



Yhteenveto

Golden Ring GR ry:n tilaaman MyDogDNA – perimän terveystarkoituksen & monimuotoisuusmittauksen tuloksista

Jonas Donner, FT
Tutkimusjohtaja
Genoscooper Oy

Marraskuu 2013, Helsinki



SISÄLLYSLUETTELO

JOHDANTO – KOIRAROTUJEN MONIMUOTOISUUS ON TÄRKEÄÄ SÄILYTTÄÄ	2
Tunnettuja sisäsiitoksen haittoja	2
Monimuotoisuus on lääke rodun perinnöllisten sairauksien vastustamisessa.....	3
KULTAINENNOUTAJA - PERIMÄN MONIMUOTOISUUSKARTOITUS 2013.....	4
Monimuotoisuuskartoituksen tavoite.....	4
Metodit monimuotoisuuden mittaamiseksi: yksittäisistä geenialueista kokonaisvaltaisempaan perimänlaajuiseen testaamiseen	4
Kartoituksen otanta	6
Perimänlaajuisen monimuotoisuuskartoituksen tulokset.....	6
Kultaistennoutajien monimuotoisuus verrattuna muihin MyDogDNA-tietokannan rotuihin.....	9
KULTAISTENNOUTAJIEN DLA-KARTOITUKSEN TULOKSET	10
DLA-alueen ja perimänlaajuisesti mitatun monimuotoisuuden koirakohtaisista eroista	1
DLA-analyysi paljasti suomalaisilla koirilla aiemmin tuntemattoman geeniduplikaation	2
YLI 100 SAIRAUDEN KANTAJUUDEN TESTAAMINEN RODUSSA ENSIMMÄISTÄ KERTAA	3
JOHTOPÄÄTÖKSET	4
LÄHTEET	5
LIITE 1: PERIMÄN TERVEYSKARTOITUS – LYHYT ESITTELY	7
LIITE 2: KOIRAKOHTAISET MONIMUOTOISUUSTULOKSET	8
LIITE 3: DLA-ALUE JA PERIMÄNLAAJUINEN MONIMUOTOISUUS	12
LIITE 5: TESTED HEREDITARY DISEASES IN GOLDEN RETRIEVERS.....	14



JOHDANTO

– KOIRAROTUJEN MONIMUOTOISUUS ON TÄRKEÄÄ SÄILYTTÄÄ

Koirien monimuotoisuudesta puhuttaessa voidaan viitata sekä yksittäisen koiran että kokonaisen koirarodun perimän muunteluun. Perimän muunteluun liittyvät samaperintäisyys (homotsygotia) ja eriperintäisyys (heterotsygotia). Heterotsygotia tarkoittaa yksilön vanhemmiltaan perimien alleelien erilaisuutta eli sitä, että yksilö on saanut itselleen erilaiset muodot samasta perimän kohdasta. Mitä monimuotoisempi koirarotu on, sitä useampia erilaisia geenimuotoja rodun yksilöt kantavat perimässään.

Koiran jalostukseen liittyy useita perimän monimuotoisuutta kaventavia ”pullonkaulailmiöitä”: lähisukulaisten parittaminen (sukusiitos), linjajalostus, kapea jalostuspohja, rodun matadorit. Olennaisesti rotujen monimuotoisuuteen vaikuttaa myös niiden lähtötilanne: monet rodut on perustettu muutamien koirien avulla. Puhutaan perustajavaikutuksesta, jolla viitataan kapeaan geenipooliin jo rodun perustamisvaiheessa. Pullonkaulailmiöt laskevat perimän muuntelun määrää roduissa ja näin konkreettisesti supistavat rodun geenipoolia ja perintötekijöiden kirjoa.

Tunnettuja sisäsiitoksen haittoja

Kun toistuvasti sallitaan vain pienen määrän yksilöitä viedä geenejään eteenpäin, pienennetään samalla joka sukupolvessa eri geenimuotojen kirjoa. Ensimmäiset todisteet sisäsiitoksen haitoista löysi jo Charles Darwin tutkiessaan kasvien pölytysmekanismeja. Darwin totesi ristipölytyksen olevan edullinen kasveille ja parantavan niiden elinvoimaa ja kelpoisuutta. Sisäsiitos vähentää selviytymiseen vaadittavia ominaisuuksia ja sisäsiitosisä populaatioissa on todettu esiintyvän useammin merkittäviä poikkeavuuksia. Tällaisia poikkeavuuksia ovat erilaiset kehityshäiriöt, geneettiset sairaudet sekä letaalit tekijät. Näiden lisäksi sisäsiitosisä vähentää hedelmällisyyttä, laskee selviämisen todennäköisyyttä sekä huonontaa yksilön kasvua. Sisäsiitoksen haitat yksilölle ovat suoraan seurausta homotsygotian lisääntymisestä, sillä se paljastaa peittyviä periytyviä haitallisia geenejä. Homotsygotiassa yksilö on siis saanut samanlaiset alleelit molemmilta vanhemmiltaan.

Lisääntynyt homotsygotia vaikuttaa yksilön elinvoimaan joko osittain resessiivisten mutaatioiden kautta tai homotsygotian esiintyessä alueella, jossa heterotsygotiasta olisi yksilölle enemmän hyötyä (ylidominanssi). Homotsygotian on sekä kasveilla että eläimillä todettu vaikuttavan hedelmällisyyttä laskevasti muun muassa letaalien tekijöiden kautta. Resessiiviset letaalitekijät johtavat homotsygooteina yksilön kuolemaan usein jo sikiöaikana. On myös löydetty mutaatioita, jotka voivat aiheuttaa steriiliyttä. ⁽¹⁾ Muun muassa erittäin sisäsiitosisä beaglepopulaatiota tutkittaessa on todettu korrelaatio pentuajan kuolleisuuden ja sisäsiitosisä välillä ⁽²⁾. Myös kettukoirailla ⁽³⁾ ja irlanninsusikoirailla ⁽⁴⁾ on tutkittu sisäsiitosisä asteen vaikuttavan pentuekokoon. Elinvoimaisuuden lisäksi heterotsygotian vähenemisen seurauksia on tutkittu bouviereilla. Tutkimuksessa havaittiin positiivinen korrelaatio homotsygotia-asteen ja ruoka-allergian, osteokondroosin, autoimmuunisairauksien, neoplasian sekä henkitorven epämuodostuman välillä. ⁽⁵⁾



Monimuotoisuus on lääke rodun perinnöllisten sairauksien vastustamisessa

Resessiivisiä mutaatioita on mahdollista karsia rodusta yksittäisille sairauksille kehitettyjen geenitestien avulla. Ylläpitämällä ja lisäämällä rodun monimuotoisuutta on kuitenkin mahdollista jo etukäteen vastustaa perinnöllisten sairauksien rikastumista ja ilmenemistä. Resessiivisesti eli peittyvästi periytyvien tautien kohdalla heterotsygotia estää tautien ilmenemistä; kantajat, joilla on perimässään sekä yksi kopio geenivirheestä että yksi normaalisti toimiva geenimuoto, eivät yleensä sairastu. Ihanteellisesti sairauksien geenitestaus ja monimuotoisuuden seuraaminen rodussa kulkevat käsikädessä, sillä ilman toista saatavilla on osin puutteellinen informaatio.

