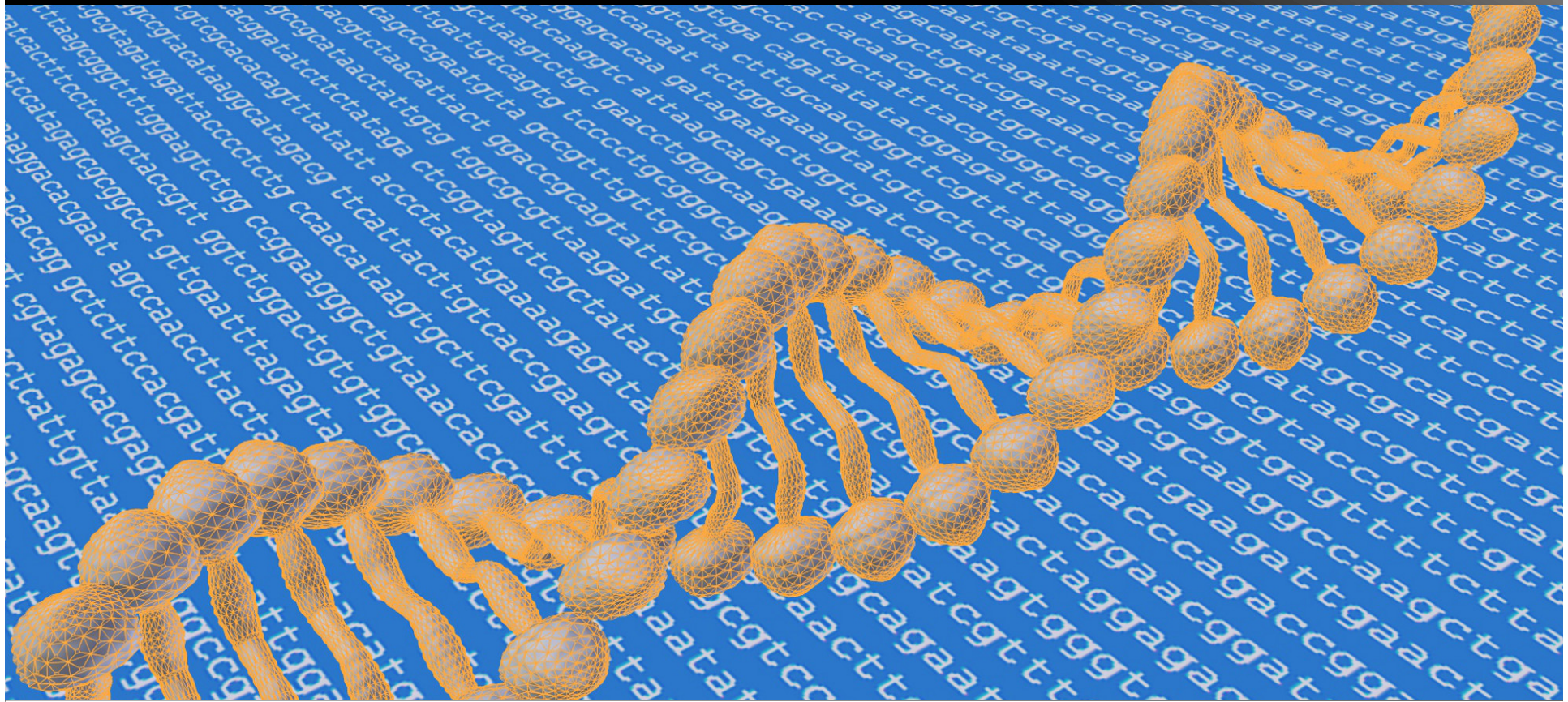


Projekt Bewusst Robust

Fritz Schmitz-Hsu, Workshop SABRE-TP vom 18.06.2015



Haupt-Projektbeteiligte

- Universität Bern:
 - Prof. R. Bruckmaier
 - Dr. J. Gross
 - N.-T. Ha
- Universität Göttingen:
 - Prof. H. Simianer
 - N.-T. Ha
- Swissgenetics: als Industriepartner

