

## GENOMSKI PODACI U FUNKCIJI BOLJEG MODELIRANJA GENETSKIH VEZA IZMEĐU ŽIVOTINJA

Dr. sc. Marija Špehar, Hrvatska agencija za poljoprivredu i hranu ([marija.spehar@hapih.hr](mailto:marija.spehar@hapih.hr))

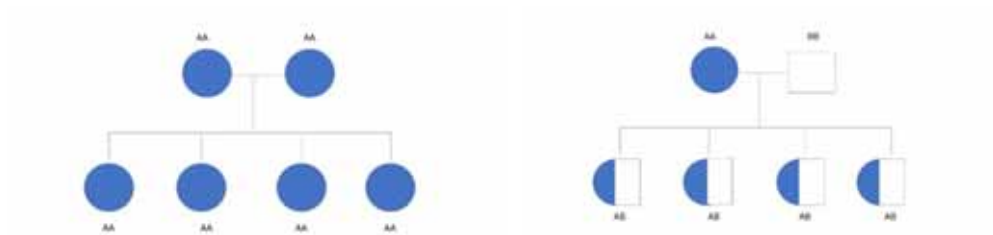
Izv. prof. dr. sc. Ante Kasap, Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet ([akasap@agr.hr](mailto:akasap@agr.hr))

### Uvod

Genomska selekcija (GS) je suvremeni pristup u stočarstvu koji omogućuje odabir najboljih životinja za rasplod. Temelji se na procjeni uzgojnih vrijednosti i formiranju roditeljskih parova korištenjem, uz fenotip i porijeklo, velikog broja informacija zapisanih u genomu svake genotipizirane jedinke. Riječ je o jednonukleotidnim polimorfizmima (poznatijim kao SNP ili 'snipovi') koji služe kao jedinstveni genetski identifikatori jedinki, slični otisku prsta kod čovjeka. Zbog sve pristupačnije cijene, u naprednim uzgojnim programima sve se više ovaca genotipizira na desecima tisuća varijabilnih mjesta u genomu koristeći tzv. čipove srednje gustoće ('54K SNP čip' sa ~ 54.000 SNP-ova). Ova tehnologija, pored procjene genomskih uzgojnih vrijednosti, omogućuje i provjeru porijekla te ispravljanje pogrešaka u rodovnicima (rekonstrukcija rodovnika) u elektroničkim bazama podataka kao što je jedinstveni registar ovaca i koza. Sve to osigurava točniju procjenu uzgojnih vrijednosti i brži genetski napredak populacije. Navedene aktivnosti provode se uz pomoć posebno razvijenih softverskih rješenja. Slijedeći moderne trendove, u sklopu razvoja sustava genomske selekcije za naše izvorne mliječne pasmine ovaca, istarsku i pašku ovcu, kod provedbe ovih aktivnosti koristi se skupina programa BLUPf90. Jedan od programa iz te skupine je SeekParentF90 koji se koristi za provjeru roditeljstva pomoću SNP-ova. Cilj ovog rada je predstaviti postupak korištenja SNP-ova u funkciji boljeg modeliranja genetskih veza između životinja kao i praktični doprinos u provedbi uzgojno-seleksijskog rada.

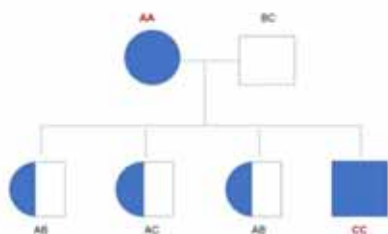
### Mendelovi konflikti u provjeri rodoslovlja

Jedna od dobiti korištenja SNP-ova je mogućnost provjere i utvrđivanja pogrešaka u rodoslovlju, a temelji se na pronalaženju Mendelovih konfliktata. To su neusklađenosti genetskih informacija između roditelja i potomaka koje se kose sa zakonom segregacije, temeljnim pravilom nasljeđivanja koje je postavio u 19. stoljeću Gregor Mendel, a koji se smatra ocem moderne genetike. Prema tom pravilu, svaki roditelj na potomstvo prenosi samo jednu od svoje dvije kopije gena (alela). Kada se analiziraju tisuće SNP-ova, svaka nedosljednost u prijenosu alela na određenoj genetskoj lokaciji predstavlja Mendelov konflikt. Uzmimo primjer kad oba roditelja imaju genotip AA. U tom slučaju njihov potomak ne može imati alel B (slika 1a). Ako majka ima genotip AA, a otac BB, potomak mora imati genotip AB (slika 1b).



**Slika 1a i 1b.** Sparivanje roditelja različitih genotipova i njihovi potomci

Ako je roditelj homozigot za jedan alel (npr. AA), a njegov potomak homozigot za drugi alel (npr. CC), to je jasan znak nedosljednosti (slika 2). Velik broj ovakvih odstupanja pouzdan je dokaz pogreške u rodoslovlju. Budući da se provjera provodi na velikom broju SNP-ova, mogućnost pogreške u analizama ovog tipa svedena je na minimum.



