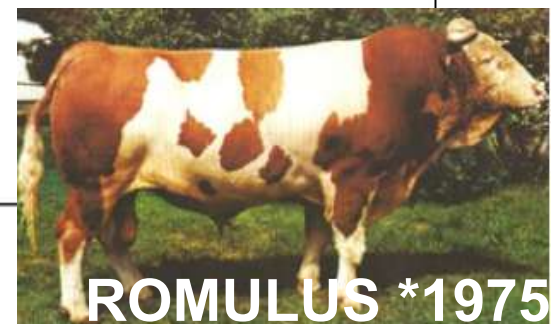
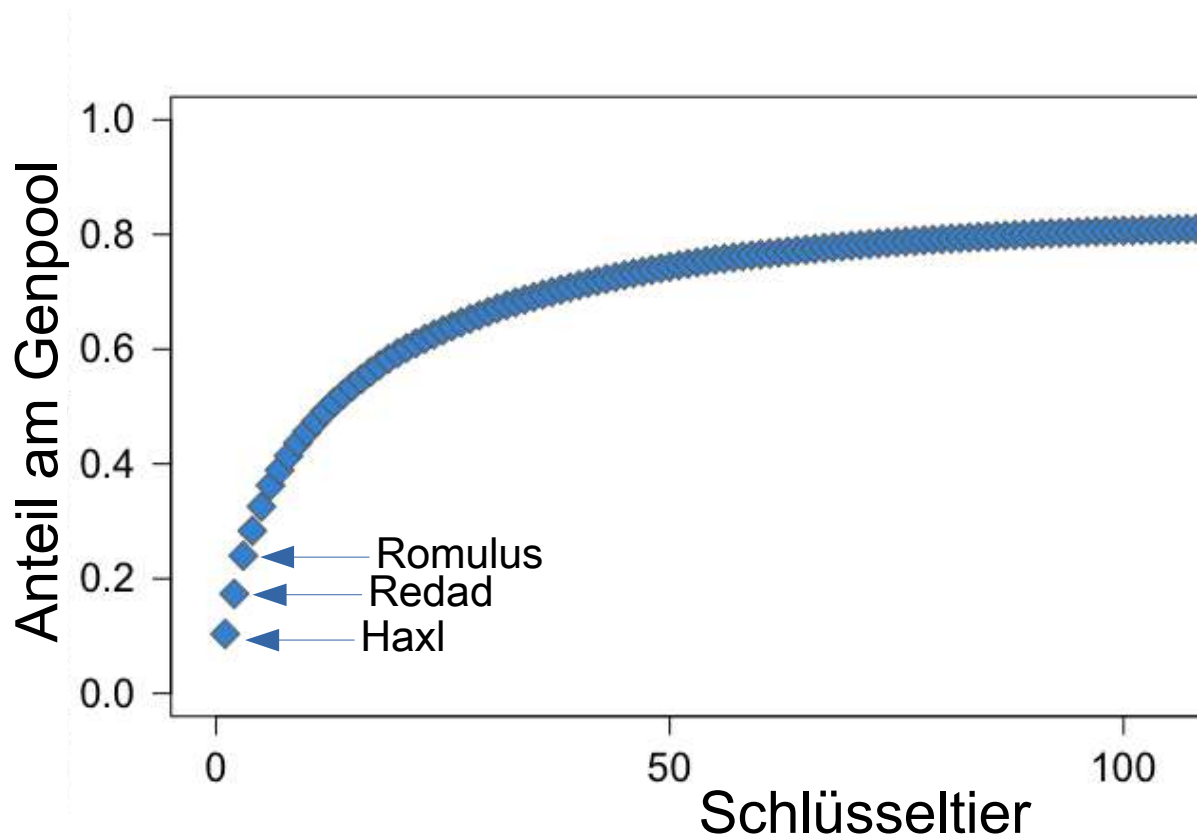




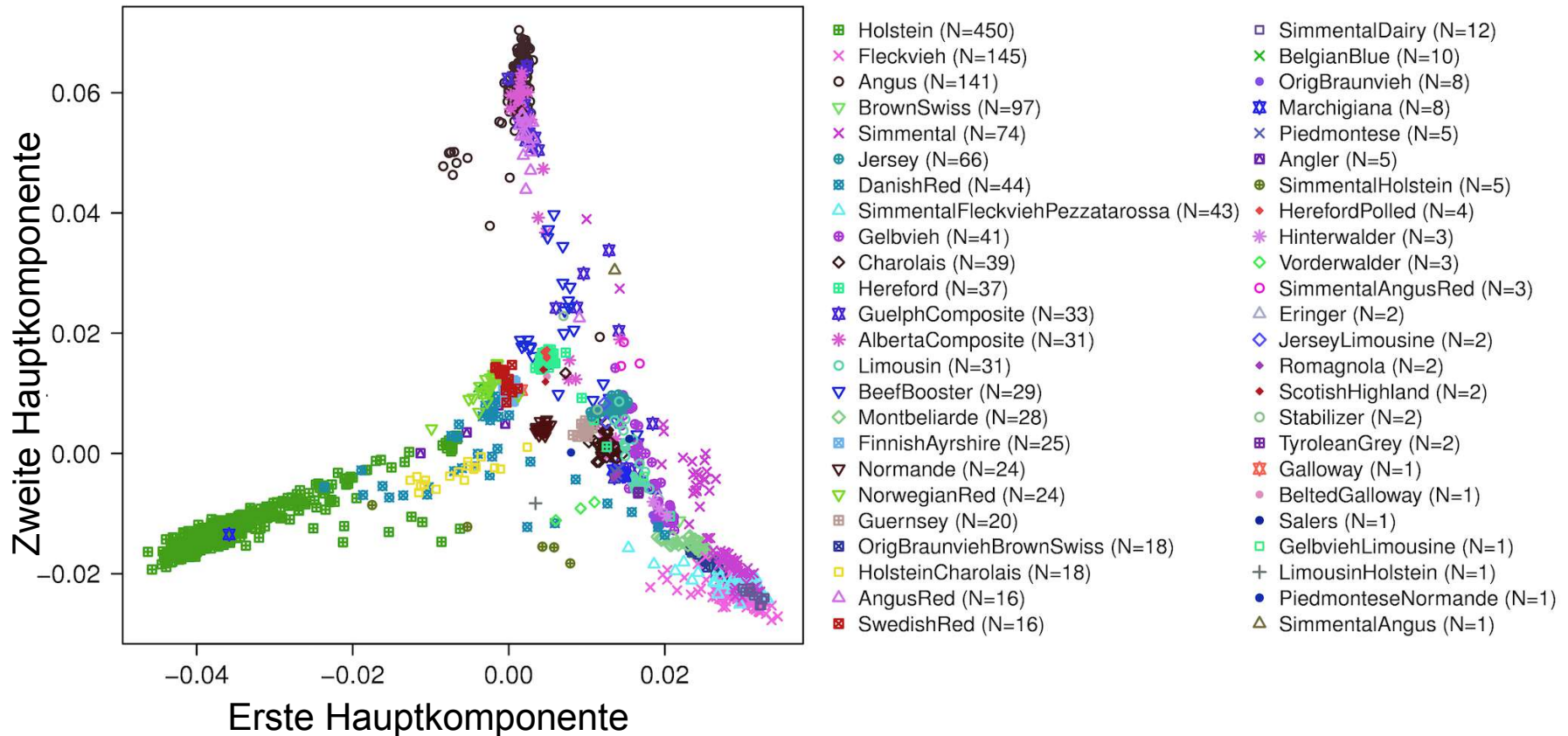
Die Sequenzierung ganzer Populationen für genombasierte Zuchtentscheidungen

- Katalogisierung der genomischen Variation innerhalb und zwischen Populationen
- Aufspüren von schädlichen Sequenzvarianten
- Extrapolation der Sequenzinformation für die gesamte Population (Imputation)
- Sequenzbasierte Assoziationsstudien und genomische Zuchtwertschätzung mit imputierten Genotypen