- Finanzierung durch:
- Kommission für Technologie und Innovation (KTI)
 - Swissgenetics

Projektziel

- Identifikation von relevanten Genen für die Regulierung der Stoffwechsels in der frühen Laktationsphase
- Verifizierung der Kandidatengene an weiteren Kühen (Versuchskühe und an Felddaten)
- Auswahl von SNPs zur Selektion von stoffwechselstabilen Milchkühen

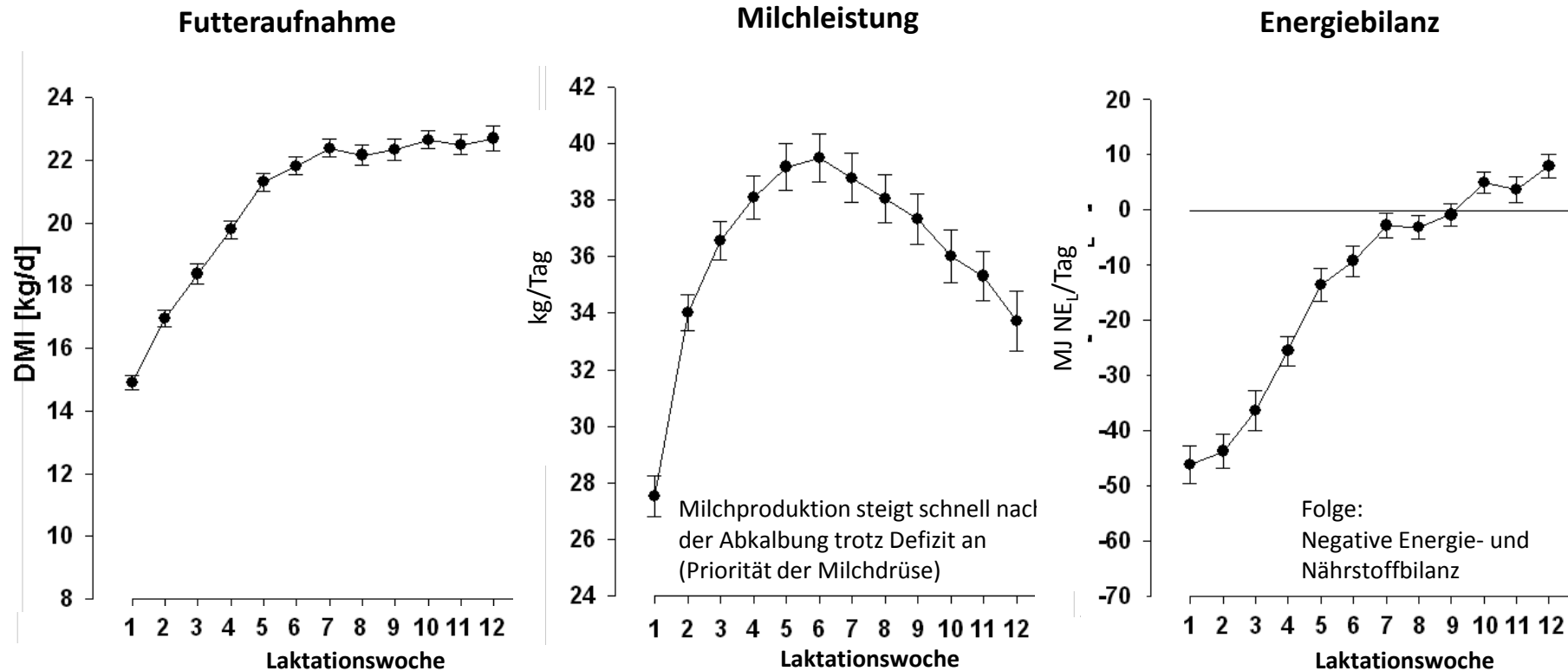
→ **Entwicklung eines Selektionsinstruments zur Zucht von robusten Kühen**

Was wird unter Robustheit verstanden?

