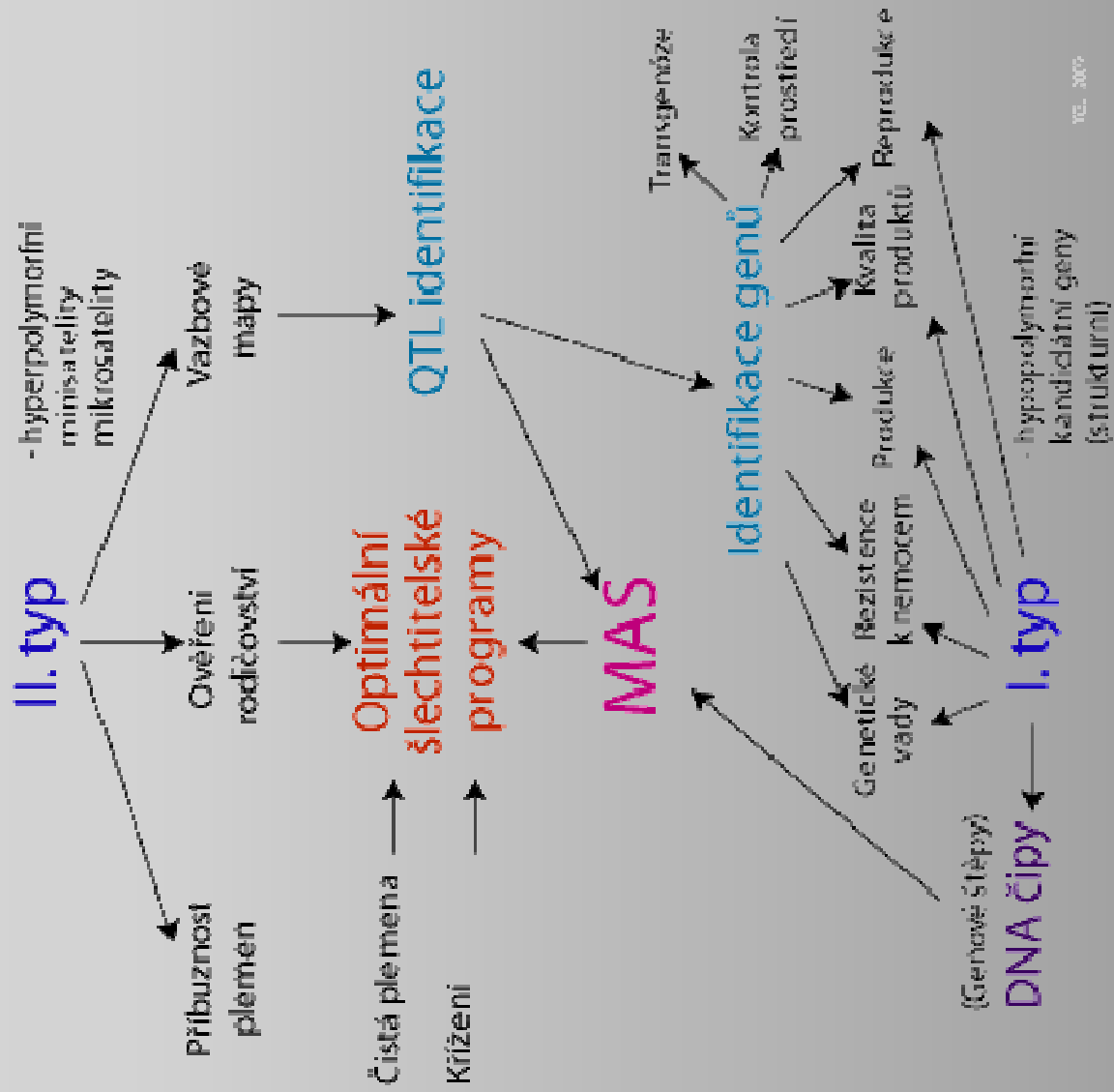


Marker velmi blízko, nebo uvnitř genu (vazbová nerovnováha s funkční mutací)



Marker blízko genu (vazbová nerovnováha mezi markerem a funkční mutací je neúplná)

Využití DNA markerů ve šlechtění hospodářských zvířat



Výsledky studií strukturální genomiky :

- tisíce oblastí QTL (quantitative trait loci) u různých produkčních vlastností:

- 7091 – skot
- 8402 – prase
- 3808 – kur
- 789 – ovce

<http://www.animalgenome.org/>

- spíše menší počet funkčních polymorfizmů ovlivňujících produkční vlastnosti – **QTN (quantitative trait nucleotide)**:

- myostatin, *GDF8* (skotz, ovce, pes)
- *RYR1* (prase)
- *DGAT1* (skot)
- *IGF2* (prase)
- *atd.*

Genomická charakteristika – skotu

www.animalgenome.org/cgi-bin/QTLdb/index

Animal **QTLdb**

Druh	Chromozomy 2n	Typ chr.	C-hodnota* (pg)	Zmapovaných QTL	Počty genů#
Skot Bos taurus	60	Akrocentrické X a Y metacen.	3,43 – 3,93	11543	1558
Ovce Ovis aries	54	3 metacen. 23 akrocen.	2,34 – 3,50	789	370
Koza Capra hircus	60	akrocentrické	3,24	731	271

- C-hodnota ~ množství DNA / haploidní buňku (pikogramy: 1pg ~ 1G bp)

(The 'virtual sheep genome' project has mapped 98 per cent of the sheep's genetic make-up. CSIRO, Monday, November 13, 2006)

Ovce: Centromerické fúze chromozomů 1/3, 2/8 a 5/11





Cattle QTL

There are **11,543** QTLs from **505** publications curated into the database. Those QTLs represent **481** different traits (see [data summary](#) for details).



Chicken QTL

There are **4,337** QTLs from **209** publications curated into the database. Those QTLs represent **305** different traits (see [data summary](#) for details).



Horse QTL NEW

There are **345** QTLs from **16** publications curated into the database. Those QTLs represent **9** different traits (see [data summary](#) for details).



