

GENOMIKA - "STATUS QUO A QUO VADIS"

Je tomu relativně nedávno, co byli chovatelé seznámeni s novým odborným termínem **GENOMIKA**. Následně se objevila v různých materiálech pro chovatele série článků, vysvětlujících více či méně volně, co lze od zavedení genomického hodnocení do praxe čekat a co přinese aplikace nové technologie do odhadu plemenné hodnoty (dále jen OPH).

Podívejme se nyní s odstupem času na nejpodstatnější informace týkající se genomiky podrobněji - ze dvou z výchozích vědeckých prací, prezentovaných před časem odborníky. Informace jsou o to aktuálnější, že se nyní rozhoduje o způsobu zajištění genomického hodnocení a formách jeho "nastartování" i u nás.

A. Effect of Genomic Selection on National and International Genetic Evaluation (Van der Beek)

PODSTATNÉ CITACE Z ODSTAVCE "LITERATURA":

- Sax (v roce 1923) jako první ukázal cestu, jak lze využít markerů v genetice kvantitativních znaků
- Haley a Visscher (1998) již předvídají, že další vývoj v oblasti mapování markerů posune selekci do sféry celkové genetické selekce (MAS)
- Dekkers (2004) uvedl, že očekávání od komerční selekce s asistencí markerů se dosud nenaplnila

Z ODSTAVCE "GENOMICKÁ SELEKCE":

- v mezidobí došlo k naplnění 2 základních předpokladů pro praktické využití genomiky (*cenově přijatelná metoda získání podrobné analýzy genomu a počítačové vybavení, schopné počítat genomické plemenné hodnoty*)
- výhodou genomické selekce je, že tato metoda pracuje s předpokladem, že informace o genomu vysvětluje celý podíl genetické proměnlivosti na proměnlivosti celkové
- genomická selekce neproověřených jedinců s přesností 85% je ekvivalentní situaci, kdy znalost markerů objasňuje 50% proměnlivosti (se 100% přesností). Zbývajících 50% jde na vrub polygenům
- spolehlivost informace o polygenním účinku (rodokmenová hodnota, dále jen RH) u mladých zvířat je dosud cca 40%. S plným využitím informace o markerech (genomika) může stoupnout spolehlivost až na 84%
- genetický pokrok selekce, při kombinaci využití RH a genomiky, se může zvýšit o 19 - 31%. Při současném zahrnutí výsledků fenotypu (kontrola dědičnosti) pak až o 70%
- k tomu, abychom mohli při výpočtu OPH využít genomiku, potřebujeme nejprve vytvořit referenční populaci (*zvířata se známou KD a dostatečnou spolehlivostí OPH*)

Z ODSTAVCE "NÁRODNÍ GENETICKÉ HODNOCENÍ":

- neproověření býci se dosud selektovali podle RH (spol. cca 40% pro produkci, 30% pro vlastnosti fitness atd.). Genomiku lze považovat za další zdroj informací, vysvětlující až 25% proměnlivosti u vlastností produkce či fitness (s nárůstem spolehlivosti až na 65%)
- RH bude mít i následně vliv na vlastní hodnotu PH (*kratší dobu u produkce, kde rychle známe relativně spolehlivé výsledky, delší u vlastností fitness, kde na spolehlivé výsledky čekáme i roky*)

Z ODSTAVCE "MEZINÁRODNÍ GENETICKÁ HODNOCENÍ":

- je-li býk prověřen v zemi A, pak jeho PH v zemi B závisí na jeho RH v zemi B a náhodné mendelistické odchylce v zemi A. Vzhledem k tomu, že její hodnoty jsou při současném způsobu výpočtu PH podhodnoceny, přenáší se to i do odhadu PH v zemi B
- genomická selekce by měla znamenat snížení tohoto podhodnocení, především u znaků fitness

Z ODSTAVCE "BUDOUCNOST":