Verschiedene Definitionen:

- Berry et al. (2009):
Fähigkeit der Kuh, das Ausmass und die Dauer des Energiedefizits zu reduzieren
- Strandberg (2009):
 - Fähigkeit einer Kuh, gut in ihrer Umwelt zu leben und dabei (während ihrem Leben) belastbar auf Änderungen im Mikroklima zu sein
 - Fähigkeit einer Kuh, über einen weiten Bereich von Makroklima (z. B. Klima, Produktionssysteme oder Betriebe) gut zu funktionieren
- Ten Napel et al. (2009):
Fähigkeit der Kuh, die Homeostase (= internes Gleichgewicht) aufrecht zu erhalten

Charakteristische Situation zu Beginn der Laktation (Gross et al., 2011)



Gross et al. JDS 2011

Stoffwechsel in negativer Energiebilanz

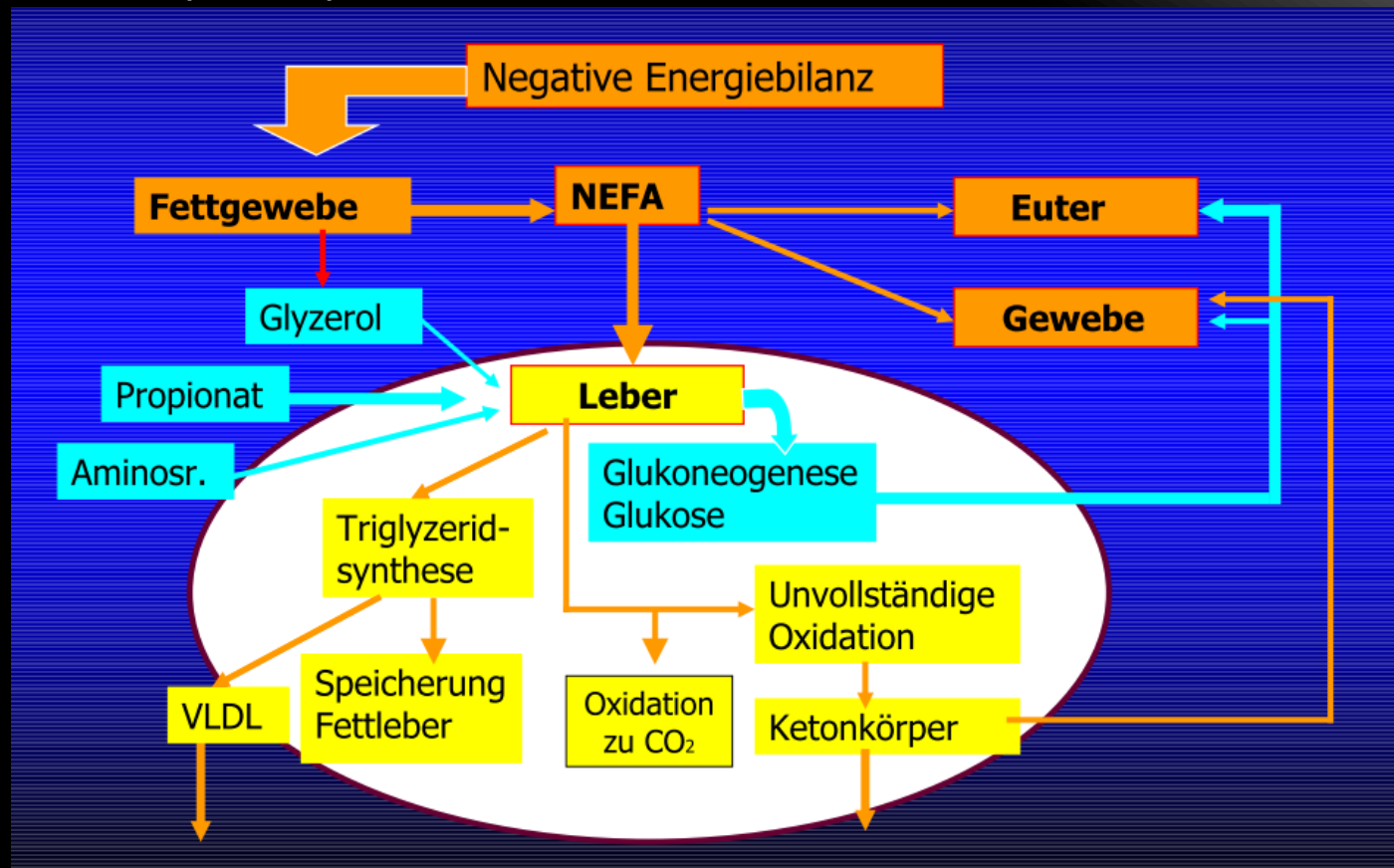
Rossow (2008):