Pig QTL

There are **11,610** QTLs from **433** publications curated into the database. Those QTLs represent **649** different traits (see [data summary](#) for details).



Rainbow Trout QTL

There are **127** QTLs from **10** publications curated into the database. Those QTLs represent **14** different traits (see [data summary](#) for most recent updates).



Sheep QTL

There are **789** QTLs from **90** publications curated into the database. Those QTLs represent **217** different traits (see [data summary](#) for most recent updates).



Osekvenování genomu skotu

- Zimin et al. (2009) A whole-genome assembly of the domestic cow, *Bos taurus*. *Genome Biology* 2009, 10:R42
 - Our assembly of the *B. taurus* genome contains 2,857,605,192 bp, of which 2,612,820,649 bp are placed on one of the 30 chromosomes
 - University of Maryland assembly of *B. taurus*, release 2 (UMD2)

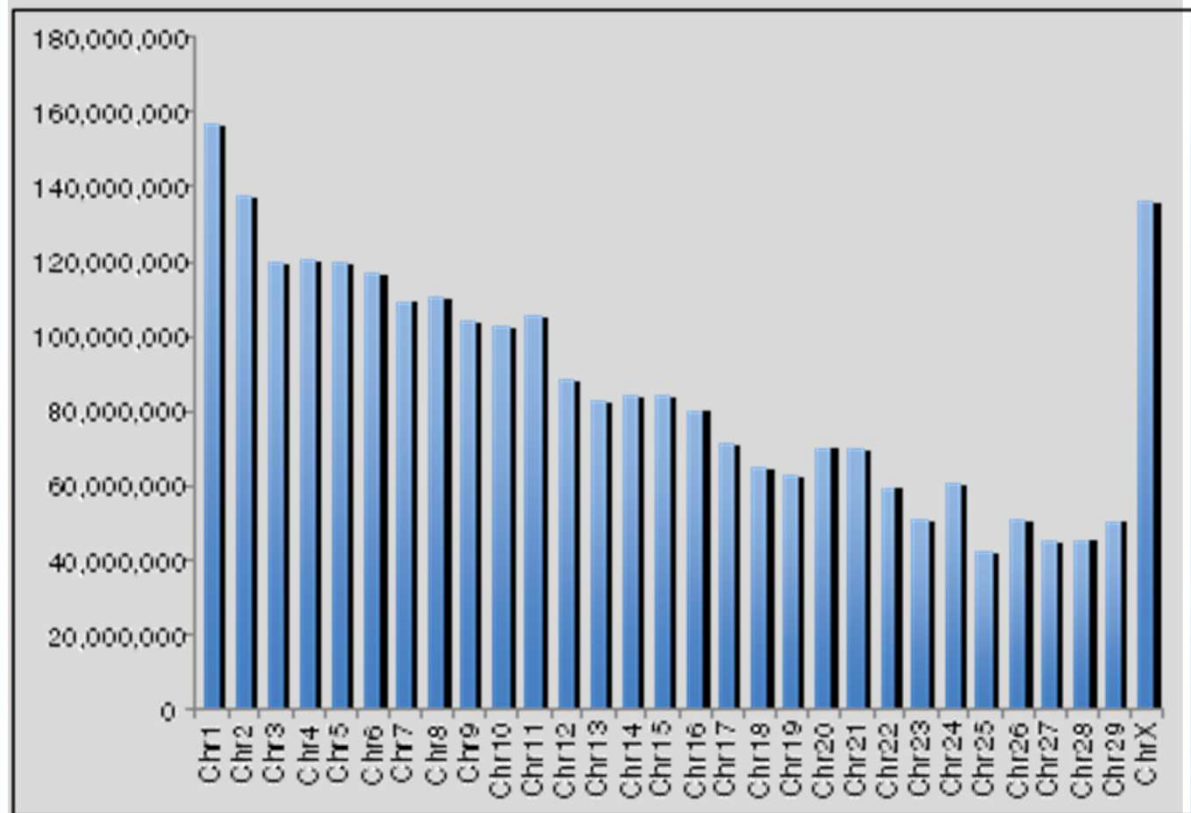


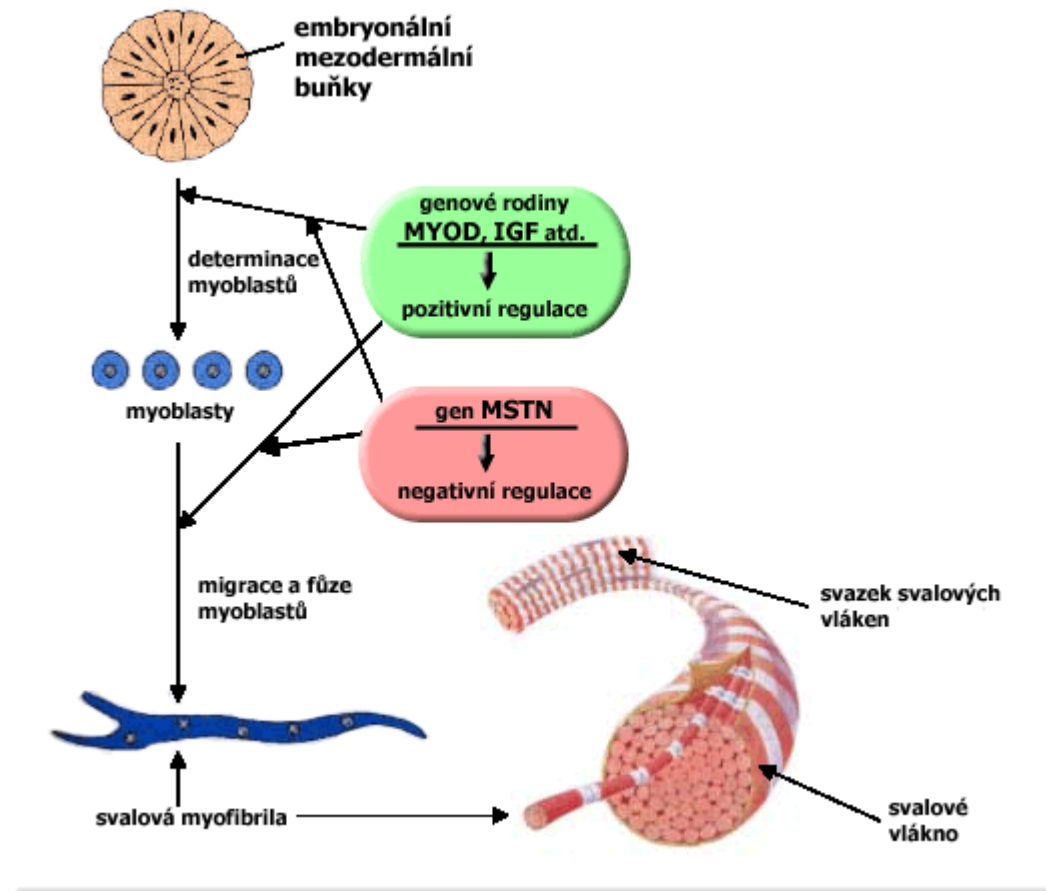
Figure 1

Chromosome (Chr) lengths (in base pairs) based on amount of sequence in the *B. taurus* assembly placed on each chromosome.

TOP 15 vlastností s QTL skotu

Traits	Number of QTL
Milk protein yield (daughter deviation)	461
Milk fat yield (daughter deviation)	435
Milk yield (daughter deviation)	423
Milk protein percentage	337
Residual feed intake	330
Average Daily Gain	288
Body weight (birth)	271
Milk protein percentage (daughter deviation)	269
Milk fat percentage	262
Milk fat percentage (daughter deviation)	249
Carcass weight	248
Milk yield	248
Longissimus muscle area	227
Fat thickness at the 12th rib	214
Gestation length	186

Geny zmasilosti u skotu



MYOD rodina

- Myf3 (MYOD1 - 15. chr.), Myf5 (5. chr.) – determinace myoblastů
- Myogenin (Myf4 – 16. chr.) – spojování myoblastů do vícejaderných myofibril

IGF rodina (inzulínu podobné růstové faktory)

- IGF1 (5. chr.), IGF2 (29. chr.) – vliv na myogenezi

Myostatin – MSTN (GDF8) (2. chr.) – blokuje buněčné dělení, blokuje vliv myogeninu (negativní regulace) > zamezuje tvorbě myofibril v embryonálním stádiu

Vznik dvojitého osvalení skotu

- Gen MYOSTATIN (*MSTN* – **BTA 2**) – protein (člen velké rodiny molekul transforming growth factors beta (TGF- β), někdy jako growth and differentiation factor-8 (**GDF-8**))
 - blokuje vliv myogeninu a tím zamezuje tvorbě dalších myoblastů, myofibril a svalových vláken
- MUTACE *MSTN* = ztráta funkce blokády = větší množství svalových buněk, fibril a vláken
 - Vznik DVOJITÉHO OSVALENÍ u skotu Belgického modro-bílého plemene, jeho systematické šlechtění od roku 1807, podmíněné genotypy recesivních homozygotů