Monitekijäisten sairauksien kohdalla geenimuotojen kirjo laskee todennäköisyyttä sille, että kaikki sairastumisriskiä lisäävät geenimuodot kasaantuisivat yksilölle samalla kertaa. Monigeenisten sairauksien karsiminen geenitestien avulla rodusta on haastavaa, jollei jopa mahdotonta, vaarantamatta samalla rodun monimuotoisuutta, sillä useampia riskigeenejä löytyy usein joka yksilöstä. Riskigeenistä vapaata parittelua kumppania voi olla mahdotonta löytää. Vastaava haaste nousee roduissa samanaikaisesti esiintyvistä monista resessiivistä sairauksista, joiden yhtäaikainen karsiminen voi olla vaikeaa menettämättä monimuotoisuutta. Sopivat urokset ja nartut voivat käydä vähiin.

Monestakin syystä jalostuksessa on keskityttävä nimenomaan rodun monimuotoisuuden kehittämiseen sairausgeenien karsimisen rinnalla.

Jalostuseläinten monimuotoisuudesta on säädetty kansainvälisellä tasolla jo vuonna 1992. YK:n biodiversiteettisopimuksessa asetettiin tuolloin tavoitteeksi jalostuseläinten monimuotoisuuden suojeleminen. Nyt, runsaat 20 vuotta myöhemmin, monimuotoisuuden perimänlaajuinen mittaaminen voidaan vihdoinkin tuoda apuvälineeksi koirien jalostukseen perinnöllisten sairauksien vähentämiseksi.



KULTAINENNOUTAJA - PERIMÄN MONIMUOTOISUUSKARTOITUS 2013

Monimuotoisuuskartoituksen tavoite

Kultaisetnoutajat ovat yksi suosituimpia koirarotuja maailmanlaajuisesti ja myös Suomessa vuosittaisilla rekisteröintimäärillä mitattuna kolmen suurimman rodun joukossa. Kuitenkin vain pieni osa kultaistennoutajien lukumäärästä on aktiivisessa jalostuskäytössä, ja tämä oli huolestuttanut rotuyhdistys Golden Ring ry:tä jo pitkän aikaa. Niinpä vuonna 2012 yhdistys totesi tarvitsevänsä monimuotoisuuskartoituksen rodun tilasta, jonka pohjalta saataisiin konkreettista mitattua tietoa rodun perimän terveydestä jalostusohjeiden ja -tavoitteiden päivittämiseksi. Pelkkä sukutauluihin perustuva todennäköisyyslaskenta ei välttämättä kerro rodun perimän todellisesta tilanteesta. Tarkemman kuvan saa hyödyntämällä uuden sukupolven geeniteknologioita, jotka muuttavat koiranjalostusta enemmän geenitietopohjaiseksi.

Metodit monimuotoisuuden mittaamiseksi: yksittäisistä geenialueista kokonaisvaltaisempaan perimänlaajuiseen testaamiseen

Koiran perimä muodostuu kahdesta vanhemmilta peritystä kromosomiparista. Nämä parit poikkeavat koirassa toisistaan keskimäärin reilussa 2 miljoonassa eri perimän kohdassa. Poikkeamat kromosomien välillä voivat olla yhden tai useamman emäksen (nukleotidin) muutoksia. Näitä muutoksia voidaan testata monella eri tavalla ja samalla ne mittaavat perimän monimuotoisuutta ja saatua tietoa voidaan hyödyntää rodun perimän rakenteen kartoittamiseen.

Monien koirarotujen monimuotoisuutta on mitattu aiemmin esimerkiksi mikrosatelliittimarkkereiden tai DLA (dog leukocyte antigen) -kartoituksen avulla. DLA-kartoitus perustuu yksilöiden MHC-alueen (major histocompatibility complex) eli kudosten yhteensopivuuskompleksialueen geenien analyysiin. Analyysi rajoittuu yhteen perimän alueeseen, jossa on lukuisia immuunipuolustuksen keskeisiä geenejä.

DLA-alueen geenit ovat tavallista monimuotoisempia ja alueen muuntelu on tärkeää mm. yksilön ja populaation immuunipuolustuksen ja sopeutumisen kannalta. DLA-muotojen vähäisen määrän on aikaisemman tutkimuksen perusteella todettu aiheuttavan heikompaa vastustuskykyä. Sisäsiittoinen jalostaminen karsii DLA-alueen monimuotoisuutta ja voi vaarantaa rodun hyvinvoinnin ja altistaa mm. autoimmuunisairauksille.

Populaation historia vaikuttaa DLA-alueen monimuotoisuuteen ja sen on ajateltu heijastelevan yleisemminkin rodun monimuotoisuutta. DLA-alue on kuitenkin täynnä toiminnallisia geenejä ja sen monimuotoisuuden ylläpitämiseen liittyy monia mekanismeja, joita ei ole muilla perimän alueilla. Tutkijat ovatkin erimielisiä siitä, missä määrin DLA-alueen voidaan sanoa heijastavan koko perimän monimuotoisuutta. Luonnosta löytyy esimerkkejä hyvin pienistä populaatioista, joiden muu perimä on hyvin kapea, mutta yllättäen DLA-geenien monimuotoisuus ennustettua korkeampaa. Pelkkä DLA-testaaminen ei anna tarvittavaa kokonaisvaltaista kuvaa perimän monimuotoisuudesta.

Monimuotoisuuden suunnitelmallinen kehittäminen rodussa onnistuu parhaiten, kun testataan kaikki 39 kromosomiparia. Tarvitaan siis perimänlaajuinen geenitesti, joka mittaa monimuotoisuuden



riittävällä tarkkuudella. MyDogDNA–testauskonsepti sisältää maailman ensimmäisen kattavan perimänlaajuisen monimuotoisuusanalyysin. Sen avulla rotujen nykyinen tilanne voidaan kartoittaa tehokkaasti ja seurata kehitystä sukupolvesta toiseen.

DLA-alueen lisäksi kultaistennoutajien monimuotoisuus mitattiin perimänlaajuisesti. Samalla koirista testattiin myös yli 100 tunnettua mutaatiota eri perinnöllisissä sairauksissa. Kaikkia rodussa testattavissa olevia perinnöllisiä sairauksia ei kuitenkaan vielä pystytty testaamaan yhdellä kertaa. Lisäksi on muistettava, että koko rodun tunnettua tautiperimää ei edes pystytä testaamaan.

Kultaistennoutajien monimuotoisuuskartoituksen tulosten katselmointiin osallistui myös muita tutkimustahoja. DLA-analyysin tulosten osalta haplotyyppitiedot jaettiin myös Helsingin Yliopiston professori Hannes Lohelle sekä Manchesterin yliopiston tutkija Lorna Kennedylle. Perimänlaajuisen monimuotoisuuskartoituksen osalta tulosten tulkinnassa huomioitiin niin ikään professori Lohen kommentit.