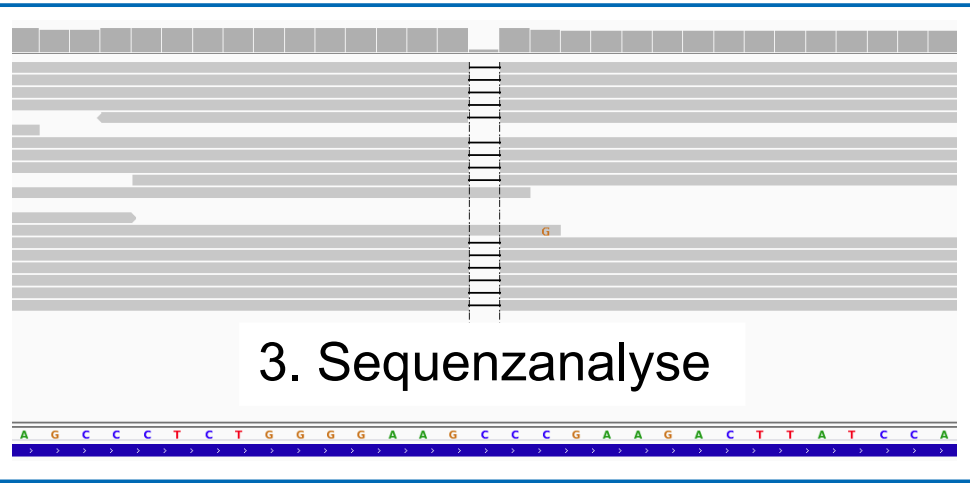
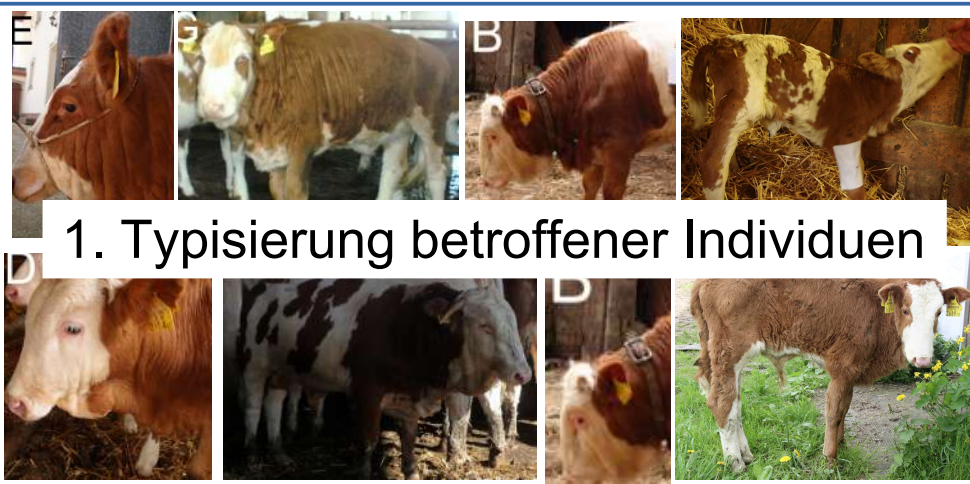
Sichtung der genomischen Variation von Populationen durch die Sequenzierung von Schlüsseltieren



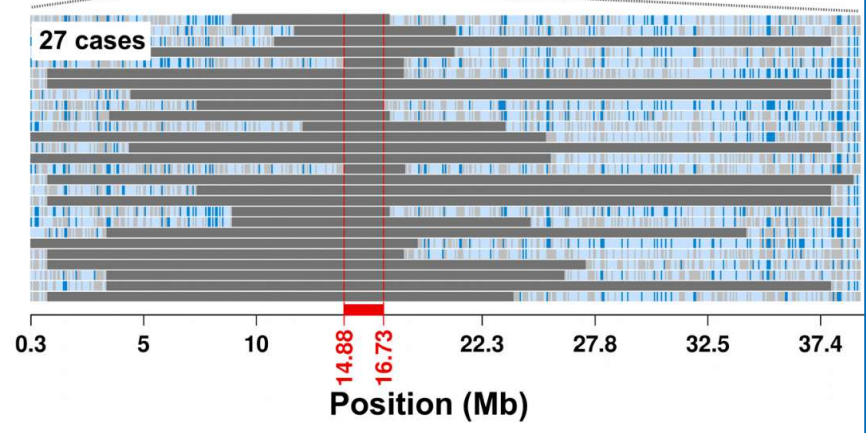
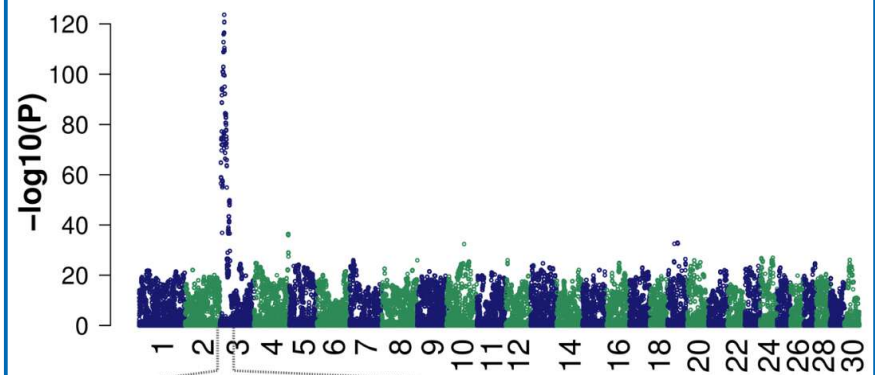
Sichtung der genomischen Variation zwischen Populationen – das «1000 bull genomes»-Projekt



Aufspüren schädlicher Sequenzvarianten mit phänotypgetriebenen Ansätzen



2. Genomweite Assoziationsstudie



Aufspüren schädlicher Sequenzvarianten mit genotypgetriebenen Ansätzen

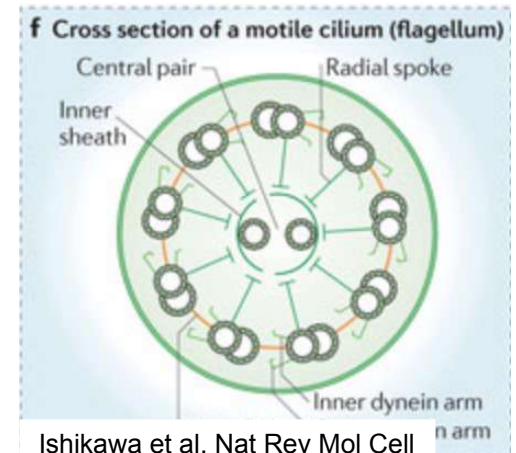
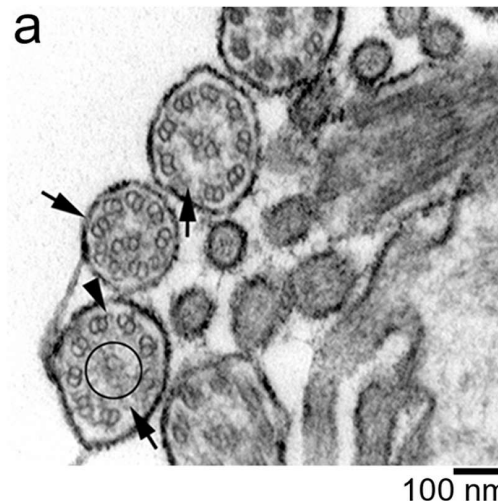
- Suche nach Haplotypen, die seltener als erwartet (oder gar nicht) homozygot zu finden sind
- Homozygotendefizit ist ein Anzeichen für erhöhte prä-, peri- oder postnatale Mortalität
 - Pränatal: HH1, HH2, BH1, FH4, JH1, MH1, MH2, ...
 - Perinatal: BH2, FH5, ...
 - Postnatal: FH2, AH1, ...
- Umfangreiche Genotypen notwendig
 - >100 000 genotypisierte Tiere notwendig um seltene (<1%) Haplotypen mit Homozygotiedefizit aufzuspüren