- Výsledek dvojité osvalení =
 - 20 % - 43 % nárůst svalové hmoty
 - 50 % redukce lipidů
 - lepší konverze krmiva
 - větší hřebenové svaly na lopatce (svíčková)



Kvalita?

➤ **delece 11 bazí DNA ve 3. exonu (937 – 947)** > mutovaný protein kratší o 89 AMK a posledních 11 AMK má jiný smysl > Belgické Modré > hypertrofie a hyperplazie svalových vláken a zvýšení svalové hmoty

- **Hyperplazie** = zvětšení orgánu způsobené zvýšením počtu svalových vláken
- **Hypertrofie** = zvětšení orgánu způsobené zvětšením velikosti individuálních svalových vláken

- 20 – 25% nárůst svalové hmoty, 50% redukce lipidů (IMT), lepší konverze krmiva
- snížení velikosti vnitřních orgánů, snížení plodnosti u samic, oddálení pohlavní dospělosti, nižší životaschopnost potomků

➤ Piedmontese

- **C -> A** v 1. exonu > substituce Leu za Phe
- **G -> A** v 3. exonu > substituce Cys za Tyr

➤ Bodová mutace C > T - plemena Charolais, Piemont, Manie –Anjou, Limusine (další 2 mutace) ~ recesivní homozygoti = vyšší zmasilost

➤ popsáno více mutací > ztrátu funkce myostatinu > svalová hyperplazie

Genomická charakteristika - prase

Animal **QTLdb**

Druh	Chromozomy 2n	Typ chr.	C-hodnota* (pg)	Zmapovaných lokusů	Počty genů
------	------------------	----------	--------------------	-----------------------	---------------

Pras

e
*Sus
scrofa
domestica*

38

Metacentrické,
submetacentri.
akrocentrické

2,95 –
3,51

11610

1588



~~§
Divoké prase: 2n = 36 (střední Asie a západní Evropa),
ostatní populace mají 37 a 38
- Robertsonovy translokace 15;17 (asijská prasata
16;17)~~

- C-hodnota ~ množství DNA / haploidní buňku (pikogramy: 1pg ~ 1G bp)

wellcome trust sanger institute

Information Projects Other Services

Porcine Genome Sequencing Project

The genome of the pig (*Sus scrofa*) comprises 18 autosomes, with X and Y sex chromosomes. The genome size is similar to that of human and is estimated at 2.7Gb. There is extensive conserved homology with the human genome. The pig is a member of the artiodactyls, (cloven-hoofed mammal), which are an evolutionary clade distinct from the primates and rodents. It is an important model for human health particularly for understanding complex traits such as obesity and cardiovascular disease. The funding for the clone based sequencing project at the Wellcome Trust Sanger Institute runs to 31.12.09. In the time remaining we anticipate further refinement to the fingerprint map and sequence coverage of >90% of the genome.