- v následujícím období budou paralelně existovat země, kde bude genomická selekce součástí národního hodnocení a země, kde nebude. To bude mít vliv i na mezinárodní genetická hodnocení. Interbull tomu bude muset přizpůsobit své výpočetní procedury a trendy (testruny), stejně jako metody zjišťující míru zkreslení OPH (bias)

B. Genomic Selection (M.E. Goddard, B.J. Hayes)

Z ODSTAVCE "ABSTRAKT":

- genomická selekce je formou selekce (MAS - marker-assisted selection), kdy je využito markerů s vlivem na celý genom, takže všechny QTL (quantitative trait loci) jsou ve zvláštní vazbě (disequilibrium) s nejméně jedním z markerů
- pod pojmem "disequilibrium" je myšlena nenáhodná asociace alel na dvou či více lokusech, ne nutně na stejném chromozomu. Jde o situaci, kdy se tato kombinace alel či genetických markerů objevuje v populaci častěji, než by se očekávalo na podkladě náhodného rozdělení. Míra nenáhodnosti mezi polymorphismy je měřena stupněm vazby disequilibrium (LD). Jde o číselné vyjádření rozdílu mezi očekávanými (považovanými za náhodné) a zjištěnými frekvencemi alel
- dosavadní limitované výsledky naznačují, že bude v budoucnu možné stanovit jen s pomocí genetických markerů OPH s vysokou přesností. Další úsilí ale musí být věnováno hodnocení efektu dopadu takto stanovených PH na populace s odlišnými podmínkami, v nichž lze očekávat odlišný efekt markerů, oproti efektu stanovenému v zemi původního stanovení

Z ODSTAVCE "ÚVOD":

- genomická selekce může přinést zpřesnění stávajících PH především u vlastností, u nichž je tradiční selekce nejobtížnější - u těch, jež můžeme vyhodnotit jen na podkladě projevu plemenic
- genomická selekce přispěje ke zkrácení generačního intervalu (umožní spolehlivější selekci jedinců a v mladším věku než dosud)
- technické vybavení (čipy) pro analýzu skotu jsou stále dokonalejší (SNP 10 000, SNP 50 000 atd.) a za stále dostupnější cenu. V případě lidské populace se již běžně využívají modely SNP 700 000...

Postup k dosažení maximální efektivity genomické selekce při kalkulaci OPH obsahuje 3 kroky:

1. s pomocí zjištěných markerů určit genotyp zvířete na každém QTL
2. stanovit efekty každého QTL genotypu na jednotlivé vyhodnocované znaky
3. sumarizovat všechny efekty QTL, s cílem získat genomickou PH (gPH)

Z ODSTAVCE "POUŽITÍ MARKERŮ KE STANOVENÍ GENOTYPU ZVÍŘETE":

- k přesnějšímu stanovení efektů QTL bude potřeba velkého počtu geneticky mapovaných jedinců populace, se známým fenotypem (OPH). Dle Meuwissena et al. (2001) je přesnost gPH pro vlastnost s dědivostí 0.5, při počtu 2000 jedinců, vyšší než při polovičním počtu jedinců. U vlastností s nižší dědivostí lze předpokládat potřebu ještě většího počtu zmapovaných jedinců

Z ODSTAVCE "ZAVÁDĚNÍ GENOMICKÉ SELEKCE":

- základem je vytvoření početného referenčního souboru jedinců se stanoveným SNP, jež mají známý fenotyp (KD) pro všechny relevantní znaky a vlastnosti
- poté jsou na podkladě informací z referenčního souboru přepočítávané odhady gPH i u neprověřených jedinců se známým SNP
- souběžně je potřeba, za účelem zjištění přesnosti nově vyvinutého hodnocení, provést ověření porovnáním výsledků s testačním souborem (velký počet jedinců se známými výsledky, jak KD, tak genomického hodnocení, pro vlastnosti a znaky, které budou publikovány a komerčně využívány)

Z ODSTAVCE "ZAVÁDĚNÍ GENOMICKÉ SELEKCE DO NÁRODNÍCH VÝPOČETNÍCH PROGRAMŮ":