Kartoituksen otanta

Rotuyhdistys keräsi vuoden 2012 aikana verinäytteitä suunnitelmallisesti 100:sta koirasta pyrkien valikoimaan testattavaksi mahdollisimman monipuolisen ja kattavan otannan eri kasvattajien eri sukulinjoista. Otannan kriteerit olivat:

- tutkimukseen otetaan koiria kaikista mahdollisista linjoista ja suvuista mahdollisimman kattavasti
- pyritään valitsemaan koiria, joilla ei ole samoja vanhempia eikä edes samoja isovanhempia
- jalostusikäisiä, PEVISA-ehdot täyttäviä koiria
- max. 1 koira/pentue
- koiran tulee olla FI-rekisterissä
- tuontikoirat mukaan

Kriteereistä on jonkin verran joustettu, jos on koettu, että niistä poikkeamalla saadaan rodun kannalta merkityksellinen koira mukaan tutkimukseen. Tämä otanta sisälsi siis myös tarkoituksella valikoituja käyttö- ja näyttelylinjaisia koiria, jotta olisi mahdollista tarkastella myös eri linjojen perimän eroavaisuuksia ja monimuotoisuutta. Sadan koiran lisäksi Golden Ring tarjosi jäsenistölleen mahdollisuuden osallistua otannan ulkopuolelle jääneillä koirilla ja näitä ilmoittautuikin mukaan 19 koira lisää.

DLA-tulokset ovat saatavilla 120 koirasta ja perimänlaajuisen analyysin tulokset 113 myös DLA-analysoidusta koirasta (tämän raportin aikana 7 koira oli vielä uusinta-analyysissa). Kaikki yhdistyksen listaamat testatut koirat on rekisteröity Suomessa. Kaiken kaikkiaan MyDogDNA-tietokannassa on 119 kultaisennoutajan tulokset.

Perimänlaajuisen monimuotoisuuskartoituksen tulokset

Yksittäisten koirien ja koko rodun mitattu monimuotoisuus ja testatut perinnölliset sairaudet sekä ominaisuudet tallennettiin uuteen MyDogDNA-tietokantaan. Tietokanta mahdollistaa rodun tilanteen monipuolisen ja reaaliaikaisen seurannan jatkossakin sitä mukaa kun uusia testattuja yksilöitä saadaan lisää.

Perimänlaajuisessa monimuotoisuuskartoituksessa rodun heterotsygotia-asteeksi saatiin 0,255 eli keskimäärin 25,5% koirilta testatuista lokuksista on heterotsygootteja. Heterotsygotia-arvot vaihtelevat kartoitukseen osallistuneilla kultaisillanoutajilla välillä 0,226 – 0,316. Valtapopulaation eli näyttelylinjaisten koirien heterotsygotia on keskimäärin 0,253 (mediaani) (0,226-0,301) ja käyttölinjaisten koirien heterotsygotia on keskimäärin 0,286 (0,257-0,316).

Perimänlaajuisen monimuotoisuuden kuvaajassa (Kuva 1) heterotsygotia-arvot näkyvät kahtena huippuna. Rodun populaatorakenne testattujen koirien mukaisesti näkyy kuvassa 2. Siinä on verrattu yksilöiden perimän eroavaisuuksia toisiinsa. Mitä samankaltaisemmat perimät, sitä lähempänä koirat ovat toisiaan kuvaajassa. Tämän analyysin avulla pystyttiin yhdistämään kuvan 1 kaksi eri huippua rodun kahteen kasvatuslinjaan, näyttely- ja käyttölinjaisiin koiriin. Korkeampi huippu kuvastaa pääosaa kannasta (n=106, heterotsygotia 25,3%). Pienemmän huipun muodostavat käyttölinjaiset koirat (n=13, heterotsygotia 28,6%). Käyttölinjaisten koirien perimä näyttäisi siis olevan monimuotoisempi kuin valtapopulaation koirien. Käyttölinjan keskimääräinen



heterotsygotiataso on korkeampi ja koirat ovat keskinäisessä perimän vertailussa myös etäämmällä toisistaan eli niiden perimät eroavat enemmän toisistaan (kuva 2). Näyttelylinjaiset muodostavat tiiviin ryppään. Koska käyttölinjaisten otanta on kuitenkin hyvin pieni, yksilöitä pitäisi testata lisää kattavamman linjakohtaisen monimuotoisuuskuvan saamiseksi. Kiinnostavaa olisi myös nähdä miten eri maiden populaatiot erottuisivat rodun perimän rakennetta esittävässä kuvaajissa.

Monimuotoisuus analyysi tunnistaa rodusta kaksi linjakohtaista alapopulaatiota, jotka eroavat perimältään toisistaan selvästi. "Uutta verta" eli monimuotoisuutta kokonaisuutena rotuun saisi esimerkiksi sekoittamalla linjoja tehokkaammin keskenään.

Rodun koirilla voi olla erilaisia käyttötarkoituksia, seuralaisesta palveluskoiraksi. Jalostukseen valitaan haluttuja ominaisuuksia hyvin ilmentäviä koiria. Eri linjojen yhdistäminen voi olla haastavaa, jos halutaan kehittää esim. käyttöominaisuuksia. Monimuotoisuutta pitää etsiä silloin linjan sisältä, esimerkiksi tutkimalla eri maiden linjojen erilaisuutta ja yhdistämällä sitten erilaisia perimiä keskenään monimuotoisuuden kehittämiseksi. Kuten tämäkin tutkimus osoittaa, MyDogDNA testikokonaisuus antaa tähän ainutlaatuisen mahdollisuuden.

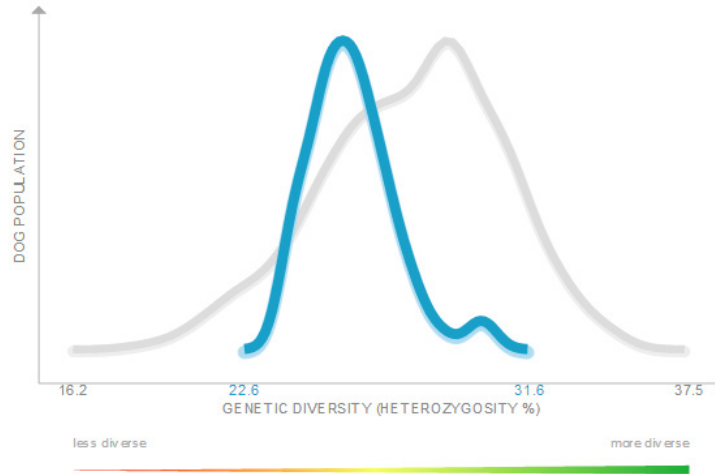


Golden Retriever



Heterozygosity
Median (breed): 25.5%
Median (all dogs): 28.6%

■ All dogs
■ Tested dogs within breed
> 100



Kuva 1. Geneettinen monimuotoisuus. Kuvaaja havainnollistaa heterotsygotia-asteen jakaumaa rodussa. Suurimmalla osalla yksilöistä on heterotsygotia-aste, joka sijaitsee käyrän huipun kohdalla. Kultaisenoutajan geneettinen monimuotoisuus sinisellä käyrällä. Harmaa käyrä kuvastaa kaikkien MyDogDNA-tietokannasta 07.10.2013 löytyvien koirien monimuotoisuutta.