Physical Mapping Project

- [clone mapping overview](#)
- [end sequencing overview](#)
- [pig map in Pre-Ensembl](#)

Genome Sequencing Project

- [clone sequencing overview](#)
- [pig sequence in Ensembl](#)

Current Sequencing Status

12-Apr-2011	Unfinished	Finished	Total
<i>Sus scrofa</i>	2,809,751,587	197,717,896	3,007,469,483

TOP 15 vlastností s QTL u prasat

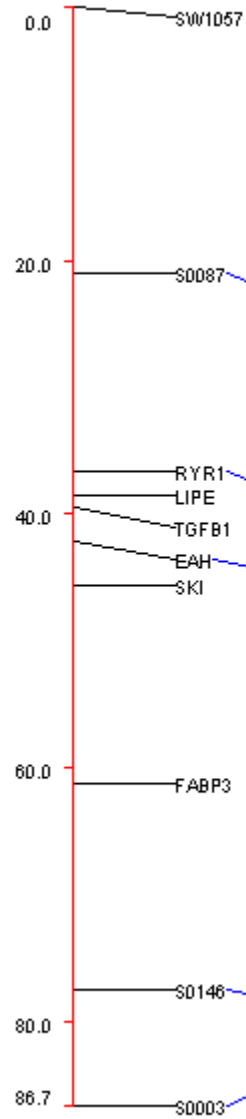
Traits	Number of QTL
Drip loss	1,022
Average daily gain	312
Loin muscle area	258
Hematocrit	238
Average backfat thickness	225
Backfat at last rib	203
Mean corpuscular volume	203
Red blood cell count	201
Age at puberty	175
Shear force	175
Intramuscular fat content	156
Backfat at tenth rib	155
Backfat at rump	147
Carcass length	139
Total number born	138
....

KG pro produkci vepř. masa

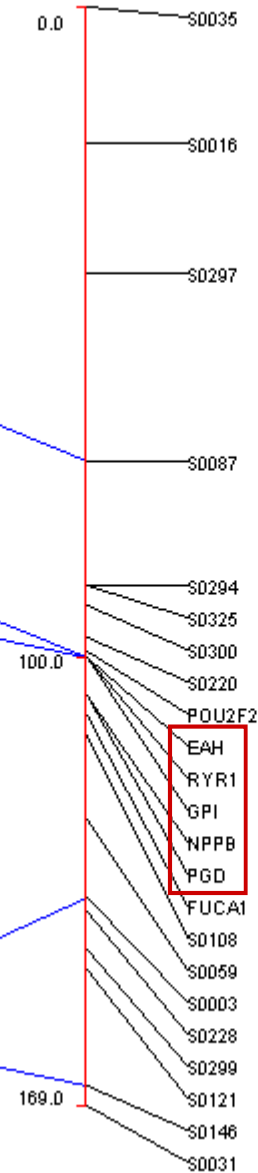
Kvantitativní znak	Kandidátní gen
% libové svaloviny, PSE maso	<i>HAL</i> , <i>RYR1</i> , <i>CRC</i>
	MHS > QTG > <i>CRC</i> (6. chr.)
stres	<i>CRC</i> + <i>HSP70</i> (2. chr.) + <i>c-myc</i> (4. chr.)
kapacita tvorby svalové hmoty	<i>MYOD</i> rodina, <i>Myod1</i> (2. chr.), <i>Myf4</i> (9. chr.), <i>Myf5</i> (5. chr.), <i>Myf6</i> (5. chr.)
hmotnost při narození	<i>POU1F1</i>
ukazatele JOT	<i>IGF1</i> , <i>IGF2</i> (maternální imprinting)
přírůstek	<i>GH</i> (12. chr.), <i>GHR</i> (16. chr.)
množství tuku	<i>LEP</i> (18. chr.), <i>LEPR</i> , <i>MC4R</i> (6. chr.)
% IMT	<i>H-FABP</i> (6. chr.)
využití krmiva a přírůstek	<i>CCK</i> (12. chr.), <i>IGF1</i> (5. chr.), <i>IGF2</i> (12. chr.)

Geny 6. chromozomu prasete

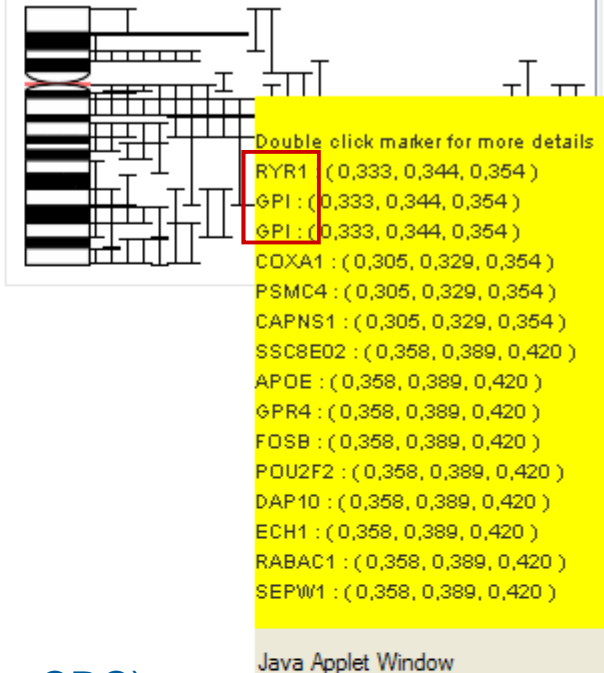
Map Name: Kopečný, M et al 2004
Sex: A, Species: Pig, Chromosome: 6



Map Name: PiGMaP v1
Sex: A, Species: Pig, Chromosome: 6



Map Name: Cytogenetic Map
Sex: N/A, Species: Pig, Chromosome: 6



RYR1 (HAL, CRC)

GPI – glikozofosfát izomeráza

AB1G – sérový postalbumin

PGD – 6 fosfoglukonát dehydrogenáza

EAH – erytrocytární entigen H

> vazbová skupina 8 – 10 cM

Fujii,J., Otsu,K., Zorzato,F., de Leon,S., Khanna,V.K., Weiler,J.E., O'Brien,P.J. and MacLennan,D.H.
Identification of a mutation in porcine ryanodine receptor associated with malignant hyperthermia.
Science, 253 (5018), 448-451 (1991)

- translation=,,

...EEAAESWKEIVNLLYEILASLIRGNRANCALFSNNLDWLVS
KLDRLASSGILEVLYCVLIESPEVLNIIQENHIKSIISLLD
KHGRNHKVLVDVLCVLCVNGVAVR^RSNQDLITENLLPGRELL
LQTNLINYVTSIRPNIFVGRAEGTTQYSKWFYFEVMVDEVVVPF
LTAQATHL..."