- v krátké budoucnosti budou k dispozici u každého jedince informace z původu, z KD a z jeho genomické analýzy. Žádoucí kombinace všech tří informací by měla vést k přesnějším PH
- pro přinejmenším nejbližší roky existují i určité problémy. Míra zmapování jedinců populace bude velmi variabilní. Od těch, co mají genomické hodnocení v rámci stávajících možností kompletní, až po ty, co nemají žádné. Proto lze doporučit následující postup:

 1. v první fázi počítat OPH z obou zdrojů (původy + KD a původy + genomika) souběžně i odděleně a pomocí selekčního indexu oba OPH kombinovat do výsledné PH
 2. co nejrychleji zmapovat rozhodující část efektivní populace a počítat pouze genomické PH
 3. do kalkulace gPh zahrnout i jedince, jež nemají analýzu genomu. Tyto jedince lze využít, pokud již mají genotypované potomky. Tuto a druhou metodu lze kombinovat

- přepočty Interbullu nebudou plně kompatibilní do doby, než budou ve všech zahrnutých zemích použity obdobné postupy a přepočtové predikční rovnice

Z ODSTAVCE "ZAVÁDĚNÍ GENOMICKÉ SELEKCE PRO ŠLECHTITELSKÉ PROGRAMY":

- genomická selekce může teoreticky v budoucnu do určité míry nahradit stávající testační schemata. Znamenalo by to úsporu až 92% (Schaeffer 2006)

- genomická selekce bude znamenat, vzhledem k známým selekčním informacím v mnohem ranějším věku, zkrácení generačního intervalu. To povede k zvýšenému využití reprodukčních technologií, k zapouštění a využívání vybraných jedinců v ranějším věku (in vitro embryotransfer: Armstrong et al. 1997)

- referenční soubor jedinců by měl podmínkami, ve kterých proběhlo jeho prověření, co nejvíce odpovídat podmínkám, ve kterých budou fungovat neprověřeni jedinci, pouze s přepočtenou gPH

- stávající systém OPH stále ovlivňuje malá interakce genotypu(G) a životního prostředí(E). Pokud je genetická korelace u znaků produkce mezi dvěma zeměmi menší než 0,8, je v obou nutno selektovat na vlastní podmínky

- s využitím genomické selekce vzniká předpoklad stanovit přepočet gMACE PH (Interbull) pro všechny země, od nichž jsou dispozici informace (gPH). To může umožnit některým zemím upustit od vlastního šlechtění a plemeníky pro vlastní potřebu a podmínky nakupovat podle gMACE PH

Z ODSTAVCE "VYUŽITÍ GENETICKÝCH MARKERŮ PŘI PREDIKCI GENOMICKÝCH PH":

- ač ani predikce gPH nebude, z důvodu vlivu vnějšího prostředí, naprosto přesná, bude užitečná:

* jedinci budou obchodovatelní a využitelní v ještě ranější věku

* i jejich produkce (mléko, maso) může být potencionálně zpeněžována dle genetických markerů

* zvířata mohou být vybírána do konkrétních podmínek podle konkrétních genetických markerů

* k markerům lze přihlížet i při sestavování přípařovacího plánu (žádoucí neaditivní kombinace)

* na podkladě markerů bude prováděno ověřování původů

Literatura:

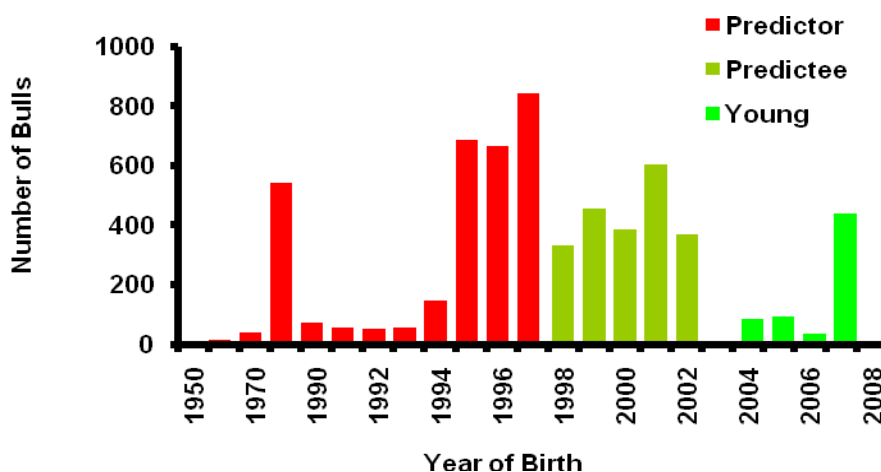
Goddard M.E. & Hayes B.J. 2007. Genomic selection. *J. Animal Breed. Genet.* ISSN 0931-2668

Sine van der Beek, Effect of Genomic Selection on National and International Genetic Evaluation, CRV, P.O. Box 454, 6800 Al Arnhem, The Netherlands

SOUČASNÁ SITUACE V USA

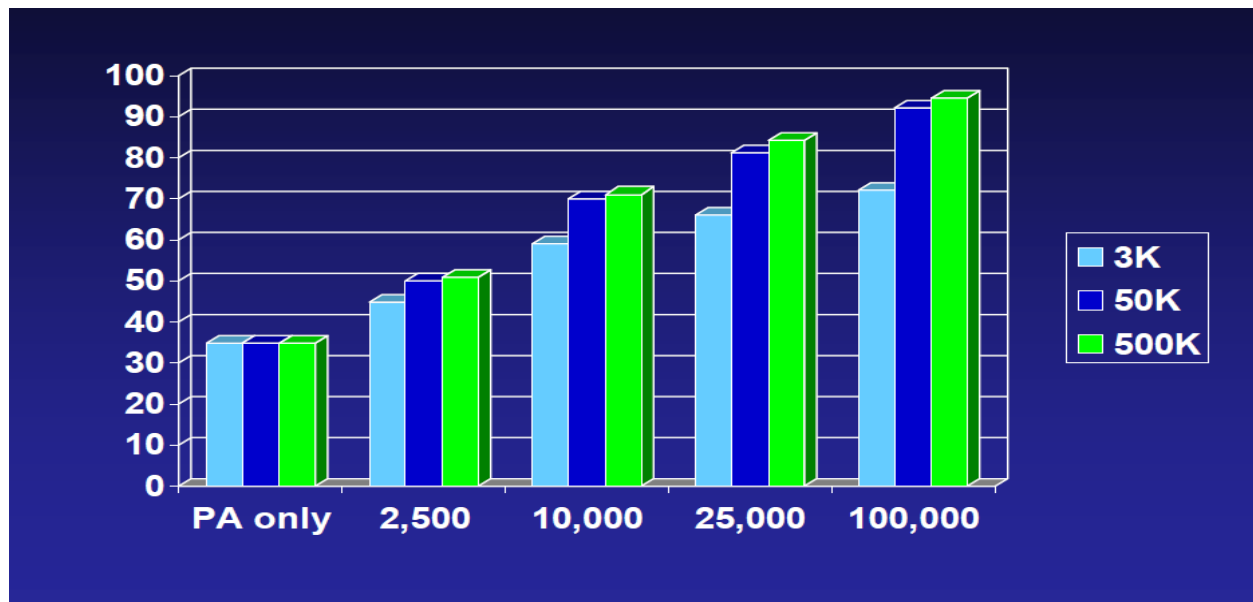
V současnosti existují dva silné, vzájemně si konkurující bloky zemí, které spolupracovali na vytvoření svých společných referenčních bází. Prvním je společenství USA a Kanada, druhým země Eurogenetics (Nizozemí, Skandinávie, Francie, Německo).