Kuva 2. Yksilöiden geneettiset eroavaisuudet. Kuvaaja kertoo, kuinka samankaltaisia tai erilaisia koirien perimät ovat. Kuvaajasta voidaan erottaa kaksi toisistaan eroavaa alapopulaatiota. Purppuranväriset pallot kuvaavat valtapopulaation koiria (n=106) ja vihreät pallot käyttölinjaisia koiria (n=13). (07.10.2013)



Kultaistennoutajien monimuotoisuus verrattuna muihin MyDogDNA-tietokannan rotuihin

MyDogDNA-tietokannasta löytyvät tällä hetkellä perimänlaajuiseen analyysiin pohjautuvat monimuotoisuusraportit useille roduille (Taulukko 1). Kaikkien rotujen monimuotoisuutta on mitattu samoilla tuhansilla markkereilla. Kultaistennoutaja asettuu tämän kartoituksen aineistossa vertailussa hiukan keskiarvoa 28,6% heikommalle puolelle. Tulos on rodun yleisyyteen nähden huolestuttava ja haastaa rotuyhdistyksen ja kasvattajat yhdessä pohtimaan monimuotoisuuden kehittämistä terveyden edistämiseksi. Rotuun tarvitaan uutta verta. MyDogDNA testauskonsepti antaa valmiudet ”uuden veren” eli eriperintäisten koirien tunnistamiseen rodun sisällä, eri linjoissa ja eri maissa. Rodun jalostusvastaavien onkin nyt mahdollista hyödyntää aikaisempaa laajempaa DNA-tietoa jalostusstrategian rakentamisessa.

Taulukko 1. Eri rotujen monimuotoisuus vertailua MyDogDNA tietokannassa.

Rotu	Testattu otanta	Heterotsygotia-aste %
Kultaistennoutaja	> 100	25,5
Brasilianterrieri	30-100	30,3
Englanninspringerspanieli	30-100	28,1
Karjalankarhukoira	30-100	30,3
Kromfohländer	> 100	21,3
Labradorinnoutaja	30-100	27,8
Lagotto Romagnolo	> 100	29,3
Leonberginkoira	30-100	25,9
Harmaa norjanhervikoira	30-100	25,8
Parsonrusselinterrieri	> 100	34,4
Rhodesiankoira	30-100	30,4
Samojedinkoira	30-100	29,2
Sileäkarvainennoutaja	30-100	24,5
Suomenajokoira	30-100	29,0
Suomenlapinkoira	> 100	31,8
Suomenpystykorva	30-100	27,2
Vehnäterrieri	30-100	25,1



KULTAISTENNOUTAJIEN DLA-KARTOITUKSEN TULOKSET

Perimänlaajuisen monimuotoisuus kartoituksen rinnalla kultaisillenoutajille suoritettiin samalla otannalla myös DLA-alueen monimuotoisuusanalyysi. DLA-alueelta löydettiin yhteensä 9 haplotyyppiä, joista kaksi esiintyy valtaosalla koiria (Kuva 3). Loput olivat harvinaisempia tai yksittäisissä koirissa. Aiemmissä tutkimuksissa roduista on löytynyt keskimäärin 3-5 yleistä haplotyyppiä. Rotukohtainen vaihtelu voi olla kuitenkin suurta. Vähäisen haplotyyppimäärän lisäksi useimmat niistä esiintyvät koirilla homotsygotteina. DLA-alueen homotsygotia-asteeksi saatiin korkea 56% (Kuva 4).

DLA-alueen kapea monimuotoisuus heijastelee myös perimänlaajuista tilannetta. Monimuotoisuus on varsin kapeaa, korkeintaan keskimääräisellä tasolla tai jonkin verran sen alapuolella.

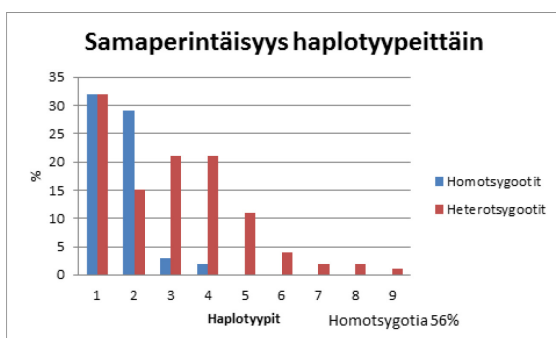
Kuva 3.

Kultaisillanoutajilla tavatut 9 haplotyyppiä ja niiden esiintyvyys testatussa populaatiossa.



Kuva 4.

Kultaistennoutajien DLA-alueen samaperintäisyysaste.



Taulukko 2. DLA-alueen monimuotoisuuden tilanne Genoscooperin aikaisemmin tutkimissa roduissa.

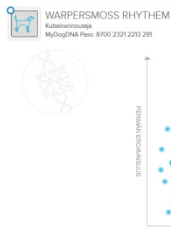
Rotu	Tutkitut koirat (kpl)	Haplotyypejä
Amerikanakita	22	6
Australiankarjakoira	20	6
Basenji	56	14
Belgianpaimenkoira laekenois	39	9
Brasilianterrieri	11	12
Irlanninsusikoira	51	5
Islanninlammaskoira	58	10
Jämtlandin pystykorva	40	8
Keeshondit	40	9
Kromfohländer	257	5
Kultainennoutaja	>100	9
Kääpiöpinnerit	50	11
Lancashirekarjakoira	46	9
Löwchen	72	8
Mopsi	150	8
Norjanharmaahirvikkoira	40	5
Novascotiannoutaja	259	11
Partacollie	140	10
Saluki	>200	>30
Samojedinkoira	54	9
Schapendoes	50	5
Walesinspringerspanieli	38	7
Valkoinenpaimenkoira	50	9
Whippet	161	15
Villakoira, kaikki koot ja värit	>100	>30



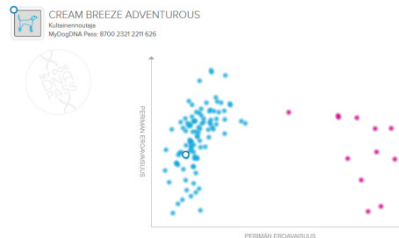
DLA-alueen ja perimänlaajuisesti mitatun monimuotoisuuden koirakohtaisista eroista

DLA-alueen ja koko perimän alueen monimuotoisuuden tuloksien eroja ja niiden tulkintaa havainnollistetaan seuraavalla esimerkillä. Esimerkistä huomataan, kuinka DLA-tulosten perusteella ei voida päätellä koiran koko perimän laajuista monimuotoisuutta.

Kun tarkastellaan esimerkiksi käyttölinjaista koiraa Warpersmoss Rhythem, jonka DLA-alue on homotsygootti, nähdään, että kyseinen koira sijoittuu kuitenkin perimän eroavaisuudet – kuvaajalla kauaksi valtapopulaation koirista (Kuvaaja 5a). Sen heterotsygotia aste perimänlaajuisesti mitattuna on hieman keskimääräistä korkeampi 25,9% kun taas DLA alueella koira on täysin homotsygootti yleisimmän (52,1%) rodussa esiintyvän DLA-haplotyyppin suhteen.