– pozice 615 R (Arg) > C (Cys)



cDNA sekvence ~ mRNA (U > T)

ORIGIN

```
1   ccccgcgggt gcctctgggg ttcccagagg tctccgacce cagccgcccc cggccccgcc
61  gcccgcccag cctgcggccc cctcctccta ttccctgacc tcagccccgg ctctctggggc
121 ctcgacatca a tgggtgacgg aggagagggc gaagatgagg tccagtttct gcggacagac
```

...

```
1681 attgtgaacc tgctgtatga gatcctggcc tctctgatcc gtggcaatcg tgccaactgt
1741 gcccttttct ccaacaactt ggattggctg gtcagcaagc tggatcgact ggaggcctcc
1801 tcagggatcc tggaggtgct gtactgtgtc ctgattgaga gtcctgaggt cctgaacatc
1861 atccaggaga accacatcaa gtccatcatc tcccttctgg acaagcatgg gaggaaccac
1921 aagggtgctgg atgtcctgtg ttccctgtgt gtgtgcaatg gtgtggccgt gCgctccaac
1981 caagatctca ttactgagaa cttgctgcct ggccgcgagc ttctgctgca gacaaacctc
2041 atcaactatg tcaccagcat ccgccccaac atctttgtgg gccgagcaga gggcaccaca
```

...

```
15241 acccccagct ggccccgcac ccccacctca agtgccttgt tttcacagca agccccttag
15301 ccccccaaac cctcccccca aggcagctag gggagaggtg accatgcagt ggagaaataa
15361 agtctgtgct acaccct
```

atg ~ aug ~ iniciační kodon

15 378 bp

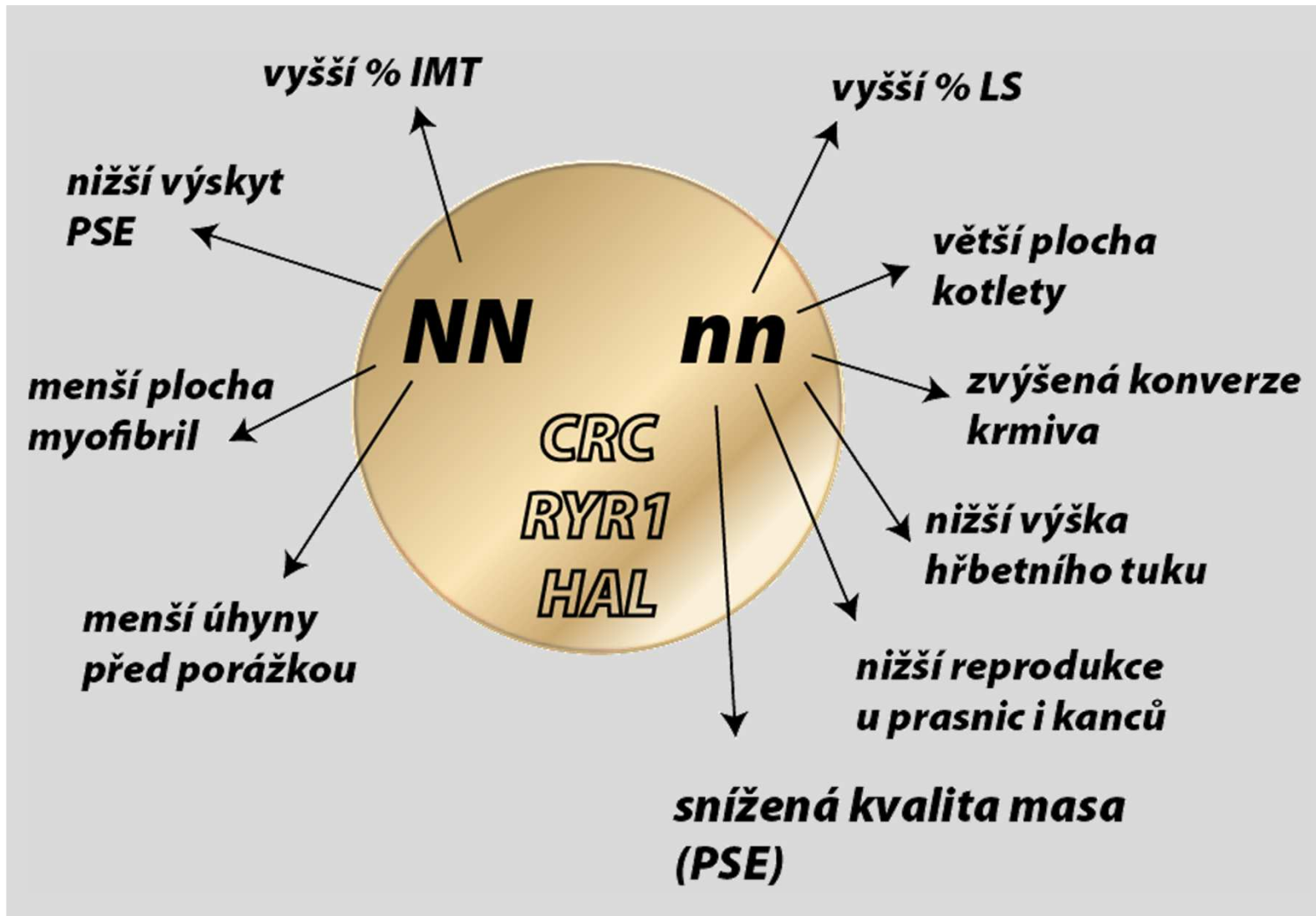
cgc ~ kodon pro Arg ~ dominantní alela *N*