V případě USA a Kanady TVOŘILO počáteční referenční bázi na konci roku 2009 přes 30 tisíc jedinců, z toho přes 8500 doprověřených býků otestovaných chipem SNP 50 000. Rozložení ročníků ukazuje následující graf.



Po ověření dat bylo konstatováno, že gRH jsou přesnější než původní RH, jejich spolehlivost je vyšší (zvláště pro vlastnosti s nízkou h^2) a míra přesnosti a výše spolehlivosti bezprostředně souvisí s počtem genotypovaných jedinců a počtem SNP markerů (VanRaden et. al., 2009).

Následující tabulka stejného autora ukazuje simulaci počtu genotypovaných jedinců, potřebných při použití různě kapacitního chipu, potřebných k dosažení různého stupně spolehlivosti genomické PH pro znaky produkce:



Počet genotypovaných jedinců se od té doby neustále zvětšuje. V průběhu loňského roku překročil počet SNP všech kategorií v USA (plemeníci, plemenice) 50 tisíc. V následující tabulce je uveden náběh doprovázených jedinců (predictor) do referenční báze a rozprovořených jedinců (young) do celkové báze:

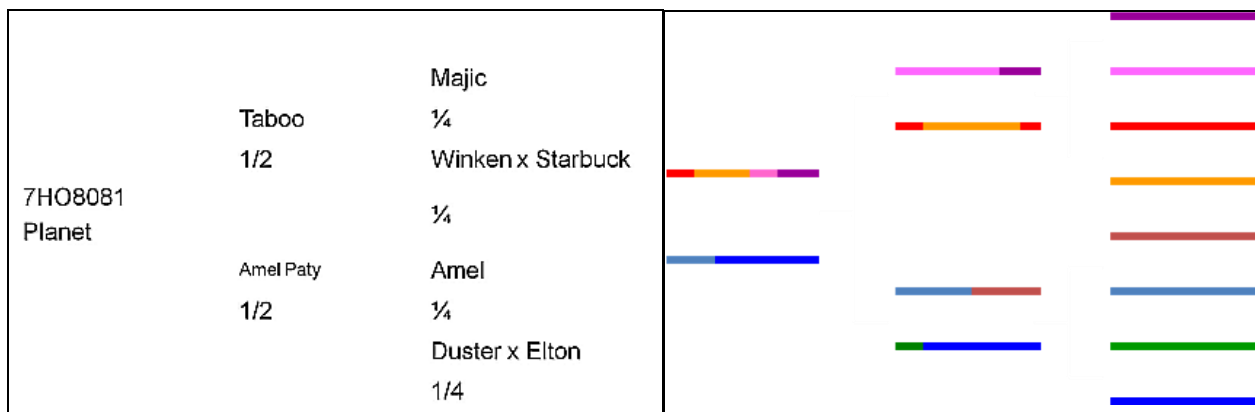
Breed	Evaluation release date	Predictor animals ^a		Young animals ^b		Animals with imputed genotypes	All animals
		Bulls	Cows	Bulls	Cows		
Holstein	April 2009	7,600	2,711	9,690	1,943	0	21,944
	June 2009	7,883	3,049	11,459	2,974	0	25,365
	August 2009	8,512	3,728	12,137	3,670	0	28,047
	October 2009	8,568	3,965	13,288	4,797	0	30,618
	January 2010	8,974	4,348	14,061	6,031	0	33,414
	February 2010	9,378	5,086	15,328	7,620	0	37,412
	April 2010	9,770	7,415	16,007	8,630	1,471	41,822
	May 2010	9,958	7,940	16,594	9,772	1,955	44,264
	June 2010	9,958	8,122	17,507	10,713	2,004	46,300
	July 2010	9,963	8,186	18,187	11,309	2,035	47,645
	August 2010	10,430	9,372	18,652	11,021	2,029	49,475
	September 2010	10,611	9,453	19,389	13,333	1,990	52,786

Dle posledních informací o různé formě přistoupení k tomuto bloku (USA, Kanada) uvažují Itálie a další země. Je to logické - býci z Kanady a USA tvoří převážnou část rodokmenů holštýnských plemenů většiny zemí světa.