Insulin und negative Energiebilanz



Stoffwechsel in negativer Energiebilanz

Rossow (2008):



Genetik spielt eine Rolle

Zahlreiche Studien zeigen, dass die Robustheit einer Kuh von Genen beeinflusst wird

- unter Versuchsbedingungen (zum Beispiel Pryce et al., 1999; Horan et al., 2004; McCarthy et al., 2007; Kessel et al., 2008; Van Dorland et al., 2009; Gross et al., 2011; Weber et al., 2013);
- bei Analysen von nationalen Daten (Calus et al., 2002);
- bei Auswertung von internationalen Datensets (Hammami et al., 2009)

Material

- 232 Kühe aus der Feldstudie von Graber et al. (2010), verteilt auf die Rassen Brown Swiss (BS), Swiss Fleckvieh (SF), Red Holstein (RH) und Holstein (HO)
- weitere 50 Kühe aus anderen Versuchen der Abteilung Veterinär-Physiologie der Universität Bern der gleichen Rassen
- Leberbiopsien und Blutproben (an drei Zeitpunkten) der Kühe oben
→ verschiedene physiologische Parameter (z. B. Glucose, nicht-veresterte Fettsäuren NEFA, β -Hydroxybutyrat BHB)
- Lebensleistung, Abgangsursache etc. der 232 Kühe aus der Feldstudie
- HD-Genotypen (777k) aller Kühe
- RNA-Sequenzdaten Leberproben von sieben weiteren Versuchskühen mit unterschiedlicher Belastung in der Übergangsphase

Vorgehen

1. Genomweite Assoziationsstudie (GWAS) mit den HD-SNP-Daten
2. Identifikation von mit Schlüsselmetaboliten assoziierten Genen in der Nähe der signifikanten Marker
3. Pathway-Analyse
4. Ergänzung der gefundenen Gene mit solchen aus der RNA-Transkriptomanalyse
5. Entwicklung eines Robustheitsindex anhand von Leistungsdaten
6. Verifikation der gefundenen Gene/Marker am ursprünglichen Datenmaterial und weiteren, genomisch und phänotypisch charakterisierten Tieren