**Slika 2.** Sparivanje roditelja različitih genotipova i njihovi potomci i greška u porijeklu kod životinje genotipa CC

Ako ovo preslikamo na razinu rodoslovlja za ovcu/ovna, može se utvrditi da ta životinja na osnovi svog genotipa CC ima pogrešno upisanog roditelja (genotip AA). U vrlo rijetkim slučajevima, ovaj je genotip rezultat pogreške u procesu genotipizacije ili posljedica miješanja uzoraka DNK.

### Programska rješenja za provjeru porijekla

SeekParentF90 je specijalizirani program koji se koristi za utvrđivanje Mendelovih konflikata i (eventualno) ispravljanje rodoslovlja koristeći genomske informacije (SNP-ove). Za korištenje programa potrebne su dvije datoteke (slika 3): 1) datoteka s podacima porijekla koja ima sadrži tri kolone: životni broj životinje, oca i majke (pedfile) i 2) datoteka s genomskim podacima koja ima dva kolone: prvu sa životnim brojem životinje i drugu koja sadrži informacije o SNP-ovima (snpfile).



**Slika 3.** Ulazne datoteke za provjeru porijekla u programu SeekParentF90

Pored navedenih datoteka, pri izvedbi programa mogu se dodatno upotrijebiti i druge korisne datoteke kao što su datoteke koja sadrže životne brojeve genotipiziranih očeva i/ili majki prisutnih u porijeklu te se koriste kao baza za pretraživanje potencijalnih roditelja u slučaju konflikata u porijeklu. Ujedno se mogu mijenjati pragovi za postotak SNP-ova za provjeru konflikata roditelj-potomak (zadana vrijednost je 1% od ukupnog broja SNP-ova) kao i još neki korisni argumenti vezani uz strukturu SNP datoteke. Također je moguće koristiti i popis SNP-ova za provjeru porijekla definiranih od strane ICAR-a. Program za svaku genotipiziranu životinju provjerava odnos s genotipiziranim roditeljem (ocem i majkom). Nepodudaranje u porijeklu se proglašava ako je broj Mendelovih konflikata veći od praga. Po izvedbi programa dobiju se tri datoteke s rezultatima:

- ✓ Parent\_Progeny\_Conflicts\_Summary.txt – statistika s brojem utvrđenih konflikata genotipiziranih očeva/majki u porijeklu po pojedinom ocu i majci