5036 AMK

tgc ~ kodon pro Cys ~ recesivní alela *n*



Efekty genotypů CRC

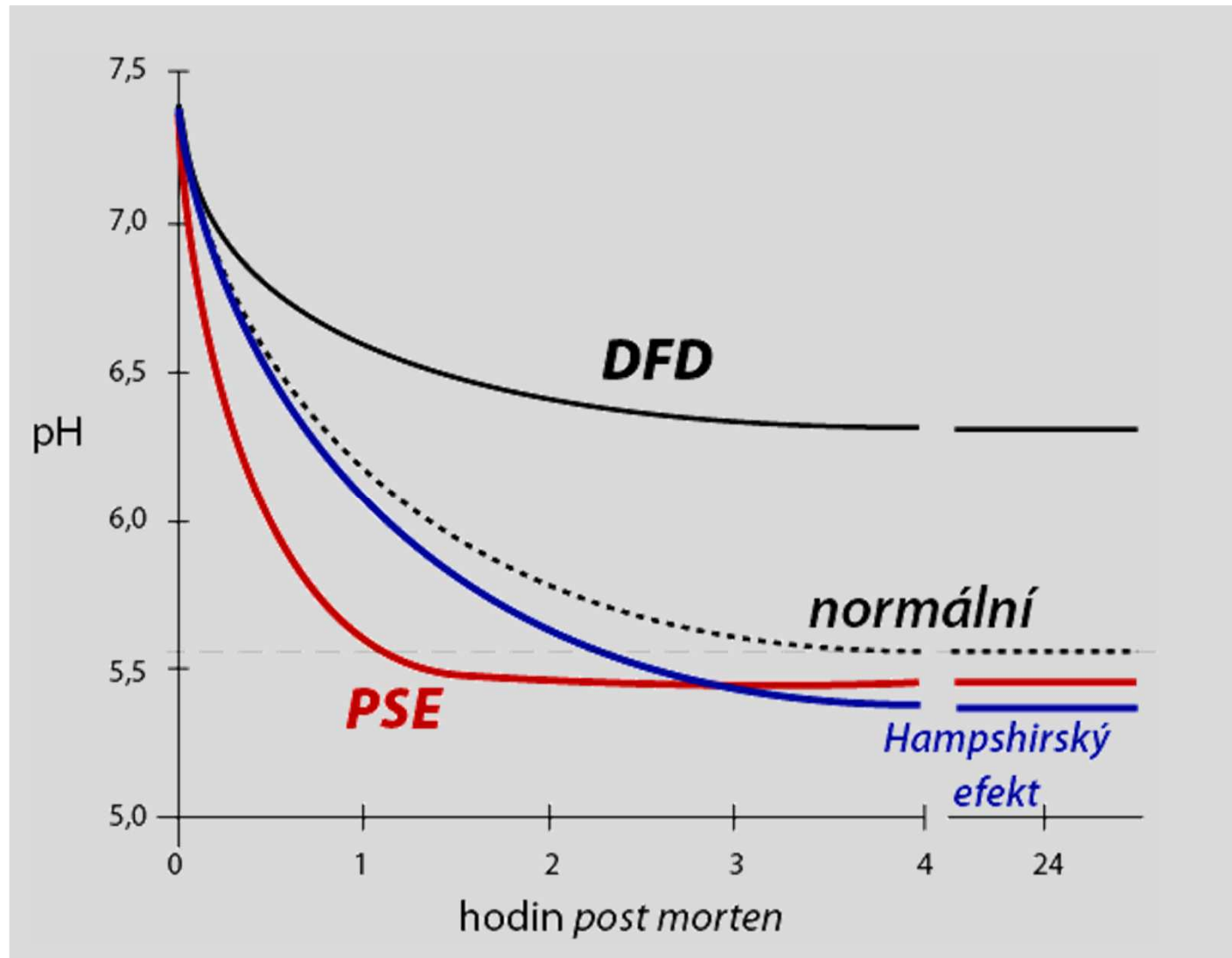


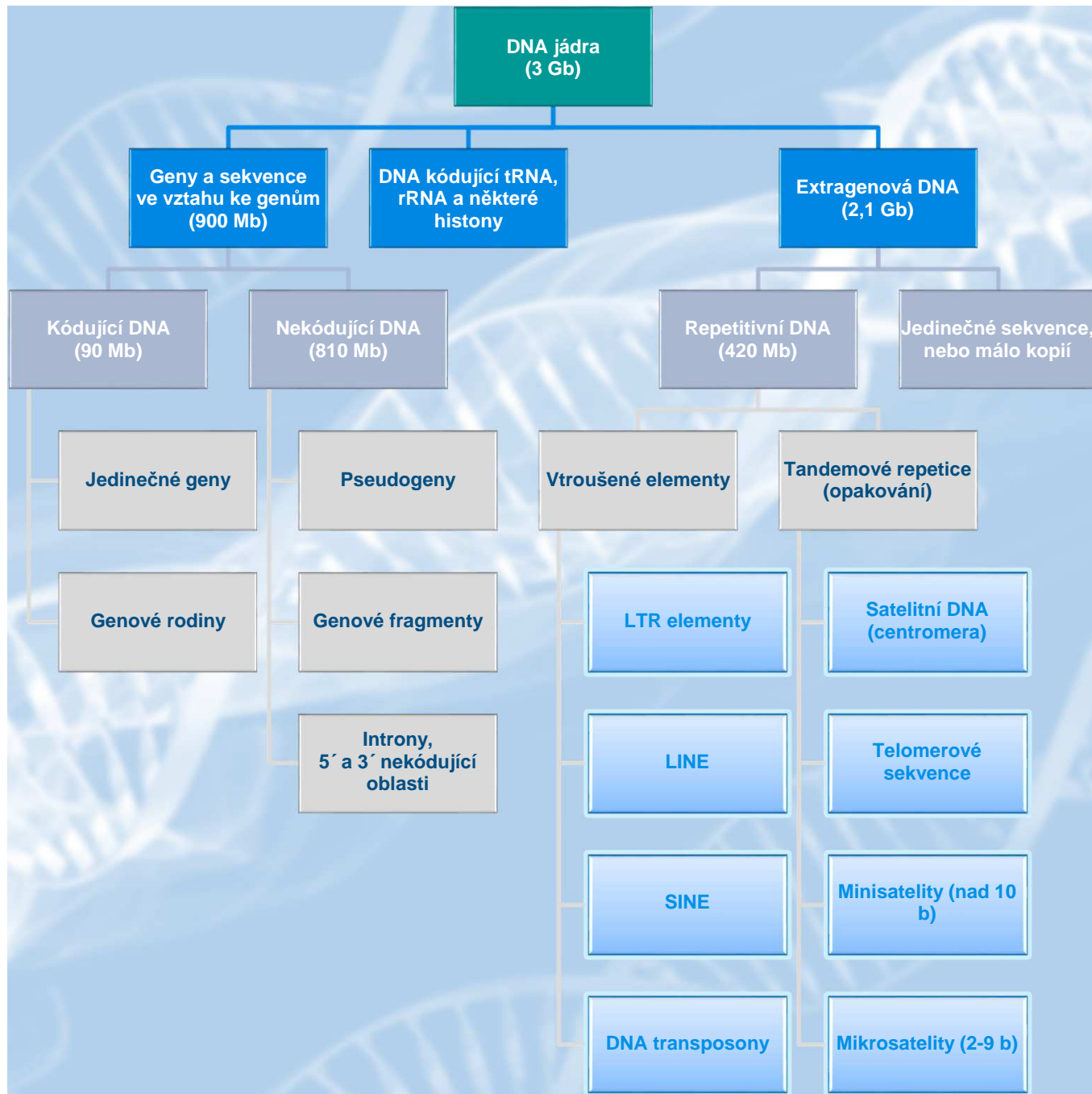
RN gen – hampshirský efekt

- Gen *PRKAG3* – γ podjednotka AMP aktivované proteinázy (15. chromozom)
 - mutace R200Q
- Důsledky ***RN*** alely
 - zvýšený obsah glykogenu
 - Horší technologické vlastnosti (5 – 6% ztráta při výrobě šunky)
 - Nižší konečné pH masa ~ kyselé maso



PSE maso





Some of the animals whose genomes are being or have been sequenced:



Platypus
Ornithorhynchus anatinus



Dog
Canis familiaris
Photo: Courtesy of The Broad Institute of MIT and Harvard



African elephant
Loxodonta africana



Fruitfly
Drosophila melanogaster



Silkworm
Bombyx mori Daza
Photo: Alden M. Johnson,
California Academy of Sciences



Cow
Bos taurus
Photo: Courtesy of Terri Hobbs
(www.crazyforcoous.com)



European rabbit
Oryctolagus cuniculus



Honey Bee
Apis mellifera
Photo: Courtesy of Scott Bauer,
USDA/ARS Laboratories



Armadillo