Kuvaaja 5a.
Warpersmoss Rhythem



Kuvaaja 5b.
Cream Breeze Adventurous



Kuvaaja 5c.
Let's Break Ranks Fox

30.7.2013

Kuvaaja 5d. Koirakohtainen DLA-alue

Warpersmoss Rhythem				01201	00401	01303
Hzi 25,9%				01201	00401	01303

Cream Breeze Adventurous				01201	00401	01303
Hzi 22,9 %				01201	00401	01303

Let's Break Ranks Fox				00901	00101	008011
Hzi 31,6 %				01201	00401	013017

Perimän eroavaisuudet – kuvaaja havainnollistaa myös, miten Warpersmoss Rhythem näyttää olevan geneettisesti lähempänä esimerkiksi koiraa Let's Break Rank Fox, kuin DLA-alueen suhteen homotsygoottia ja samanlaista koiraa Cream Breeze Adventurous. Näin DLA-alueen suhteen erilaiset koirat (Rhythem ja Rank Fox) voivat siis kuitenkin olla melko samaperimäisiä keskenään ja toisaalta DLA-alueen suhteen homotsygootit eriperimäisiä perimän laajuudella tarkasteltuina. DLA-alueita tarkastelemalla ei siis voida sanoa koirien olevan geneettisesti samankaltaisia tai erilaisia muun kuin juuri DLA-alueen suhteen.



DLA-alueen suhteen samankaltaiset koirat voivat olla koko perimän alueelta tarkasteltuna erilaisia niin heterotsygotia-asteen kuin perimien samankaltaisuuden suhteen. Siksi heterotsygotiaa ja koirien geneettistä eroavaisuutta onkin järkevää tarkastella yksittäisen kromosomialueen sijasta koko perimän laajuudelta, jolloin saadaan todellinen kuva niin yksilön kuin rodun tilanteesta.

DLA-alueen ja MyDogDNA:n tuloksien perimän eroja tarkasteltiin koirien osalta, joilla oli molemmista testeistä tulos 07.10.2013. Koiria oli yhteensä 113.

DLA-alueen suhteen valtapopulaation koirista (n=96) samanperintäisiä on 59,4 % eli 57 koiraa. Näiden samanperintäisten valtapopulaation koirien koko genominlaajuinen eriperintäisyys on 23,5 %. DLA-alueen suhteen eriperintäisillä koirilla (n=39) koko genomin laajuinen eriperintäisyys on 23,5 %. Valtapopulaation koirilla DLA-alueen sama- tai eriperintäisyys ei muuta koko perimän laajuista eriperintäisyysastetta.

Käyttölinjaisista koirista (n=13) DLA-alueen suhteen samanperintäisiä on 30,8 % eli neljä koiraa. Näiden koirien genominlaajuinen eriperintäisyys on 26,4 %. DLA-alueen suhteen eriperintäisillä koirilla (n=7) koko genomin laajuinen eriperintäisyys on 27,7 %. Otannan koko on tässä liian pieni, jotta tuloksen voidaan katsoa olevan merkitsevä.

Kaikkien koirien koko perimän laajuiseen eriperintäisyysasteeseen ei vaikuta se onko koira DLA-alueen suhteen sama- vai eriperintäinen. Koirilla, joiden DLA-alue on samaperintäinen, on perimän laajuinen eriperintäisyys keskimäärin 23,6 %. DLA-alueen suhteen eriperintäisillä koirilla koko perimän laajuinen eriperintäisyys on keskimäärin 23,7 %. Ero näiden ryhmien välillä ei ole tilastollisesti merkittävä.

Pilottikartoitukseen osallistuneiden kultaistennoutajien populaation eriperintäisyyttä kartoitettaessa ei saada luotettavaa kuvaa pelkästään DLA-alueen kartoituksella. Esimerkiksi koirat Warpersmoss Rhythem ja Cream Breeze Adventurous ovat molemmat identtisiä DLA-alueen suhteen, mutta eroavat selkeästi eriperintäisyysasteeltaan koko perimän laajuisesti mitattuna. Eriperimäinen Let's Break Ranks Fox erottuu tässä kahdesta edellä mainitusta koirasta ollen keskimääräistä kultaistanoutajaa runsaasti eriperintäisempi.

DLA-analyysi paljasti suomalaisilla koirilla aiemmin tuntemattoman geeniduplikaation

DLA-analyysissä kävi ilmi, että myös otannan suomalaisissa kultaisissanoutajissa löytyi DRB1*01201 –alkuisten haplotyyppien DQB1-geenissä nk. tupla-alleeleja. Tällöin analysointimenetelmä antaa ikäänkuin kolmannen alleelivaihtoehdon DQB1-geenille. Jotta tämän alleelin pystyisi täysin aukottomasti määrittämään, analysoitavasta koirasta tarvittaisiin vastaavat alleelitiedot sen vanhemmilta. Koska DLA-analyysi on populaatiotason analyysi tupla-alleelitapauksissa alleelin valinta tehdään todennäköisyyteen perustuen.

Tupla-alleeleja havaittiin 29 koirassa. Tupla-alleelien tiedetään olevan yleisiä kultaistennoutajien lisäksi labradorinnoutajissa ja newfoundlandinkoirissa.⁽²³⁾



YLI 100 SAIRAUDEN KANTAJUUDEN TESTAAMINEN RODUSSA ENSIMMÄISTÄ KERTAA

Perimänlaajuisessa terveystarkoituksessa pyrittiin kartoittamaan myös kultaistennoutajien perinnöllisiä sairauksia yhdellä ja samalla analyysillä. Kaikkiaan testattiin yhteensä yli 100 eri tautimutaatiota, jotka on tunnistettu koirien erilaisista perinnöllisistä sairauksista. Vastaavanlaajuisista tutkimuksista ei ole tehty rodulle aiemmin. Testattujen perinnöllisten sairauksien joukosta puuttuivat kultaistennoutajien jalostuksessa paljon käytetyt iktyoosigeenitesti, prcd-PRA sekä GR-PRA2 sillä niiden testaaminen on valitettavien geenipatenttien vuoksi toistaiseksi mahdollista vain yksittäisenä geenitestauksena.

Perimänlaajuinen tautigeenitestausta ei käytetyllä otoksella rodun edustajia paljastanut yhtään geneettisesti sairasta koiraa rodusta. Sen sijaan kantajakoiria löytyi kahteen rodussa esiintyvään sairauteen. Muihin sairauksiin ei löydetty kantajia tästä tutkimusaineistosta. Alla olevasta taulukosta käy ilmi rodun kantajafrekvenssit tutkituille rodulta aiemmin löydetyille sairauksille (Taulukko 3). Luvut ovat prosentteina testatuista koirista. Jälleen on hyvä huomioida, että kantajafrekvenssi on näin pienellä otannalla suuntaa-antava. Kantajakoiria esiintyi sekä näyttelylinjaisten, että käyttölinjaisten joukossa.

Taulukko 3.

MyDogDNA-tietokannan kultaisistanoutajista tutkitut perinnölliset sairaudet (n tutkittuja koiria =113) sekä niiden esiintyvyys 07.10.2013. Mahdolliset uudet löydökset muista rodulla vielä kuvaamattomista sairauksista vaativat vielä jatkotutkimusta.