Parent ID	Offspring ID	Conflict Count	Parent ID	Offspring ID	Conflict Count
00000001	00000001	0	00000001	00000001	0
00000002	00000002	0	00000002	00000002	0
00000003	00000003	0	00000003	00000003	0
00000004	00000004	0	00000004	00000004	0
00000005	00000005	0	00000005	00000005	0
00000006	00000006	0	00000006	00000006	0
00000007	00000007	0	00000007	00000007	0
00000008	00000008	0	00000008	00000008	0
00000009	00000009	0	00000009	00000009	0
00000010	00000010	0	00000010	00000010	0
00000011	00000011	0	00000011	00000011	0
00000012	00000012	0	00000012	00000012	0
00000013	00000013	0	00000013	00000013	0
00000014	00000014	0	00000014	00000014	0
00000015	00000015	0	00000015	00000015	0
00000016	00000016	0	00000016	00000016	0
00000017	00000017	0	00000017	00000017	0
00000018	00000018	0	00000018	00000018	0
00000019	00000019	0	00000019	00000019	0
00000020	00000020	0	00000020	00000020	0
00000021	00000021	0	00000021	00000021	0
00000022	00000022	0	00000022	00000022	0
00000023	00000023	0	00000023	00000023	0
00000024	00000024	0	00000024	00000024	0
00000025	00000025	0	00000025	00000025	0
00000026	00000026	0	00000026	00000026	0
00000027	00000027	0	00000027	00000027	0
00000028	00000028	0	00000028	00000028	0
00000029	00000029	0	00000029	00000029	0
00000030	00000030	0	00000030	00000030	0
00000031	00000031	0	00000031	00000031	0
00000032	00000032	0	00000032	00000032	0
00000033	00000033	0	00000033	00000033	0
00000034	00000034	0	00000034	00000034	0
00000035	00000035	0	00000035	00000035	0
00000036	00000036	0	00000036	00000036	0
00000037	00000037	0	00000037	00000037	0
00000038	00000038	0	00000038	00000038	0
00000039	00000039	0	00000039	00000039	0
00000040	00000040	0	00000040	00000040	0
00000041	00000041	0	00000041	00000041	0
00000042	00000042	0	00000042	00000042	0
00000043	00000043	0	00000043	00000043	0
00000044	00000044	0	00000044	00000044	0
00000045	00000045	0	00000045	00000045	0
00000046	00000046	0	00000046	00000046	0
00000047	00000047	0	00000047	00000047	0
00000048	00000048	0	00000048	00000048	0
00000049	00000049	0	00000049	00000049	0
00000050	00000050	0	00000050	00000050	0
00000051	00000051	0	00000051	00000051	0
00000052	00000052	0	00000052	00000052	0
00000053	00000053	0	00000053	00000053	0
00000054	00000054	0	00000054	00000054	0
00000055	00000055	0	00000055	00000055	0
00000056	00000056	0	00000056	00000056	0
00000057	00000057	0	00000057	00000057	0
00000058	00000058	0	00000058	00000058	0
00000059	00000059	0	00000059	00000059	0
00000060	00000060	0	00000060	00000060	0
00000061	00000061	0	00000061	00000061	0
00000062	00000062	0	00000062	00000062	0
00000063	00000063	0	00000063	00000063	0
00000064	00000064	0	00000064	00000064	0
00000065	00000065	0	00000065	00000065	0
00000066	00000066	0	00000066	00000066	0
00000067	00000067	0	00000067	00000067	0
00000068	00000068	0	00000068	00000068	0
00000069	00000069	0	00000069	00000069	0
00000070	00000070	0	00000070	00000070	0
00000071	00000071	0	00000071	00000071	0
00000072	00000072	0	00000072	00000072	0
00000073	00000073	0	00000073	00000073	0
00000074	00000074	0	00000074	00000074	0
00000075	00000075	0	00000075	00000075	0
00000076	00000076	0	00000076	00000076	0
00000077	00000077	0	00000077	00000077	0
00000078	00000078	0	00000078	00000078	0
00000079	00000079	0	00000079	00000079	0
00000080	00000080	0	00000080	00000080	0
00000081	00000081	0	00000081	00000081	0
00000082	00000082	0	00000082	00000082	0
00000083	00000083	0	00000083	00000083	0
00000084	00000084	0	00000084	00000084	0
00000085	00000085	0	00000085	00000085	0
00000086	00000086	0	00000086	00000086	0
00000087	00000087	0	00000087	00000087	0
00000088	00000088	0	00000088	00000088	0
00000089	00000089	0	00000089	00000089	0
00000090	00000090	0	00000090	00000090	0
00000091	00000091	0	00000091	00000091	0
00000092	00000092	0	00000092	00000092	0
00000093	00000093	0	00000093	00000093	0
00000094	00000094	0	00000094	00000094	0
00000095	00000095	0	00000095	00000095	0
00000096	00000096	0	00000096	00000096	0
00000097	00000097	0	00000097	00000097	0
00000098	00000098	0	00000098	00000098	0
00000099	00000099	0	00000099	00000099	0
00000100	00000100	0	00000100	00000100	0

- ✓ Parent\_Progeny\_Conflicts.txt – informacije o provjerenom porijeklu za kombinacije životinja-otac i životinja-majka genotipiziranih životinja s informacijom o podudaranju u porijeklu (match) ili pogrešci u porijeklu (no-match), statistika o broju i postotku SNP-ova koji se ne podudaraju, te potvrda ako je testiranje u skladu s ICAR-ovim pravilima

- ✓ Check\_pedigree.dat – datoteka modificiranog porijekla koja sadrži kolone sa životnim brojem životinje, oca i majke. Ako se genotipovi za oca i/ili majku ne podudaraju s genotipom potomka tada se zamjenjuju sa nulom ili poznatim utvrđenim genotipiziranim roditeljem. Posljednje dvije kolone označavaju rezultat provjere roditeljstva za oca i majku, a nose oznaku 'podudaranje' (match) ili 'nema podudaranja' (no-match). Postoji i oznaka za rezultat 'bez genotipa' (par\_nogeno) ako roditelj nije genotipiziran i njegov genotip nije prisutan u datoteci genotipova kao i oznaka 'nije testirano' (not-tested) koja se odnosi na slučajeve kad nije provedena genotipizacija životinje, oca i majke.

## **Genomika – vaš najveći saveznik u izgradnji boljeg stada**

Uvažavajući specifičnosti uzgoja ovaca na Pagu i u Istri, koji uzgajivače često stavljaju pred brojne izazove pri organizaciji pripusta, cilj ovog rada nije bio 'igrati se policajca' i prozivati one čiji podaci u rodoslovlju sadrže pogreške. Naprotiv, željeli smo ukazati na moć genomske informacije koja omogućuje ispravljanje tih podataka i njihovo stavljanje u funkciju kvalitetnijeg uzgojno-seleksijskog rada.

**Zaključna poruka: Pozivamo vas da iskoristite ove spoznaje kako bismo zajedno osigurali genetski napredak i održivost vašeg stada.**