Braunvieh Haplotyp 2

- Haplotypenfrequenz liegt um 7%
- Hohe Sterblichkeit unmittelbar nach der Geburt und in den ersten Lebenstagen
- Homozygote Kälber sind (meist) untergewichtig und krankheitsanfällig
- Die ursächliche Mutation beeinträchtigt wahrscheinlich die Zilienfunktion (vgl. primäre ziliäre Dyskinesie)



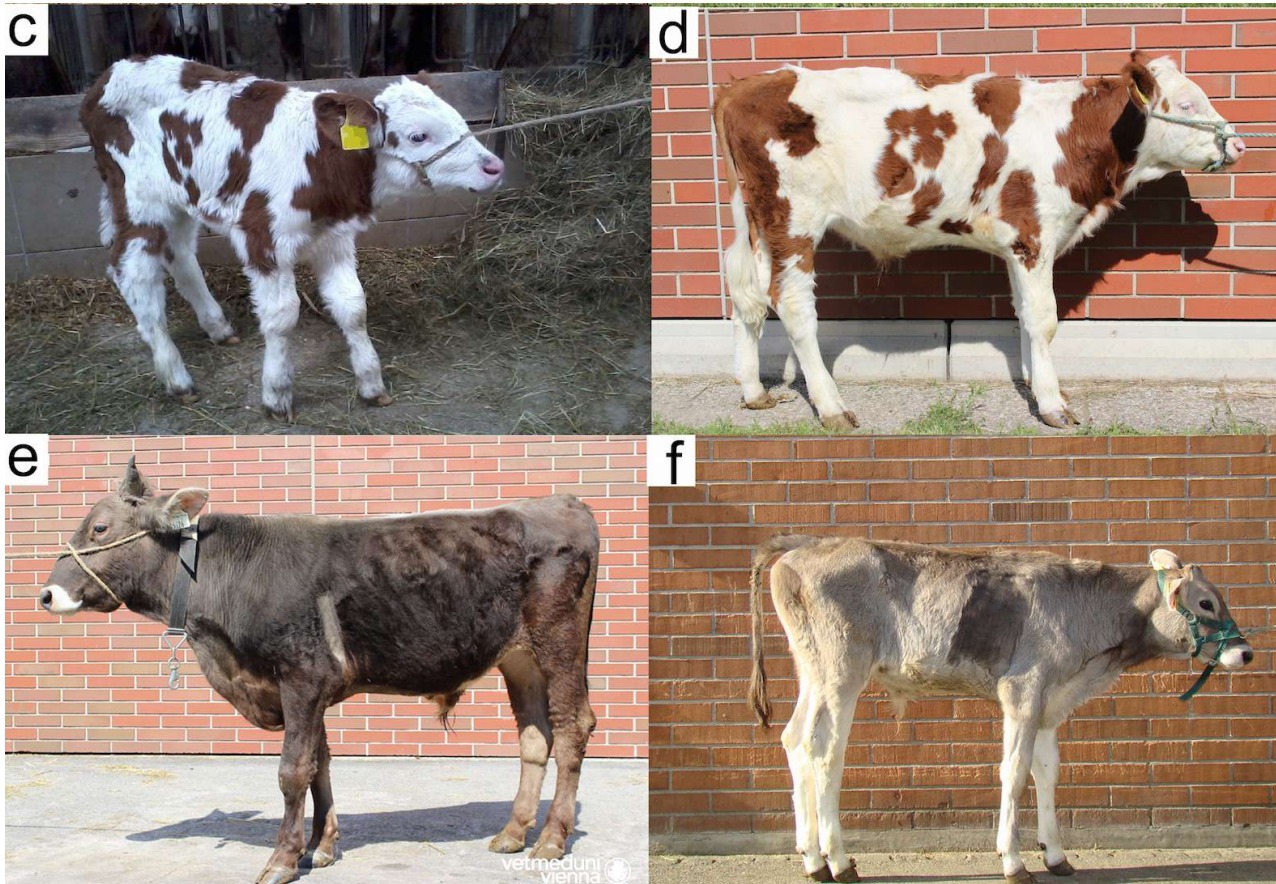
Tiergenomik | Institut für Agrarwissenschaften



Ishikawa et al. Nat Rev Mol Cell Biol. 2011;12:222-234

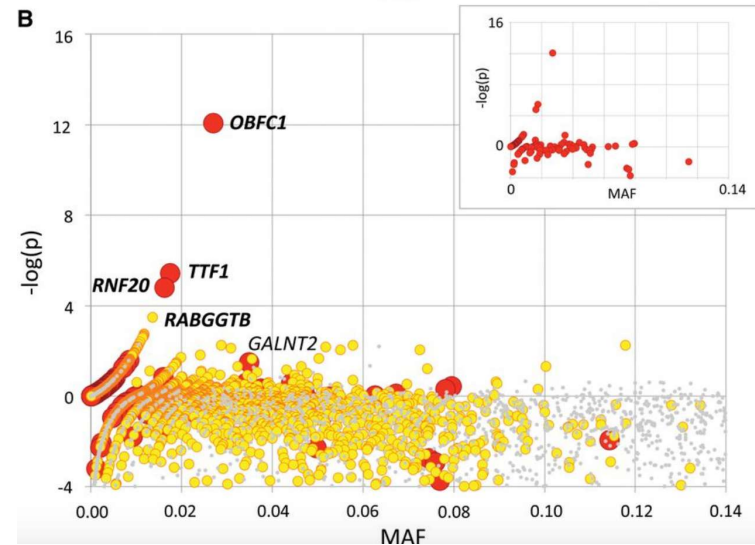
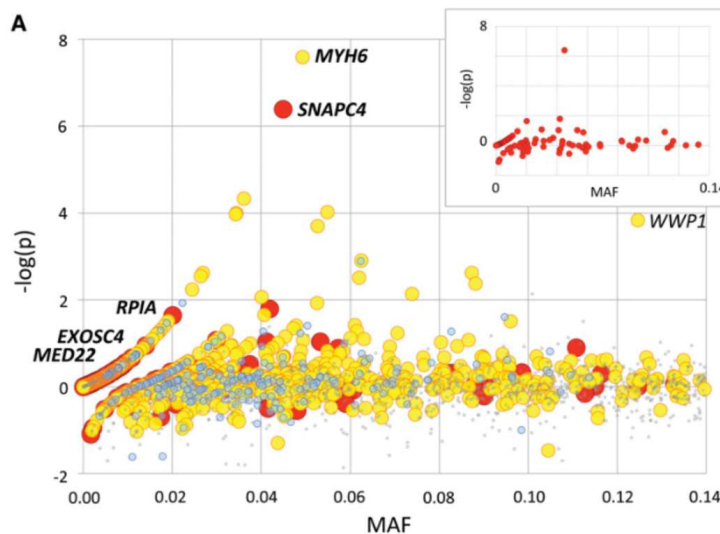
Braunvieh Haplotyp 2

- Haplotyp (mit der vermutlich ursächlichen Mutation) segregiert auch beim Fleckvieh



Aufspüren schädlicher Sequenzvarianten mit bioinformatischen Ansätzen

- Suche nach Sequenzvarianten, die mit hoher Wahrscheinlichkeit die Proteinfunktion beeinträchtigen
- Typisierung und Phänotypisierung in grossen Tierzahlen z.B. mit custom SNP arrays