Tested Disorder	Prevalence within Breed
Golden Retriever Progressive Retinal Athrophy 1 (GR_PRA 1)	13,45%
Epidermolysis bullosa, dystrophic	0,84 %
Muscular Dystrophy, Duchenne type or Golden Retriever Muscular Dystrophy (GRMD)	0 %

Koirista tunnetaan yli 650 perinnöllistä sairautta tai ominaisuutta eri roduista ja 175 niistä on löydetty taustalla oleva geeni. On myös huomattava, että kaikkiin roduissa esiintyviin sairauksiin ei ole tunnistettu geneejiä. Tämä tilanne koskee myös kultaisianoutajia. Tutkimusprojekteja on käynnissä maailmalla ja niistä on odotettavissa uusia löytöjä, jotka voidaan lisätä testattavien geenien listalle myöhemmin. Rodun koko tautiperimän testaaminen ei ole mahdollista ennen kuin yleisimpiin sairauksiin tunnistetaan geenit.

Kannattaa kuitenkin muistaa, että rodun terveyden kehittämisen keskiöön kannattaa nostaa yksittäisten sairauksien sijaan kokonaisvaltaisen monimuotoisuuden kehittäminen. Se mahdollistaa sairauksien vähentämisen ja laajentaa rodun muutakin jalostuspotentiaalia eri ominaisuuksien suhteen.



JOHTOPÄÄTÖKSET

Reilun sadan kultaisennoutajan perimän analyysi paljastaa kaksi jalostuksellisesti merkittävää löytöä: rodun monimuotoisuus on heikompi muilla tähän asti testatuilla koirilla ja rotu on jakautunut geneettisesti kahteen eri alapopulaatioon, käyttö- ja näyttelylinjaan. Lisäksi käyttölinjan koira ovat monimuotoisempia kuin näyttelylinjankoirat. DLA-alueen monimuotoisuus on myös kapeaa. Kultaisiltanoutajilta löydettiin kartoituksen yhteydessä vain 9 erilaista haplotyyppiä, joista kaksi oli selvästi yleisempää ja loput harvinaisia. Tämä on hiukan keskimääräistä heikompa erä rotuja verrattaessa (keskim. 3-5 yleisempää haplotyyppiä).

MyDogDNA-testipaneelin avulla rodulle testattiin ensimmäistä kertaa yli 100 sairauden kantajuuksia. Kantajuuksia löytyi vain kolmeen rodussa esiintyvään sairauteen. Tulos on rodun kannalta hyvä, sillä MyDogDNA-testipaneeli on aiemmin tunnistanut monissa roduissa uusia aiemmin tuntemattomia kantajuuksia. Testipaneeli ei paljastanut kultaisillenoutajille uusia kantajuuksia. Tutkimusaineisto ei kuitenkaan ole kovin suuri ja on mahdollista, että kantajia tulevaisuudessa löytyy.

Monimuotoisuuden suunnitelmallisella kehittämisellä tavoitellaan rodun terveydelle pitkäaikaisia hyötyjä. Jalostuksen hyödyt ovat kuitenkin välittömiä: jo yhden eriperintäisen uroksen tuominen jalostukseen lisää rodun heterogeenisyyttä. Koko rodun tasolla muutos voi olla hyvinkin nopeaa, jos käytössä on useita erilaisia jalostusyksilöitä. Erilaiset perimät pitää pystyä kuitenkin ensin tunnistamaan. Lisäksi pitää varmistaa mahdolliset kantajuudet suunniteluuista jalostusyhdistelmistä. MyDogDNA-testauskonsepti, joka yhdistää kantajuuksien ja monimuotoisuuden yhtäaikaisen tarkastelun antaa tähän loistavat mahdollisuudet kuten tämäkin tutkimus osoittaa.

Koirien jalostuksessa pitää huomioida ja yhdistää kattavan geenitiedon lisäksi monia muita tärkeitä asioita kuten koiran luonne ja rakenne. Uudet teknologiat mahdollistavat nyt entistä kokonaisvaltaisemman jalostustarkastelun rodun monimuotoisuuden ja terveyden edistämiseksi.

Jonas Donner, FT, Tutkimusjohtaja
Genoscooper Oy

13.11.2013



LÄHTEET

- 1 Charlesworth, D. & Willis, J.H., 2009. The genetics of inbreeding depression. Nature Publishing Group. Nature Reviews Genetics: Nov 1.
- 2 Rehfeld, C.E., 1970. Definition of relationships in a closed beagle colony. American Journal of Veterinary Research 31: 723–732.
- 3 Wildt, D.E., Baas, E.J., Chakraborty, P.K., Wolfle, T.L., Stewart, A.P., 1982. Influence of inbreeding on reproductive performance, ejaculate quality and testicular volume in the dog. Theriogenology 17; 445–452.
- 4 Urfer, S.R., 2009. Inbreeding and fertility in Irish Wolfhounds in Sweden: 1976 to 2007. Acta Veterinaria Scandinavica 51, 21.
- 5 G. J. Ubbink , B. W. Knol & J. Bouw (1992): The relationship between homozygosity and the occurrence of specific diseases in Bouvier Belge des Flandres dogs in the Netherlands, Veterinary Quarterly, 14:4, 137-140.
- 6) Todd JA, Bell JI, McDevitt HO. HLA-DQ beta gene contributes to susceptibility and resistance to insulin-dependent diabetes mellitus. Nature 1987; 329:599-604.
- 7) Fernando MM, Stevens CR, Walsh EC, De Jager PL, Goyette P, Plenge RM, Vyse TJ, Rioux JD. Defining the role of the MHC in autoimmunity: A review and pooled analysis. PLoS Genet 2008; 4:e1000024
- 8) Yuhki N, Beck T, Stephens R, Neelam B, O'Brien SJ. Comparative genomic structure of human, dog, and cat MHC: HLA, DLA, and FLA. J Hered 2007; 98:390- 9.
- 9) Janeway C.A., Travers P., Walport M., Shlomchik M. Immunobiology. Garland Science Publishing, 2005
- 10) It V, Barrientos L, Lopez Gappa J, Posik D, Diaz S, Golijow C, Giovambattista G. Association of canine juvenile generalized demodicosis with the dog leukocyte antigen system. Tissue Antigens 2010;
- 11) Kennedy MA. A brief review of the basics of immunology: The innate and adaptive response. Vet Clin North Am Small Anim Pract 2010; 40:369-79.
- 12) Kennedy LJ, Barnes A, Happ GM, Quinnell RJ, Courtenay O, Carter SD, Ollier WE, Thomson W. Evidence for extensive DLA polymorphism in different dog populations. Tissue Antigens 2002; 60:43-52
- 13) Jokinen, P. Identifying Genetic Risk Factors in Canine Autoimmune Disorders. Helsinki 2011
- 14) Hirayama K, Matsushita S, Kikuchi I, Iuchi M, Ohta N, Sasazuki T. HLA-DQ is epistatic to HLA-DR in controlling the immune response to schistosomal antigen in humans. Nature 1987; 327:426-30.
- 15) Bernatchez L, Landry C. MHC studies in nonmodel vertebrates: What have we learned about natural selection in 15 years? J Evol Biol 2003; 16:363-77.
- 16 Online Mendelian Inheritance in Animals, OMIA (<http://omia.angis.org.au/>). Faculty of Veterinary Science, University of Sydney; OMIA001572-9615



17 Downs LM, Wallin-Håkansson B, Bournnell M, Marklund S, Hedhammar Å, Truvé K, Hübinette L, Lindblad-Toh K, Bergström T, Mellersh CS. A frameshift mutation in golden retriever dogs with progressive retinal atrophy endorses SLC4A3 as a candidate gene for human retinal degenerations. PLoS One 6:e21452, 2011. Pubmed: 21738669.