Pathway-Analyse

Ziel

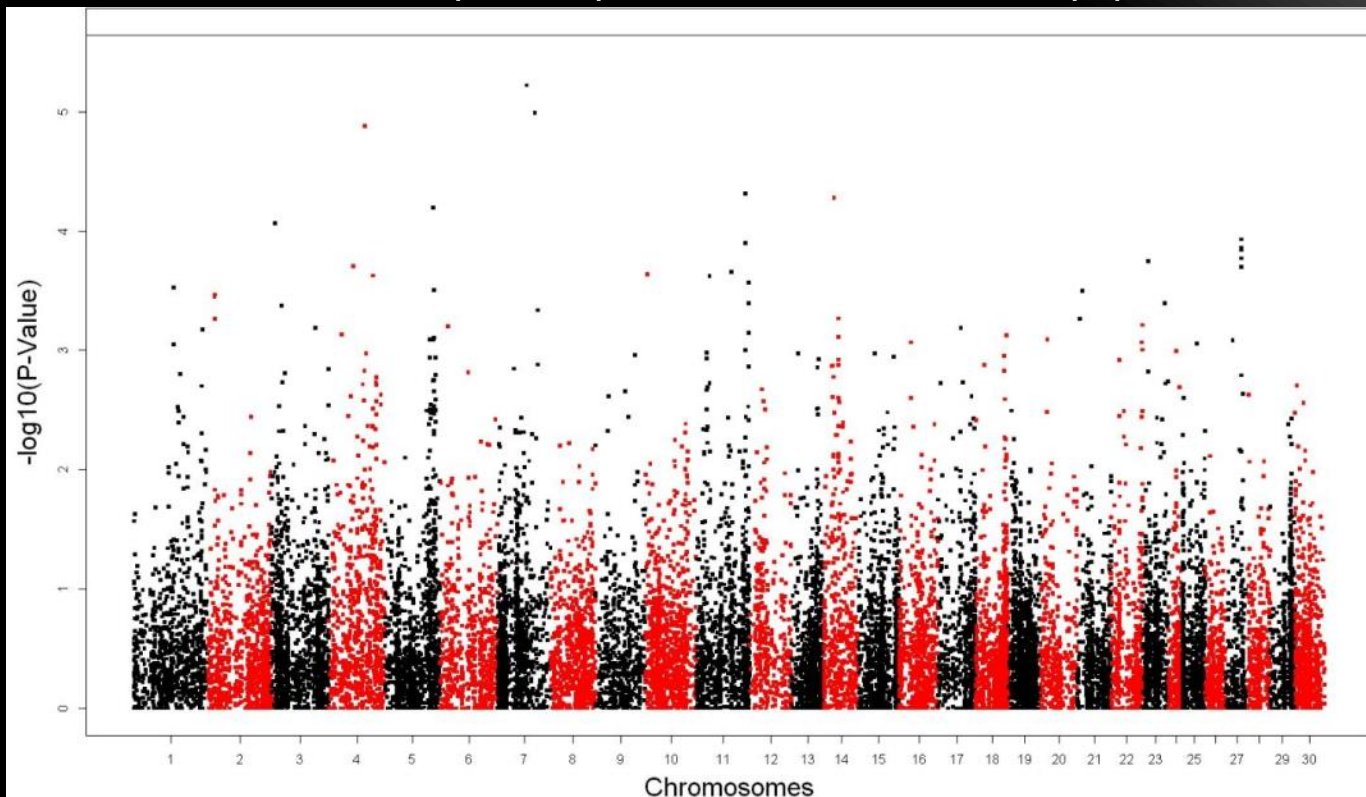
Gene auf (metabolischen) Pathways finden, die in der genomweiten Assoziationsstudie (GWAS) nicht erkannt werden

Vorgehen

1. Zuordnung SNPs → Gene → Pathways
2. Beschränkung auf bedeutende Pathways
3. Analyse der einzelnen Gene auf den ausgewählten Pathways mit dem Gene-Based Score Test GBST von Pan (2009)
4. p-Werte der GBST sind Input für die eigentliche Pathway-Analyse (hier Gene Set Enrichment Analysis GSEA von Hung et al. (2011) und Weighted Kolmogorow-Smirnow Test (WKST) von Subramanian et al. (2005))

Erste Projektergebnisse

Ergebnisse der GWAS und Pathway-Analyse wurden bereits publiziert von Ha et al. (2015) in PLoS ONE 10(3): e0122325



Erste Projektergebnisse

- Es wurden insgesamt 99 signifikant mit Schlüssel-metaboliten assoziierte Gene ermittelt