Die Suche nach schädlichen Sequenzvarianten – lessons learned

- Allele, die im homozygoten Zustand letal sind oder zu schwerwiegenden Phänotypen führen sind allgegenwärtig
- Der Ausschluss von Anlageträgern aus der Zucht führt dazu, dass bislang nicht detektierbare Allele an Frequenz gewinnen und sich phänotypisch manifestieren
- Die aktive Suche nach schädlichen Varianten verlangt nach einer Kommunikationsstrategie sowie der nachhaltigen Berücksichtigung im Zuchtprogramm
- Schädliche Varianten segregieren teils über Rassen hinweg (BH2, FH2, MH1, ...)
- Schädliche Sequenzvarianten sind nicht immer rezessiv

Konsequenzen von *de-novo* Mutationen für das Zuchtprogramm

Chondrodysplasie (Bulldog)



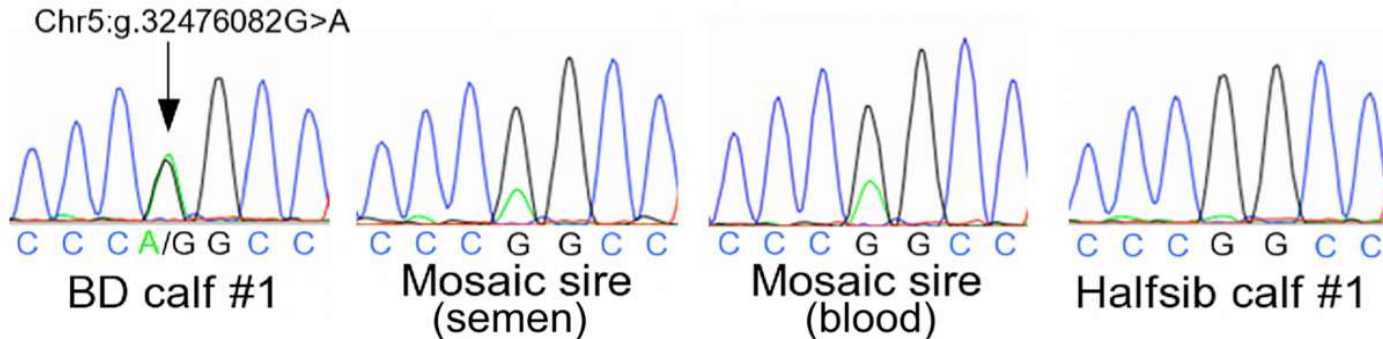
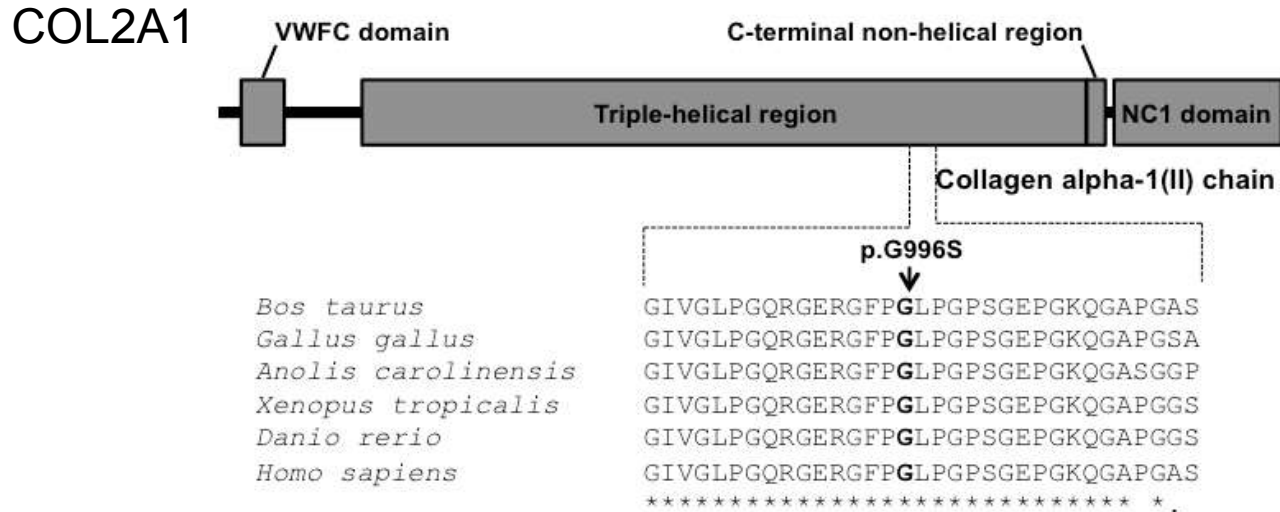
Nachkommen	Anzahl
Bulldog	57 (20.73%)
Gesund	218 (79.27%)
gesamt	275

Osteogenesis imperfecta

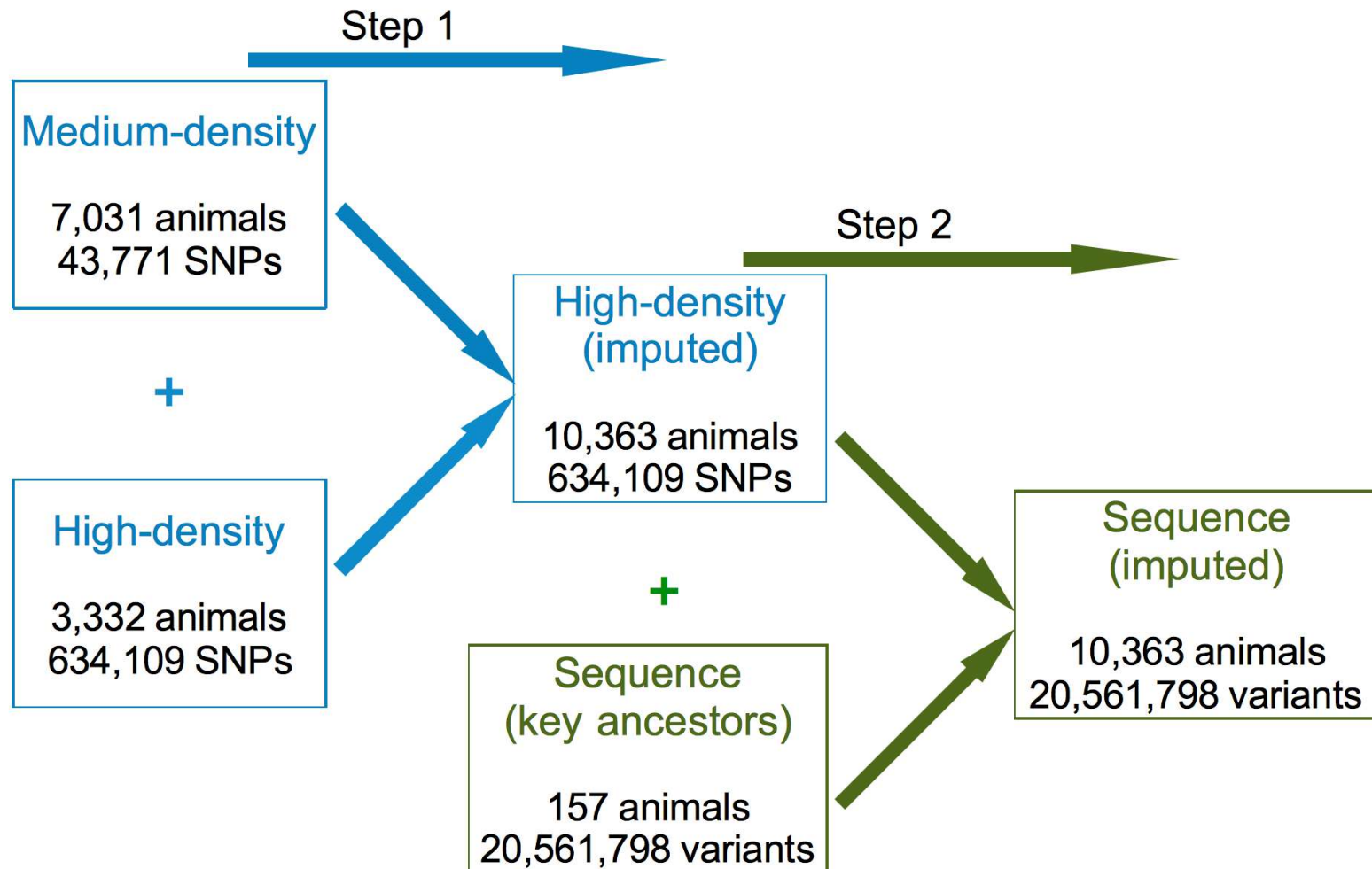


Nachkommen	Anzahl
Tot geboren oder verendet	140 (31.67%)
Gesund	302 (68.33%)
gesamt	442

