

Molekulargenetische Aufklärung von Einflüssen der Domestikation und Selektion bei Haustieren mittels Next-Generation-Sequencing

O. Distl, Institut für Tierzucht und Vererbungsforschung, Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover

Kurzgefasst

Haustierrassen sind das Ergebnis Jahrhunderte langer Adaptation, demografischer Effekte und Selektion für spezifische Umweltbedingungen und Nutzungsrichtungen.

Aus archäologischen Funden können die Genome von Wildtierarten und frühen Domestikationsformen von Haustieren über Next-Generation-Sequencing rekonstruiert und deren Entstehungszeit sowie genetischen Beziehungen zu rezenten Arten und Rassen aufgeklärt werden.

Haustierrassen sind Modellpopulationen für eine Vielzahl genetisch fixierter Eigenschaften und vieler medizinisch bedeutsamer Erkrankungen und Erbfehler.

Für die Haustierarten wurden Referenzgenome erstellt und diese werden laufend verbessert.

Mit der Next-Generation-Sequencing Technologie kann die molekulargenetische Aufklärung und die sich daran anschließende medizinische Erforschung von Krankheiten, physiologischen Besonderheiten und Adaptationsmechanismen wesentlich beschleunigt werden.

Bei den in der Tiermedizin bedeutsamen Spezies Pferd, Rind, Schwein, Schaf, Hund und Katze werden Genome (DNaseq) und cDNA (RNaseq) komplett und mit hoher Lesetiefe sequenziert, an das Referenzgenom kartiert und auf kausale Mutationen gefiltert.

Diese Daten werden entsprechend den Versuchsdesigns und Fragestellungen mit komplexen Rechenalgorithmen auf genetische und strukturelle Varianten analysiert.

Projekt Pferde

Genetische Diversität von Pferdepopulationen

Für dieses Projekt werden Pferde von sehr unterschiedlichen Rassen und Populationen komplett sequenziert. Das Ziel ist die phylogenetische Aufklärung der Entstehung der Rassen und die Entschlüsselung domestikations- wie selektionsbedingter genomischer Signaturen. Für das Projekt wurde eine internationale Zusammenarbeit vereinbart mit dem Ziel, alle Daten gemeinsam zu analysieren und zu publizieren. Unser Beitrag besteht in der Sequenzierung mittels NGS von Pferden, die vor allem in Deutschland entwickelt wurden. Hier sind das Dülmener Wildpferd, Kaltblutpferde- und Warmblutpferde- rassen sowie spezielle Populationen wie das Przewalski, Sorraia und Liebenthaler Pferd sowie Proben aus archäologischen Funden bis zu vor 330.000 Jahren von Bedeutung.

Genetische Mechanismen von Infertilität und herabgesetzter Fruchtbarkeit beim Pferd

Die Ursachen von Unfruchtbarkeit insbesondere bei Hengsten sind häufig sehr schwierig zu behandeln, da keine offensichtlichen Ursachen nachzuweisen sind. Diese Fälle sind ein großes Problem für die Pferdezucht, da züchterisch wertvolle Hengste aus der Zucht ausscheiden müssen. Das Forschungsvorhaben hat deshalb zum Ziel, eine größere Anzahl von infertilen Hengsten und eine Kontrollgruppe von voll fertilen Hengsten der entsprechenden Rassen komplett zu sequenzieren. Anhand der Komplet-Genom-Sequenzdaten werden die für infertile Hengste typischen genetischen und strukturellen Varianten im Genom herausgefiltert und an umfangreichen Stichproben validiert.

Funktionale Genomannotierung

Bei den Haustieren steht die funktionale Aufklärung der Genomsequenz am Beginn. Wir beteiligen uns beim Pferd an diesem internationalen Projekt, dessen Ziel die Interpretation der regulatorischen Elemente im Genom darstellt. Ein Teilziel des Projekts ist die Verbesserung und Fehlerberichtigung des Pferdegenoms sowie die verbesserte Annotierung der Genmodelle. Für die funktionale Aufklärung werden Proben von verschiedenen Organen und verschiedenen Altersstufen auf die exprimierten Gene und deren Transskriptvarianten genomweit analysiert.

Projekt Schweine

In Zusammenarbeit mit der Universität Göttingen werden Minischweinerassen phänotypisch und genomisch charakterisiert. Die Genomdaten werden mit dem Ziel analysiert, die Varianten im Genom der Minischweine aufzuklären, die den Zwergwuchs verursachen. Die Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover besitzt eine eigene Minischweinerde, die einzigartig ist und für die biomedizinische Forschung genutzt wird.

Projekt Rinder

Langlebigkeit und Krankheiten

Bei den Milchrinderrassen nehmen die Lebens- und Nutzungsdauer seit mehr als 40 Jahren beständig ab. Dieser Trend bedroht eine nachhaltige Milcherzeugung und mindert die Akzeptanz der Verbraucher für Milchprodukte. Aus diesem Grunde wurden phänotypischen Daten und Proben von extrem langlebigen Milchkühen mit einem Lebensalter von mehr als 10 Jahren gesammelt, um die genetischen Ursachen für die Langlebigkeit zu erforschen. Eine wichtige Ursache für eine verkürzte Lebensdauer sind Unfruchtbarkeit und Krankheiten. Da sowohl die Lebensdauer wie Krankheiten genetisch fundiert sind, sollen die Next-Generation-Sequencing (NGS)-Daten neue Aufschlüsse über die genetischen Mechanismen von extremer Langlebigkeit und deren züchterische Bearbeitung geben.