18 Online Mendelian Inheritance in Animals, OMIA (<http://omia.angis.org.au/>). Faculty of Veterinary Science, University of Sydney, March 2013, OMIA000341-9615

19 Baldeschi C, Gache Y, Rattenholl A, Bouillé P, Danos O, Ortonne JP, Bruckner-Tuderman L, Meneguzzi G Genetic correction of canine dystrophic epidermolysis bullosa mediated by retroviral vectors. Hum Mol Genet. 1;12(15):1897-1905, 2003 Pubmed: 12874109

20 Palazzi X, Marchal T, Chabanne L, Spadafora A, Magnol JP, Meneguzzi G Inherited dystrophic epidermolysis bullosa in inbred dogs: A spontaneous animal model for somatic gene therapy. J Invest Dermatol. 115(1):135-137, 2000 Pubmed: 10886525

21 Online Mendelian Inheritance in Animals, OMIA (<http://omia.angis.org.au/>). Faculty of Veterinary Science, University of Sydney; OMIA001505-9615

22 Awano T, Katz ML, O'Brien DP, Taylor JF, Evans J, Khan S, Sohar I, Lobel P, Johnson GS. A mutation in the cathepsin D gene (CTSD) in American Bulldogs with neuronal ceroid lipofuscinosis. Mol Genet Metab 87:341-8, 2006 Pubmed: 16386934

23 L. J. Kennedy, A. Barnes, A. Short, J. J. Brown, S. Lester, J. Seddon, L. Fleeman, O. Francino, M. Brkljacic, S. Knyazev, G. M. Happ8 & W. E. R. Ollier. Canine DLA diversity: 1. New alleles and haplotypes. Journal compilation 69 Suppl. 1 (272–288), 2007 Blackwell Munksgaard.



LIITE 1: PERIMÄN TERVEYSKARTOITUS – LYHYT ESITTELY

MyDogDNA –koiran terveystesti on perimänlaajuinen analyysi, jossa samanaikaisesti mitataan yksilön perimän monimuotoisuus, testataan lukuisia koirilla tavattuja perinnöllisiä sairauksia ja kartoitetaan koiran ulkoasuun liittyviä ominaisuuksia (esim. turkin väri ja laatu). Näytteenoton ollessa virallinen (ts. kun näytteen ottaa eläinlääkäri tai auktorisoitu DNA-näytteenottaja), jokainen testattu koira saa myös oman DNA-tunnisteen (ISAG), jota voi hyödyntää mm. polveutumisen määrittämisessä.

Jokaisen testatun koiran DNA-terveystesti tallentuu MyDogDNA-tietokantaan, ja heti kun testattujen koirien lukumäärän ollessa tarpeeksi iso, tietokannasta voidaan tuottaa tilastotietoa myös koko rodun monimuotoisuudesta, mahdollisista rodun sisäisistä perimän eroavaisuuksista sekä testattujen yksittäisten sairauksien esiintymisestä rodussa.

Raporttien (yksittäiset geenitestitulokset, mitattu monimuotoisuus ja perimän eroavaisuudet) lisäksi, koiran DNA-terveystesti muodostaa jokaiselle koiralle oman **perimän terveystestin (Genetic Health Index, GHI)**, joka lasketaan mitatun perimän monimuotoisuuden ja analyysiin sisältyneiden sairausgeenitestien tulosten pohjalta. Perimän terveystesti kuvaa testatun yksilön perimän terveyttä suhteessa muihin testattuihin koiriin MyDogDNA-tietokannassa, minkä vuoksi indeksi ei ole vakio vaan se saattaa muuttua sen mukaa kun testattuja koiria tulee lisää. Testatun otannan keskiverto koira saa aina terveystestiin 100 ja muut testatut koirat asettuvat sen ympärille normaalijakaumaa noudattaen. Perimän terveystestin tarkoitus on nopeasti antaa kuva testatun koiran perimän terveydestä suhteessa muihin testattuihin koiriin.

Perimän terveystesti kuvaa testattujen koirien perimän terveyttä ainoastaan MyDogDNA-tietokannan populaatiossa, eikä sitä siksi voi käyttää pohjana jalostuspäätöksissä. Kasvattajan on aina konkreettisemmin pyrittävä varmistamaan tulevan pentueen perinnöllinen terveys ja rodun monimuotoisuuden säilyminen ja siksi erikseen huomioitava jalostusyksilöiden sukutaulut ja riittävä eriperimäisyys, kliiniset terveystarkastukset sekä eliminoitava kantaja-kantaja –yhdistelmät testattujen perinnöllisten sairauksien osalta.

Lista MyDogDNA-testipaneelilla testattavista koiran perinnöllisistä sairauksista ja ominaisuuksista on ladattavissa osoitteessa: <http://www.mydogdna.com/fi/terveystesti>



LIITE 2: KOIRAKOHTAISET MONIMUOTOISUUSTULOKSET

07.10.2013

Testatun yksilön nimi	Heterotsygotia %
Näyttelylinjaiset koirat	
ALIBREN SHEAR SPIRIT	26,2 %
BALTIMOR DE PIC NEGRE	25,4 %
BANDOLERO'S IDOL GACANOVA	24,0 %
BITTERBLUE MOLLY MELODY	25,3 %
BJÖRKBO GULLVIVA	25,4 %
BOOGIE'S NEFER NEFER	27,1 %
CAYRING CARROL CATHAY	24,7 %
COMBINE MAKE MY DAY	27,7 %
CORDELIA	26,0 %
CREAM BREEZE ADVENTUROUS	22,9 %
CREAMLIN FUNNY LADY	25,6 %
CREAMLIN GIVE ME FIVE	25,0 %
DAINTY'S BRIGHT ANGEL	23,4 %
DASTY HELLO MARY LOU	22,8 %
DELIBES'S LADY MANHATTAN	25,8 %
DREAMSTYLE DRIVING MISS DAISY	24,0 %
EISAPURRAN KING NAPOLEON	25,8 %
FAIRQUEST RHYTHM'N BLUES	23,2 %
FINNGREEN SCARLETT O'HARA	23,2 %
FLAVENS CHEVANNAH	23,8 %
GILLBRYAN PENNSHEELIN	25,5 %
GINGSJÖNS LAMBRETTA	25,0 %
GLADTAIL TRULY YOURS	25,0 %
GLAMOROUSH BERESHA	27,0 %
GOLDEN CUB ICE'N FIRE	26,0 %
GOLDEN FIREHILL NIGHT-WISH	24,6 %
GOLDEN MARLEEN'S ELIOT NESS	23,8 %
GOLDEN MOUNTAIN SPRING'S XPEDITIOUS	26,3 %
GOLDENCOAT BEDTIME STORY	24,7 %
GOLDENMEMBER'S SPARKLING DREAM	26,1 %
GOLDENSMILE MY LOVE MY LIFE	24,4 %
GOLDFELLOW SKYEHAVEN	25,8 %
GOLDPAW OMEGA	27,1 %