Konsequenzen von *de-novo* Mutationen für das Zuchtprogramm



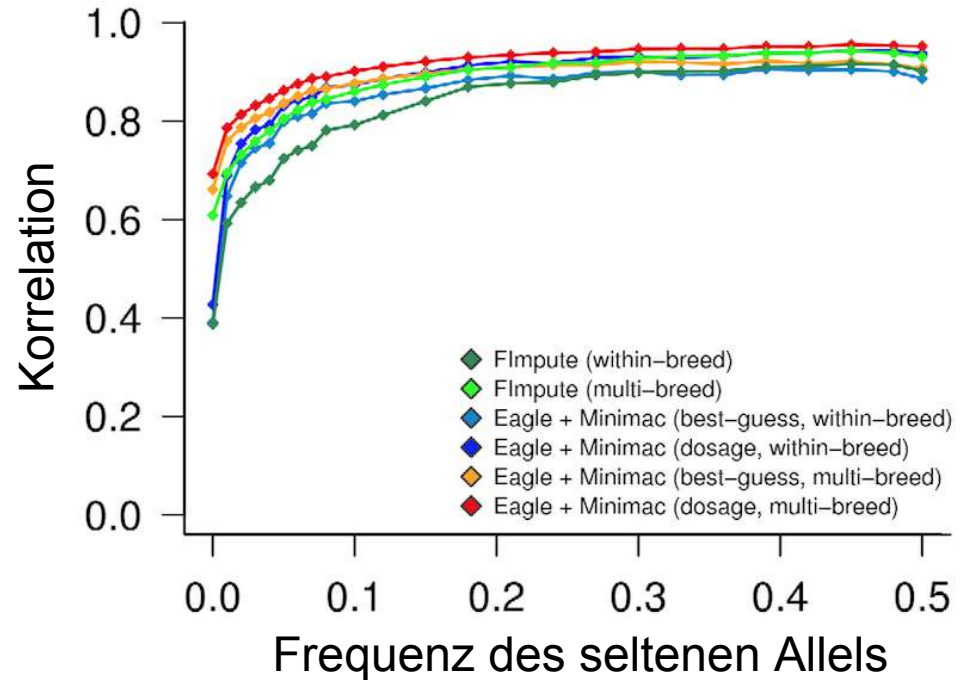
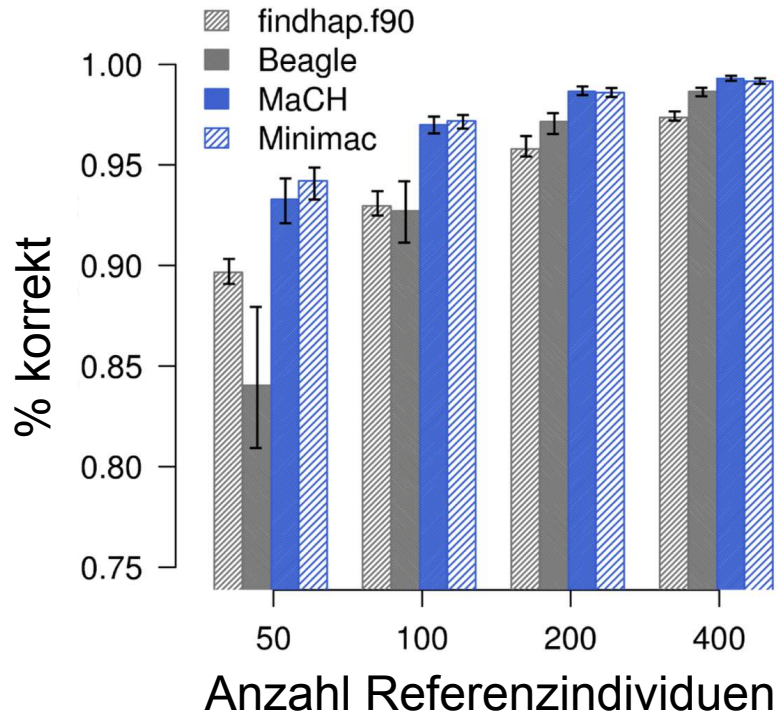
Populationsweite Imputation der Sequenz



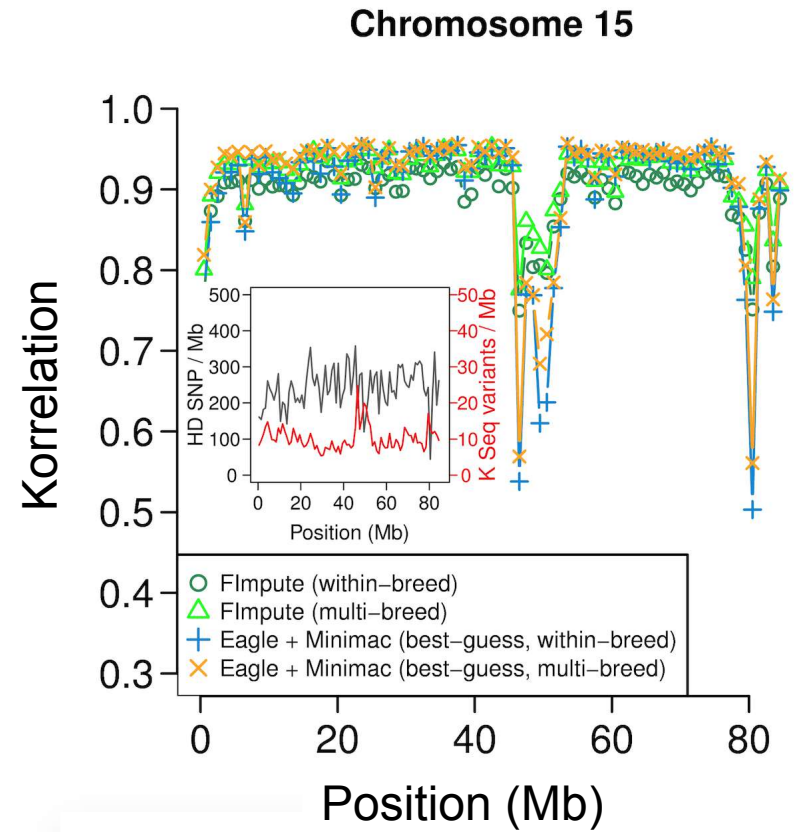
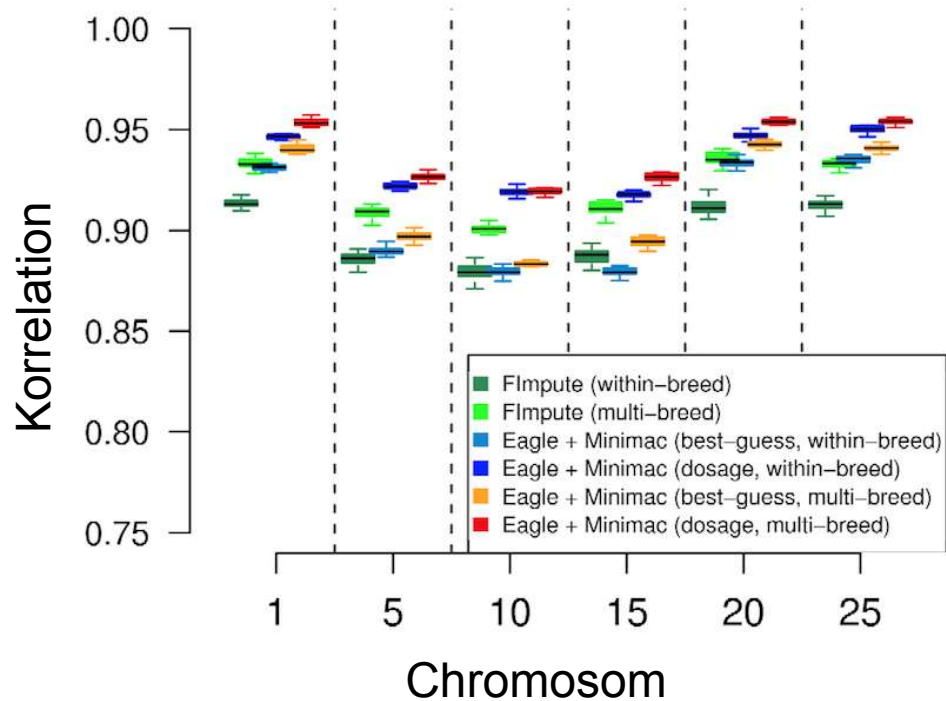
Populationsweite Imputation der Sequenz – offene Fragen