Dasypus novemcinctus
Photo: Courtesy of B. Bagatto,
Department of Biology,
University of Akron



Guinea pig
Cavia porcellus



Roundworm
Caenorhabditis elegans
Photo: Courtesy of Erik Jorgensen,
University of Utah



Zebrafish
Danio rerio



Mouse
Mus musculus
Photo: Courtesy of Jackson
Laboratories



Chicken
Gallus gallus



Opossum
Monodelphis domestica
Photo: Courtesy of Don
Sakaguchi



Cat
Felis domesticus
Photo: Courtesy of Dr.
Kristina Narfstrom,
University of
Missouri-Columbia

Náklady na sekvenování 1 Mb DNA

- 2001: 5,292.39 \$
- 2003: 2,230.98 \$
- 2005: 766.73 \$
- 2007: 397.09 \$
- 2009: 0.78 \$
- 2011: 0.19 \$

- Zdroj: NHGRI



MAS vs. GS

- Genomická selekce je vyústěním MAS. Oproti MAS je při genomické selekci zahrnut podstatně větší počet markerů a nebývá zahrnut polygenní efekt.
- Předpokládá se, že vysoký počet hustě rozmístěných markerů napříč genomem vysvětlí celou genetickou proměnlivost.

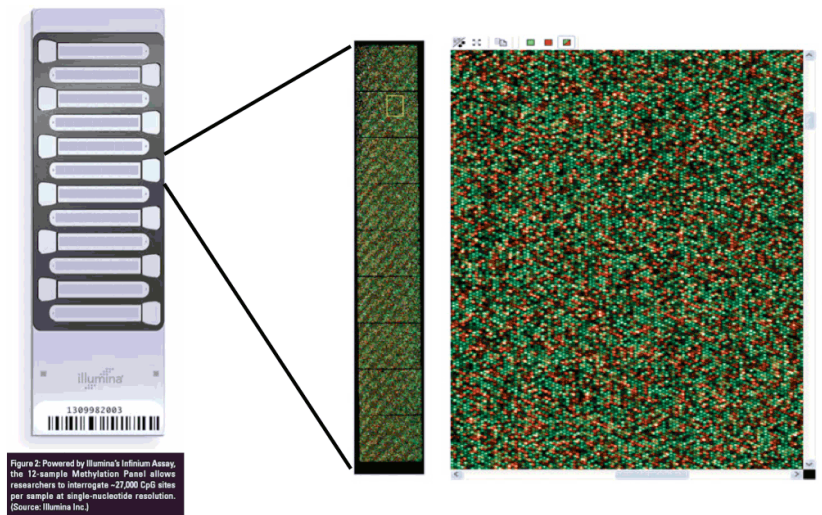
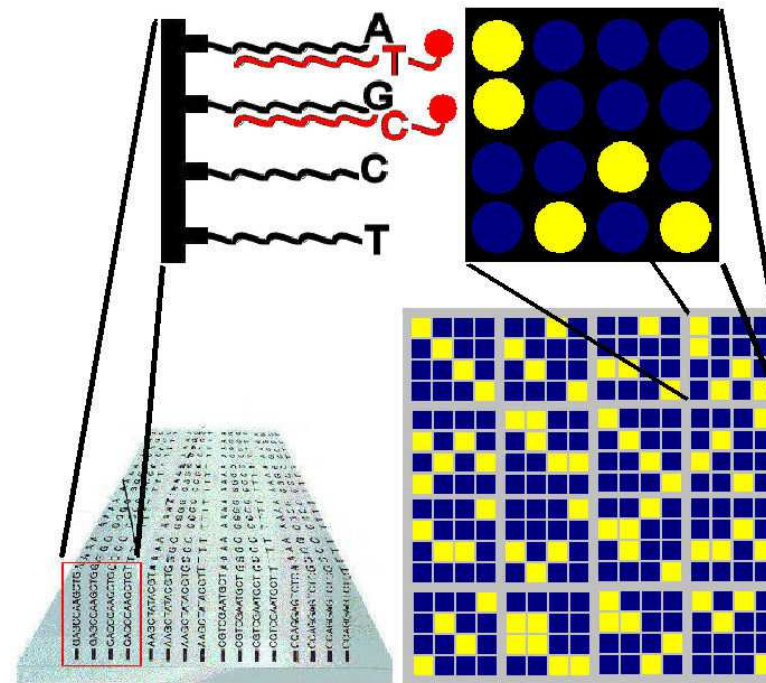