T1 = ca. 3 Wochen vor Abkalbung

T2 = 4 Wochen nach Abkalbung

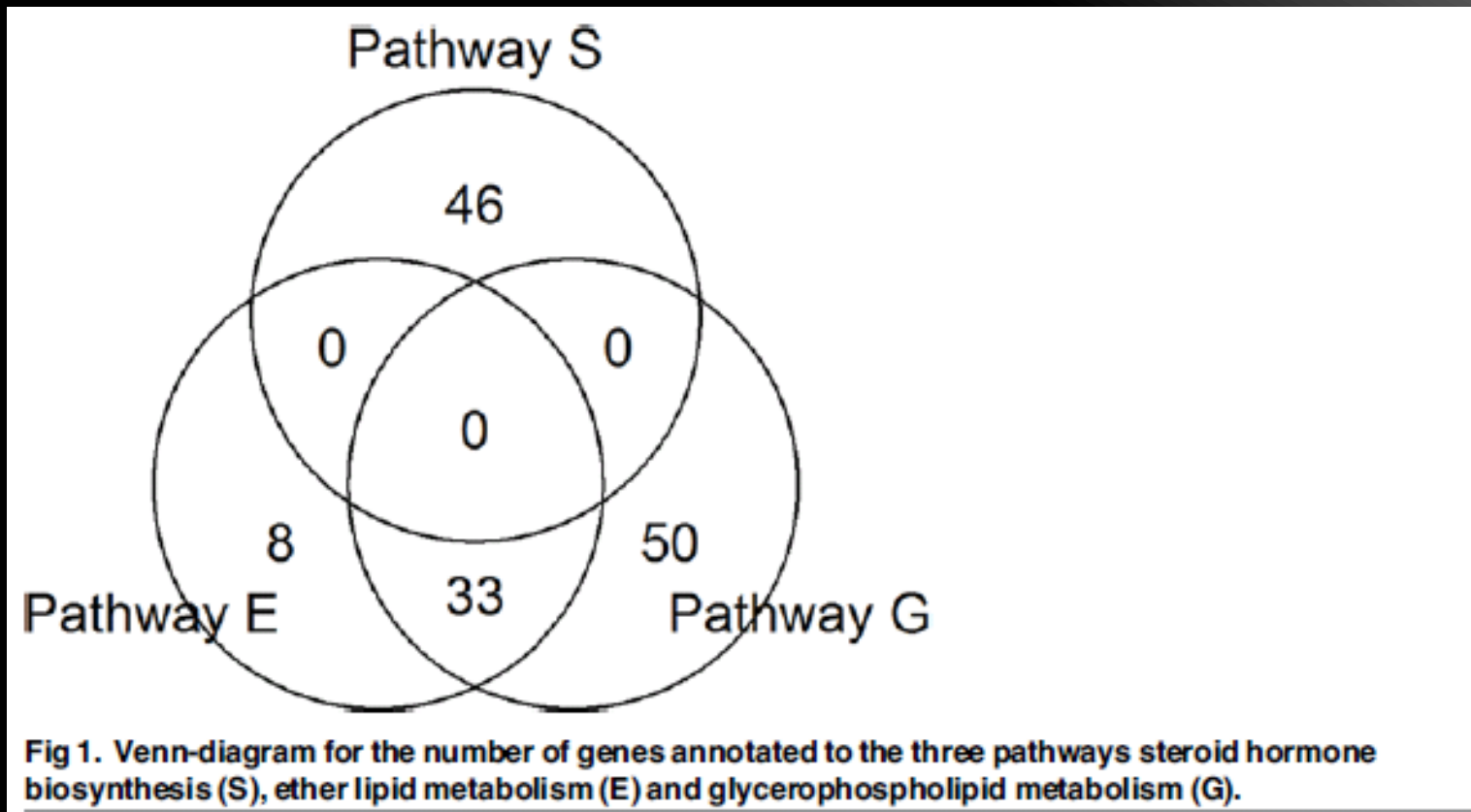
T3 = 13 Wochen nach Abkalbung

Table 1. Number of significant genes with the GBST (FDR = 5%) for the three metabolites.