- Wie viele und welche Referenzindividuen (z.B. Schlüsseltiere) sind nötig?
- Sind multi-breed Referenzpopulationen hilfreich oder hinderlich?
- Welche Methoden sind genau und haben einen akzeptablen Rechenaufwand?
- Welchen Nutzen haben imputierte Sequenzvarianten?
 - Aufspüren kausaler Mutation in genomweiten Assoziationsstudien
 - Genomische Zuchtwertschätzung

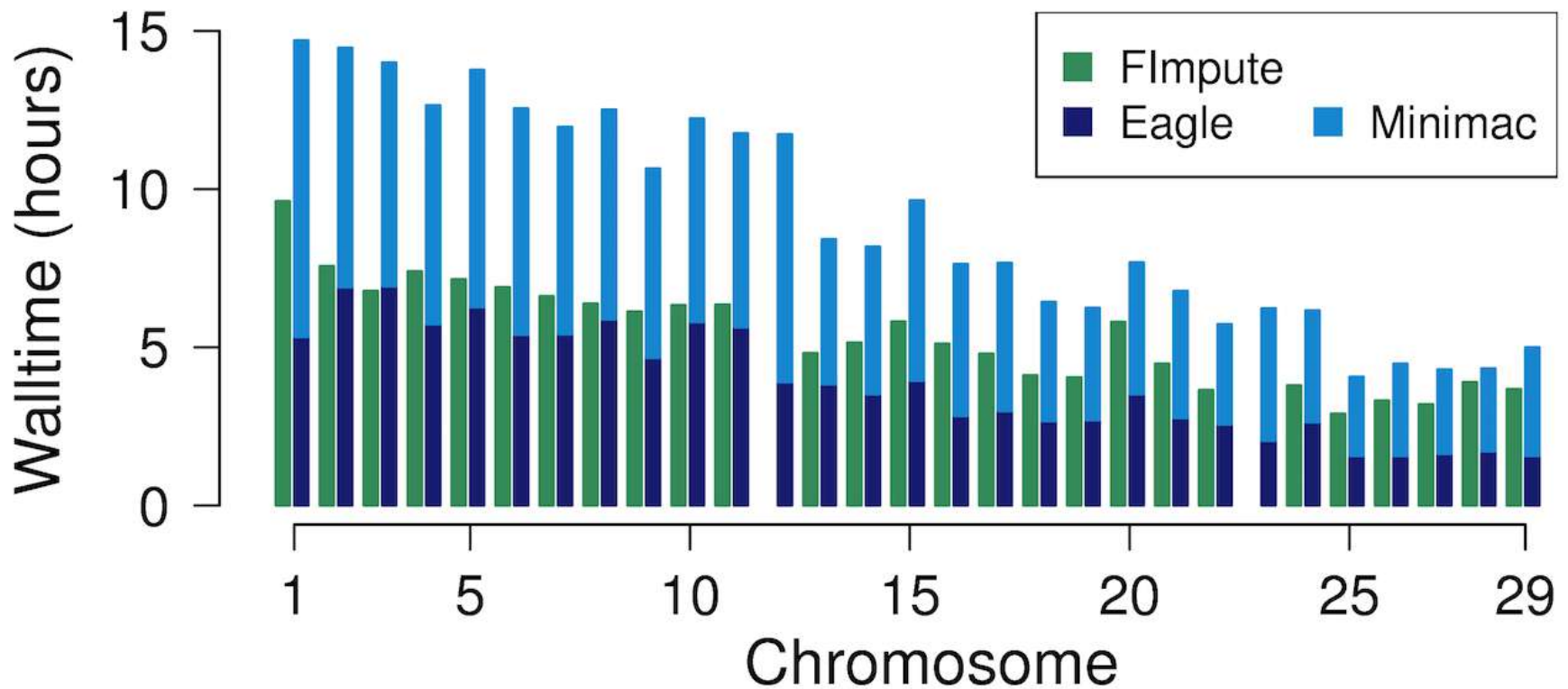
Effekt der Referenzpopulation und Allelfrequenz auf die Genauigkeit der imputierten Genotypen



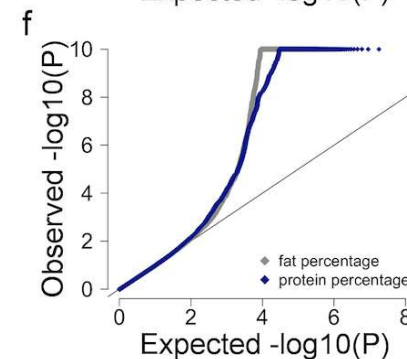
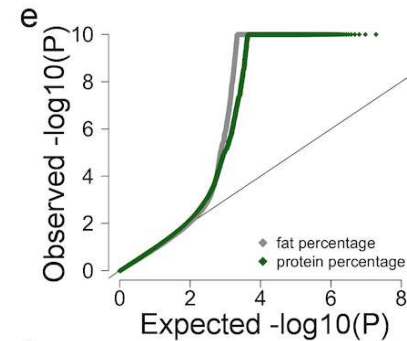
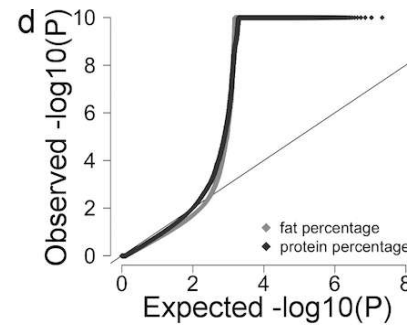
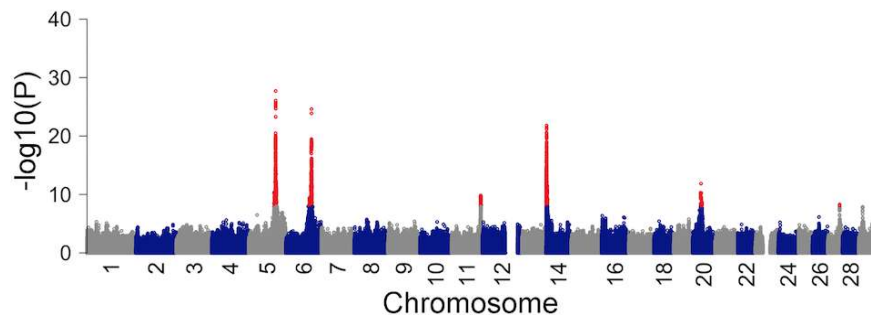
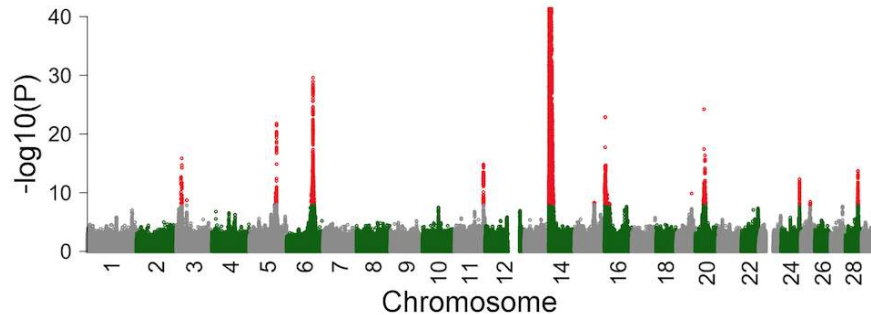
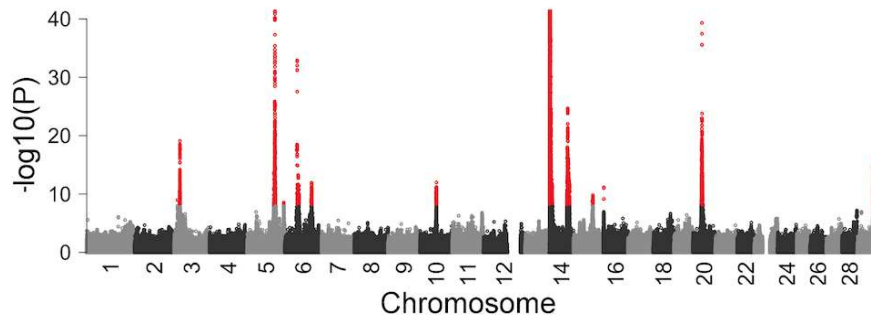
Auswirkung von Fehlern in der Referenzsequenz und grossen strukturellen Varianten auf die imputierten Genotypen