Genomická selekce

- **Genomická selekce** je forma MAS, v které genetické markery (v počtu tisíců) pokrývající celý genom a všechny QTL jsou ve vazbové nerovnováze s nejméně jedním markerem (SNP - single nucleotide polymorphisms).
- To je možné díky využívání velkého počtu SNP popsanych při **genomovém sekvenování** a nových metod genotypování velkého počtu SNP (**DNA microarray**)
- Vytvíjí se metody odhadu PH z genomických dat (genomická PH) – matematické modely

SNP Chipy

- Chip je malý kousek plastu či sklíčka na jehož povrchu jsou stovky či tisíce malých bodů – ssDNA proba (oligonukleotid)
- Každý bod koresponduje s krátkou sekvencí DNA s SNP – hybridizace -> identifikace mnoho tisíc SNP u jedince
- Různé firmy vytváří SNP chipy - Illumina
 - 50 000 SNP, 50K SNP chip, ale pouze asi 40 000 jsou využitelné pro konkrétní populaci z důvodu variability -> v intervalu cca každých 70 tis. bp



PorcineSNP60 Genotyping BeadChip

More than 62,000 SNPs that deliver the densest coverage available for the porcine genome

Figure 1: PorcineSNP60 BeadChip



The PorcineSNP60 BeadChip features more than 62,000 evenly spaced SNPs across the entire porcine genome.

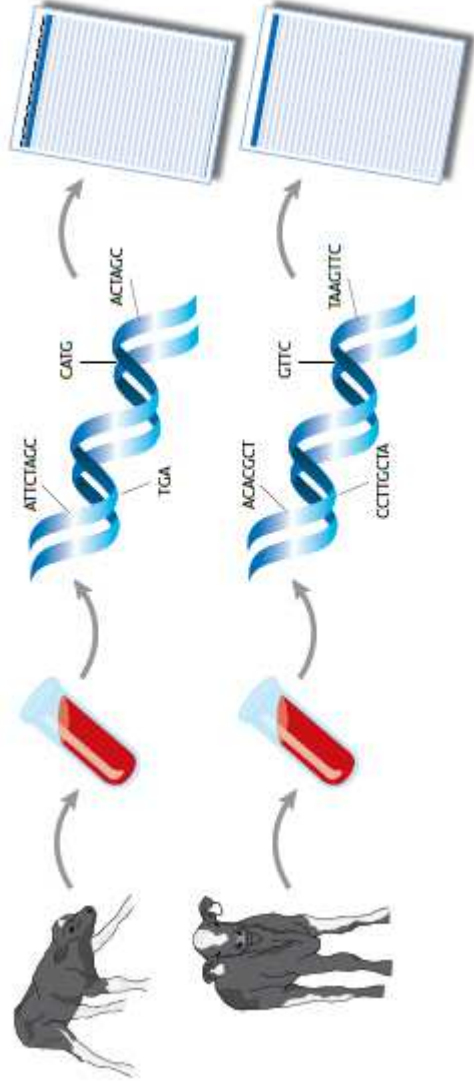
The PorcineSNP60 BeadChip (Figure 1) is the most comprehensive genome-wide genotyping array for the porcine genome, providing superior power to interrogate genetic variation across many porcine breeds, including Duroc, Landrace, Pietran, and Large White. The PorcineSNP60 BeadChip was developed in collaboration with the International Porcine SNP Chip Consortium, comprising porcine researchers from Wageningen University, Danish Institute of Agricultural Science, USDA-ARS, USMARC, Roslin Institute, University of Illinois, Iowa State University, INRA, University of Missouri, and Cambridge University.



Statistické metody pro genomickou selekci

- R. Howard, A. L. Carriquiry, and W. D. Beavis. *G3 (Genes, Genomes, Genetics)* Volume 4 | June 2014, 1027-1046. doi: 10.1534/g3.114.010298

Least squares regression
Ridge regression
Bayesian ridge regression
BLUP
LASSO
Bayes LASSO
Bayes A
Bayes B
Bayes C
Bayes $C\pi$
Nadaraya-Watson estimator
RKHS
Support vector machine
Neural network



test bull/waiting bull/breeding bull system	genomic selection
<p>selection of young bulls (age: 0-2 months) based on the yields of the parents</p> <p>↓</p> <p>young bulls (age: 12-14 months) used for test bull inseminations</p> <p>↓</p> <p>initial data from daughters (age: ± 49 months)</p> <p>↓</p> <p>reliable breeding values for bulls (age: ± 61 months)</p> <p>↓</p> <p>employed as breeding bulls (± 61 months)</p>	<p>selection of young bulls (age: 0-2 months) based on the yields of the parents</p> <p>↓</p> <p>markers of young bulls measured</p> <p>↓</p> <p>markers of young bulls combined with marker breeding values from reference population</p> <p>↓</p> <p>reliable breeding values for bulls (age: 0-2 months)</p> <p>↓</p> <p>employed as breeding bulls (12-14 months)</p>

Závěr

- Nové nástroje -> intenzivnější šlechtění -> větší zisky genetické a ekonomické
- Zároveň návrat k globálnímu pohledu na šlechtění (genom)
- Obavy z ještě větší redukci genetické variability v populacích