Erbfehler

Bei Rindern ist eine große Anzahl von Erbfehlern bekannt, jedoch ist nur ein Bruchteil davon molekulargenetisch aufgeklärt. Zudem können spontan Neumutationen auftreten, die Erbfehler verursachen und über die Künstliche Besamung rasch in der Population verbreitet werden. NGS ist hier die Methode der Wahl, um kausale Mutationen für Erbfehler in kurzer Zeit zu charakterisieren. In Zusammenarbeit mit der Klinik für Rinder und dem Institut für Pathologie können die Phänotypen erfasst und über ein anschließendes genomisches Screening die kausale Mutation aufgefunden werden.

Projekt Schafe

In Zusammenarbeit mit der Klinik für kleine Klautiere werden kongenitale Anomalien und weit verbreitete Krankheiten phänotypisch und genomisch charakterisiert. Die Genomdaten sind entscheidend um die genetischen Varianten für die Missbildungen bei Schafen aufzufinden.

Projekt Hunde

Bei Hunden werden eine Vielzahl von degenerativen Krankheiten des Skelettsystems, Augenkrankheiten, idiopathische Epilepsie, komplexen Entzündungskrankheiten und Erbfehlern bearbeitet. Der Hund stellt ein Modelltier für die entsprechenden humanen Erkrankungen dar und damit eine wertvolle Ergänzung für die humanmedizinische Forschung. Die NGS-Technologie bringt für diese Projekte den Durchbruch in der Aufklärung dieser Erkrankungen.

Projekt Katzen

Analog zu Hunden ist die Katze ein Modellorganismus für den Menschen. Hier beteiligen wir uns an der Verbesserung der Referenzgenomsequenz und an Projekten zur Aufklärung von Erkrankungen.

www

<http://www.tiho-hannover.de/kliniken-institute/institute/institut-fuer-tierzucht-und-vererbungsforchung/>

Weitere Informationen

An epistatic effect of KRT25 on SP6 is involved in curly coat in horses. Thomer A, Gottschalk M, Christmann A, Naccache F, Jung K, Hewicker-Trautwein M, Distl O, Metzger J. Sci Rep. 2018 Apr 23;8(1):6374

Germline mutation within COL2A1 associated with lethal chondrodysplasia in a polled Holstein family. Reinartz S, Mohwinkel H, Sürle C, Hellige M, Feige K, Eikelberg D, Beineke A, Metzger J, Distl O. BMC Genomics. 2017 Oct 10;18(1):762.

Whole genome sequencing identifies missense mutation in MTBP in Shar-Pei affected with Autoinflammatory Disease (SPAID). Metzger J, Nolte A, Uhde AK, Hewicker-Trautwein M, Distl O. *BMC Genomics*. 2017 May 4;18(1):348

Screening of whole genome sequences identified high-impact variants for stallion fertility. Schrimpf R, Gottschalk M, Metzger J, Martinsson G, Sieme H, Distl O. *BMC Genomics*. 2016 Apr 14;17(1):288

Genome-wide analysis reveals selection for important traits in domestic horse breeds. Petersen JL, Mickelson JR, Rendahl AK, Valberg SJ, Andersson LS, Axelsson J, Bailey E, Bannasch D, Binns MM, Borges AS, Brama P, da Câmara Machado A, Capomaccio S, Cappelli K, Cothran EG, Distl O, Fox-Clipsham L, Graves KT, Guérin G, Haase B, Hasegawa T, Hemmann K, Hill EW, Leeb T, Lindgren G, Lohi H, Lopes MS, McGivney BA, Mikko S, Orr N, Penedo MC, Piercy RJ, Raekallio M, Rieder S, Røed KH, Swinburne J, Tozaki T, Vaudin M, Wade CM, McCue ME. *PLoS Genet*. 2013;9(1):e1003211

Genome-wide analysis of the world's sheep breeds reveals high levels of historic mixture and strong recent selection. Kijas JW, Lenstra JA, Hayes B, Boitard S, Porto Neto LR, San Cristobal M, Servin B, McCulloch R, Whan V, Gietzen K, Paiva S, Barendse W, Ciani E, Raadsma H, McEwan J, Dalrymple B; International Sheep Genomics Consortium Members. *PLoS Biol*. 2012 Feb;10(2):e1001258.

Genome sequence, comparative analysis, and population genetics of the domestic horse. Wade CM, Giulotto E, Sigurdsson S, Zoli M, Gnerre S, Imsland F, Lear TL, Adelson DL, Bailey E, Bellone RR, Blöcker H, Distl O, Edgar RC, Garber M, Leeb T, Mauceli E, MacLeod JN, Penedo MC, Raison JM, Sharpe T, Vogel J, Andersson L, Antczak DF, Biagi T, Binns MM, Chowdhary BP, Coleman SJ, Della Valle G, Fryc S, Guérin G, Hasegawa T, Hill EW, Jurka J, Kiialainen A, Lindgren G, Liu J, Magnani E, Mickelson JR, Murray J, Nergadze SG, Onofrio R, Pedroni S, Piras MF, Raudsepp T, Rocchi M, Røed KH, Ryder OA, Searle S, Skow L, Swinburne JE, Syvänen AC, Tozaki T, Valberg SJ, Vaudin M, White JR, Zody MC; Broad Institute Genome Sequencing Platform; Broad Institute Whole Genome Assembly Team, Lander ES, Lindblad-Toh K. *Science*. 2009 Nov 6;326(5954):865-7.