Rechenaufwand (7000 Tiere, 25 Mio Varianten)



Assoziationsstudien mit imputierten Sequenzvarianten



N_{HOL} : 8805 Tiere
18 Mio. Varianten

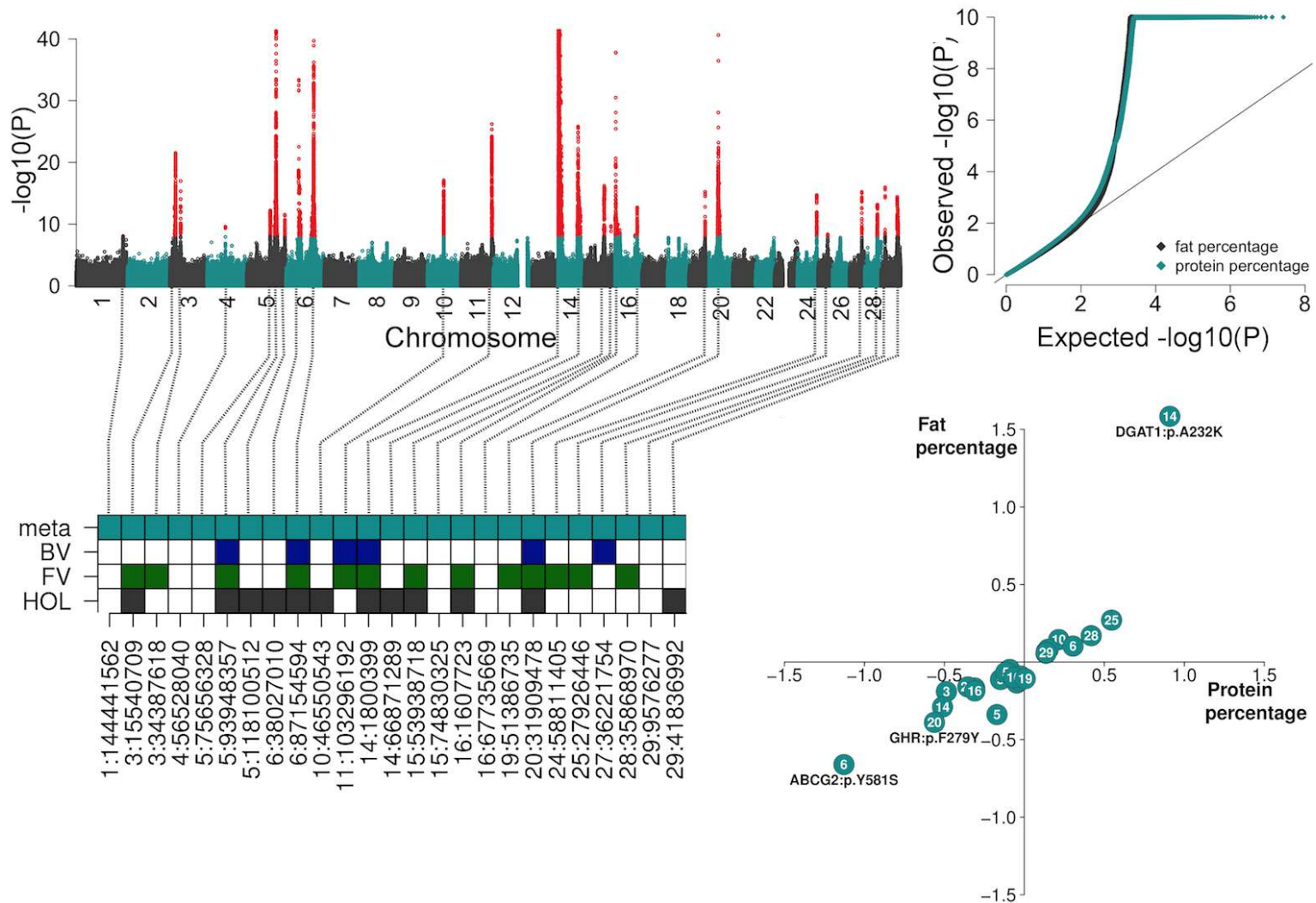
N_{FV} : 6778 Tiere
19 Mio. Varianten

N_{BV} : 1646 Tiere
18 Mio. Varianten

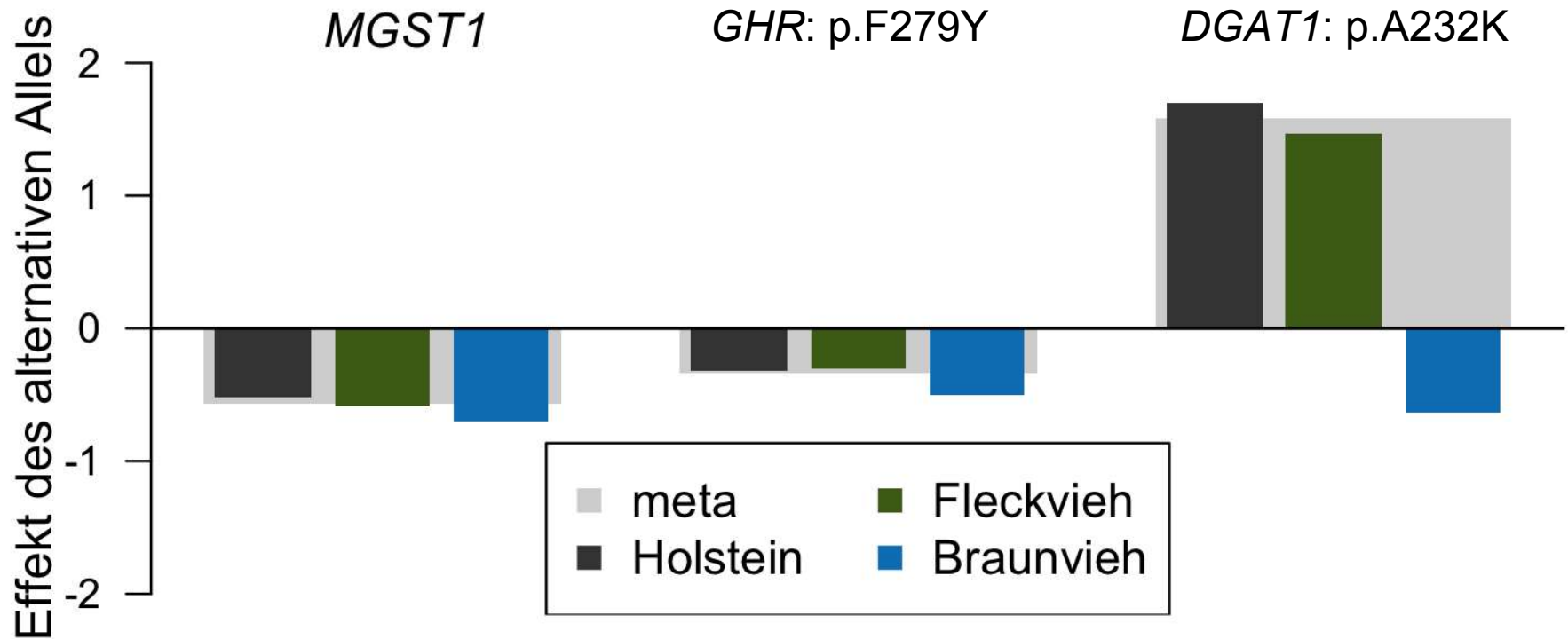
Meta-Analyse von Assoziationsstudien

- 17 229 Tiere
 - 8805 Holstein-Friesian
 - 6778 Fleckvieh
 - 1646 Braunvieh
- Töchterbasierte Phänotypen (DYD, EBV) für Fett- und Proteinprozent in Milch
- Etwa 28 Millionen Sequenzvarianten, die in mindestens einer Rasse mit einer Allelfrequenz $>0.5\%$ segregieren

Meta-Analyse von Assoziationsstudien



Substitutionseffekt der alternativen Allele

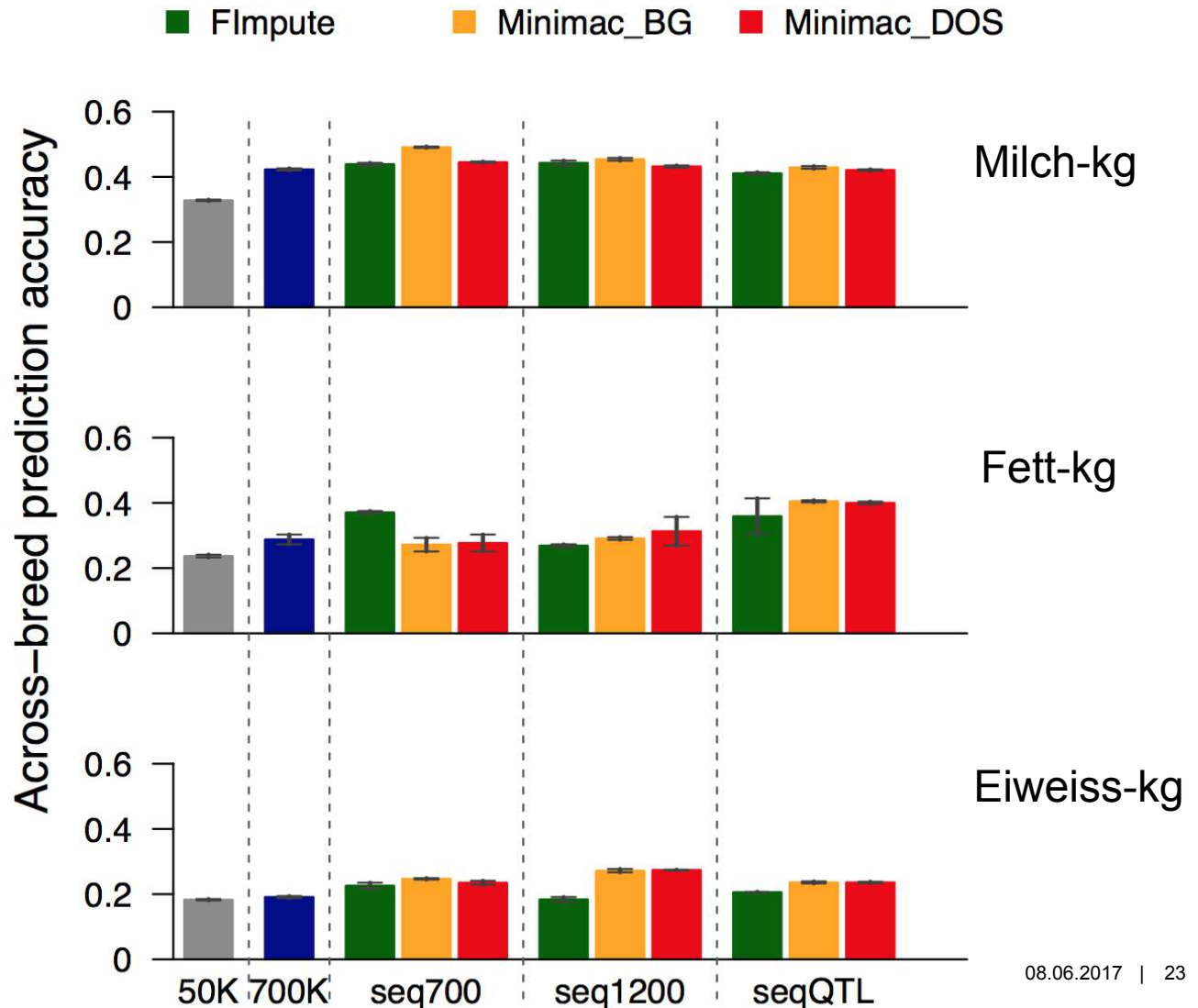


Widersprüchlicher Effekt der kausalen *DGAT1*-Mutation beim Braunvieh

- Die Lysin-Variante der p.A232K-Mutation in *DGAT1* ist praktisch nicht vorhanden beim Braunvieh
 - Nur 1 sequenziertes Tier (von 123) war heterozygot
- In der Referenzpopulation waren 1577 Tiere verschiedener Rassen
 - Es wurden 28 Mio. Varianten imputiert, die in BV, FV oder HOL polymorph waren
 - Die Lysin-Variante hatte eine Frequenz von etwa 18% in der Referenzpopulation
- Die Lysin-Variante hatte eine Frequenz von 7% in der imputierten BV Population ($r^2=0.02$)