Time/ratio	NEFA	BHBA	glucose
T1	5	8	5
T2	5	10	3
T3	7	0	12
T2/T1	2	9	8
T3/T1	10	0	3
T3/T2	9	2	1
Sum	38	29	32

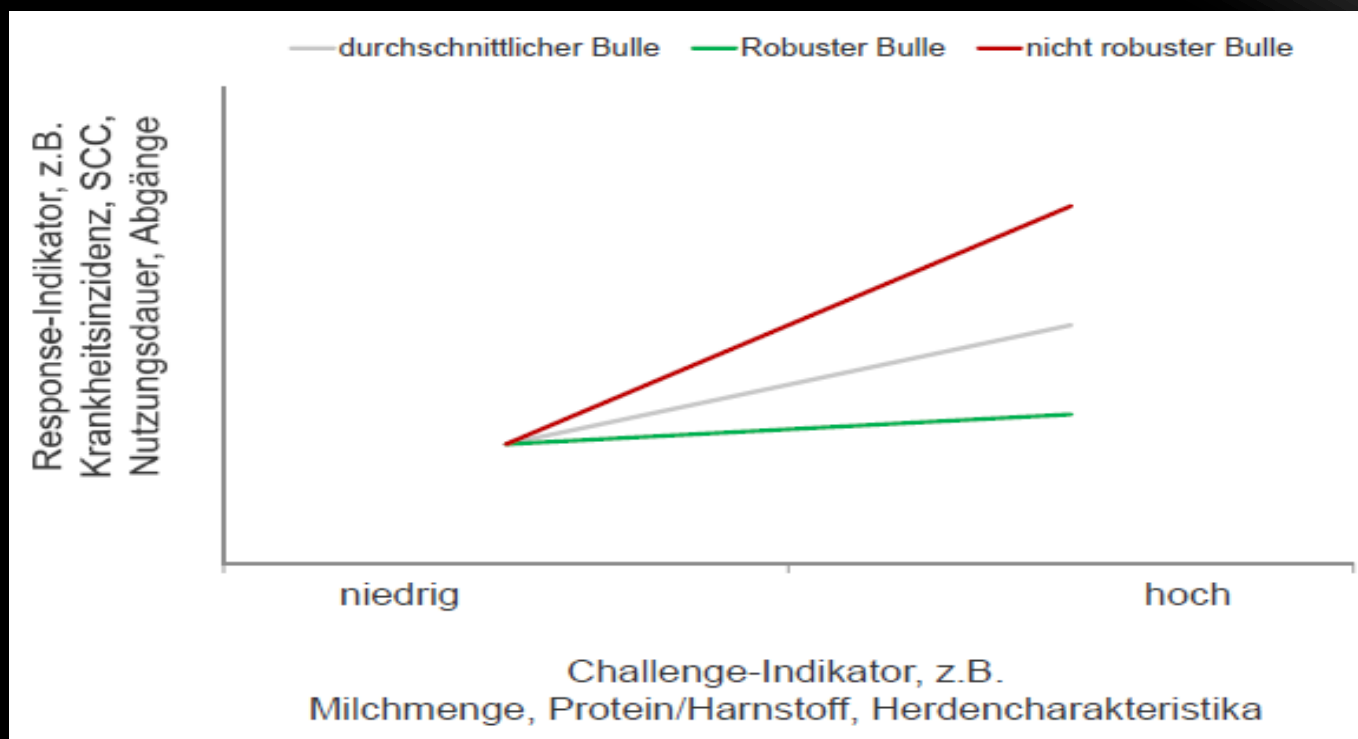
Erste Projektergebnisse

- Die gefundenen Gene beeinflussen verschieden Pathways



Weiteres Vorgehen

- Entwicklung eines Robustheitsindikators mit Daten von nachzuchtgeprüften Stieren



Weiteres Vorgehen

- Entwicklung eines Robustheitsindikators mit Daten von nachzuchtgeprüften Stieren
- Validierung der gefundenen Gene/Marker an den Versuchstieren und anhand von weiteren Tieren mit unterschiedlicher metabolischer Belastung
- Definition des virtuellen SNP-Chips zur Selektion von robusten Kühen

Projektabschluss Ende 2015

Vielen Dank für Ihre Aufmerksamkeit!