Současně se změnou celého systému probíhá intenzivní vzdělávací kampaň, jejímž cílem je změnit u chovatelů dosavadní zažitý způsob chápání interpretace plemenářské práce. I pouhé vyjádření rodokmenové hodnoty vypadá po zavedení genomiky jinak. Zjednodušeně lze ukázat složitost celé situace na následujících dvou obrázcích.

Na prvním vidíme dosavadní, tradiční znázornění rodokmenu býka Planet, kdy se jeho rodokmenová hodnota rovnala polovině PH otce a polovině PH matky (PA, parent average). V pravé části obrázku vidíme jednu z forem nového genomického zobrazení.

Z obrázku je zřejmé, že naše dosavadní chápání ve smyslu, že jedinec dědí 50% svého genetického založení od obou svých rodičů, se po zavedení genomiky do praxe zásadně mění.



Genomické hodnocení v chovu skotu se rozvíjí nejen **jako další prostředek zpřesnění OPH**, ale současně se intenzivně pracuje i na jeho cenovém zpřístupnění chovatelům plemenic. To by mělo vést např. k dalšímu **zefektivnění selekce jalovic stáda** (použití sexovaného spermatu, ET, brakace podprůměrných jalovic stáda, nebo jejich využití jako recipientek).

Stejně tak **počítačové přípařovací plány budou** v nedaleké budoucnosti **pracovat nejen s genomickými hodnotami býků, ale i s genotypem plemenic stáda**.

Z pohledu holštýnského plemene pak **zavedení genomiky pomůže k eliminaci dalších recesivních genetických vad z populace, stejně jako k lepší kontrole stupně nakřížení z pohledu příbuzenské plemenitby**. Namísto dosavadní selekce matek býků jen z dosud používaného okruhu tzv. plemenařících stád se jejich vyhledávání posouvá i do kategorie velkých komerčních farem, nových rodin, outcrossových linií apod.

Přístup k nové metodě a zachování testace se různí, ale u firem vlastních WWS panuje shoda, že rozsah testace se v nejbližším období měnit nebude. Úvahy o případných změnách mohou být aktuální až po budoucím dalším zpřesnění gPH v důsledku současné selekce býků do testace již i na podkladě jejich genomického hodnocení. **Testace zůstává současně základním a jediným prostředkem ověření přesnosti a spolehlivosti stávajícího zapojení genomiky do plemenářské práce skotu.**

SITUACE U NÁS

Organizace zavádění genomického hodnocení se ujal svaz. Ke konci roku 2010 bylo nashromážděno 850 vzorků (cca 600 od prověřených býků). Ty byly analyzovány v Německu (50 tis. SNP). Sedmdesát procent vstupních nákladů financuje stát, zbytek svaz, jež se tak stává majitelem dat. Byla rovněž zahájena a úspěšně dokončena jednání o výměně genomických informací zahraničních býků (Polsko, Švýcarsko). Tím stoupl počet SNP na 2900. Získání genotypu býků těchto zemí nemá za cíl zvětšit referenční soubor, pouze jejich zahrnutím do národního výpočtu tento zpřesnit (matice příbuzností) a na jeho podkladě pak počítat gPH pro ČR.

Modelem výpočtu se již zabývá Prof. Příbyl (VUŽV). Jedná se o odlišný model, než používají v současnosti obě velká konzorcia (USA+Kanada, Eurogenomics). Vzhledem k relativně malému počtu doprovázených jednců v modelu lze očekávat vysokou korelaci u již prověřených býků jen minimální změny mezi současnou PH a gPH. Naopak u neprověřených býků nižší spolehlivost gPH a z ní vyplývající větší rozptyl (rozmezí rizika) nově prezentovaných gRH.

Ing. Vladimír Novotný, PhD.