Genomische Zuchtwertschätzung mit imputierter Sequenz

BayesR
 Referenz: 6700 FV Bullen
 Validierung: 500 HOL Bullen
 4 Wiederholungen



Zusammenfassung

- Mit der Sequenzierung einflussreicher Individuen wird die genomische Ausstattung von Populationen sehr gut abgebildet
- Genetische Besonderheiten und Erbfehler können meist sehr schnell und präzise aufgespürt werden
- Die populationsweite Imputation der Sequenz kann das Aufspüren von merkmalsassoziierten Varianten erleichtern
- Die genomischen Zuchtwerte werden durch die Berücksichtigung der Sequenz nicht (wesentlich) genauer

Limitationen der bisherigen Strategie

- Die gesamte genomische Variation einer Population kann mit der Sequenzierung von Schlüsseltieren nicht erfasst werden
- Langfristig können schädliche Varianten im Zuchtprogramm nur berücksichtigt werden, wenn auch die weiblichen Tiere genotypisiert sind
- Die imputierten Genotypen sind zu ungenau und erschweren/verzerrern deshalb Assoziationsstudien und die genomische Zuchtwertschätzung

Vielen Dank an...



Universität Zürich^{UZH}



Vielen Dank für Ihre Aufmerksamkeit!

ETH Zürich

Hubert Pausch

Tiergenomik

Institut für Agrarwissenschaften

Tannenstrasse 1 / TAN C2

CH-8092 Zürich

Phone: +41 44 632 73 84

hubert.pausch@usys.ethz.ch