GOLDWATER WHIRLWIND STAR	25,7 %
GOLLEBEARAL BEAIVVÁS	24,1 %
GREENHILL'S ZEFYROS	26,5 %
GULDGÅRDENS MY SPARROW	25,4 %
HAVE A DRINK ON ME BRDSKÉ ZLATO	23,3 %
HEPOHARJUN CANDY	25,5 %
HÄÄMÖRIN YLIVETO	27,7 %
INDIAN STORY'S EASY GOING	23,5 %
ISAEEL ICE PRINCES	26,7 %
JAKKEN ETEVÄ-EUKKO	23,6 %
JAKO'S JEWEL OF FINNGREEN	25,8 %
JEPPU	26,5 %
JOYSTEP'S UNIQUE DESIGN	24,1 %
KIANTIME'S WILD THING	24,4 %
KOIRAMÄEN FORMULA	25,6 %
KOIRAMÄEN SANTTU	27,4 %
KUKKAKOSKEN AMORE	24,4 %
KULTAHÄNNÄN ENNUSTAJA EUKKO	23,3 %
KULTAHÖPÖN VERSAILLES	26,4 %
KULTAKEDON ARMAGEDDON ANATOLIUS	26,5 %
KULTAMEREN COSMIC STARLET	24,8 %
KULTAPIRTIN JUST ONLY ONE	24,7 %
KULTATUULEN JENNIFER LOPEZ	25,2 %
KULTATUULEN JESSICA ALBA	25,4 %
LUCKYANGEL	27,8 %
MELLAN KISS ME ROBERT	22,8 %
MINELLIN TOUCH ME	26,9 %
MISSTEP'S HULLABALOO	24,3 %
MISSTEP'S JAMBALAYA	25,9 %
MISTYWOOD'S KISSING CHARMER	24,8 %
MÄKI HARJUN QUITE A HANDSOME	25,9 %
NANNY'S OFELIA	27,1 %
NOUDON COME RAIN OR SHINE	25,3 %
NOUDON VALLEY-VIRGIN	25,8 %
PERFECT BEAST BRIGITTE BARDOT	24,8 %
PIKESTAR'S GOLDEN SOUL	23,5 %
REAL QUEEN'S LOT OF LOUD	24,8 %
RESOUND PINKCADILLAC	26,4 %
RIVERSIDE FELLOW'S ADONIS	24,4 %
RUSHES GUNMAN'S JOY	27,4 %



RUSHES JOY OF HONEY	26,2 %
SARNELL TIME AND AGAIN	27,2 %
SHETLANDIA NIGHTINGALE	26,7 %
SNUFFY'S LUSTIGA LILLI	23,4 %
SODELIGHT CATCH ME A STAR	23,3 %
SOFT SOUL BE MY STAR	25,2 %
SPRINGLOVE'S X-MAS MAGIC	27,0 %
TESSUN-KULTA ELEANOORA	26,5 %
TINO	25,0 %
TREWATER ANNIKA	24,7 %
TUOHIKORVEN IKAROS	24,7 %
VELVET KISS FOR GLADTAIL	26,2 %
VICKY'S PAW BETTINA	24,3 %
VOFCIT'S NO ELSE BUT ME	26,1 %
WILLOWFIELD'S DRIVING FAST	22,6 %
WINDALAS OCEAN OF GOLD	25,2 %
WINTER ROAD ABSOLUTELY BRUTE	25,5 %
WOODCHUCK'S GIRL POWER	23,1 %
WOODCHUCK'S HIGHEST HOPE	26,4 %
WOODCHUCK'S HONEY ROSE	28,1 %
WOODCHUCK'S IVORY ROSE	24,4 %
WOODCHUCK'S JUST LIKE RUBY	26,6 %
WOODCHUCK'S KARMA CHAMELIA	27,1 %
WOODCHUCK'S LEMON MIST	24,7 %
YARRAMAN'S MERRY GO-ROUND	24,1 %
ZEROALFA'S TRACE OF AUTUMN	23,8 %
ZENANA'S URIAH POWER	25,9 %
Käyttölinjaiset koirat	
GOLDGINGERS BOOGIE WOOGIE	31,3 %
GOLDGINGERS RED HOT PEPPER	30,7 %
HÖGHEDENS SIMSALABIM	28,4 %
JACKLAINE'S BETTER BE GOOD	25,7 %
LET'S BREAK RANKS FOX	31,6 %
LET'S COLONEL FOX	28,6 %
MIGHTY DUCK'S MUSTANG	28,7 %
MIKLAUS LUCKY ONE	27,1 %
OMSKAKAS MILT	28,2 %
PAMMUKAN VELI KULTA	29,7 %
WARPERSMOSS RHYTHEM	25,9 %
WELJESTEN GIFTED AU	28,3 %
WELJESTEN MONEYPENNY AU	31,1 %



LIITE 3: DLA-ALUE JA PERIMÄNLAAJUINEN MONIMUOTOISUUS

Major histocompatibility complex eli MHC tunnetaan koirilla DLA:na eli dog leukocyte antigenina, joka vaikuttaa autoimmuunisairauksien syntymiseen yhdessä muiden perinnöllisten tekijöiden sekä ympäristötekijöiden kanssa⁽⁶⁾. MHC-alue on liitetty lähes jokaiseen autoimmuunisairauteen.⁽⁷⁾

MHC on geeniperhe, joka löytyy jokaiselta selkärangaiselta. Koirilla DLA on 3,9 Mb kokoinen geeniklusteri, joka sijoittuu suureksi osaksi kromosomiin 12. Carnivoreilla MHC –alue jakaantui kahteen osaan noin 55 miljoonaa vuotta sitten. Luokat I, II ja III sijoituivat kromosomin 12 perisentromeeriselle alueelle kun taas loput alueesta sijoittui kromosomin 35 subtelomeeriselle alueelle. Lisäksi kromosomeista 7 ja 18 löydetään kaksi luokan I MHC-geeniä.⁽⁸⁾ Koirilla tutkittu DLA-alue on MHC luokan II alue, joka sijaitsee kromosomissa 12.

MHC –alue koodaa sekä synnynnäiseen että adaptatiiviseen immuunipuolustukseen liittyviä geenejä. MHC-alueen pääasiallisena tehtävänä on havaita, sitoa ja kuljettaa antigeenejä niitä T-soluille esitteleville soluille.^(7,9) Pääsääntöisesti luokat I ja II koodaavat geenejä, jotka tunnistavat, sitovat ja esittelevät antigeenejä cytotoxic CD8+ ja helper CD4+ T-soluille. Luokan II MHC ekspressoituu makrofaageissa, B-lymfosyyteissä sekä dendriittisoluissa. Luokka III koodaa sytokiineja sekä lämpöshokkiproteiineja.^(8, 10, 11)

DLA –alue sisältää neljä lokusta; DLA-DRB1, DLA-DRA, DLA-DQA1 ja DLA-DQB1, joista jokaisessa on yksi toiminnallinen geeni. Kaikki alueen geeneistä on polymorfisia 12ukuun ottamatta DLA-DRA –geeniä. Tällä hetkellä on tunnistettu 148 DRB1, 70 DQA1 ja 26 DQB1 alleelia eri koiraroduilta^(ks 13). Vaikka alleeleja on useita, ovat monet niistä rotuspesifisiä ja usealla rodulla alueen monimuotoisuus on vähäistä. MHC luokan II molekyyli koostuu kahdesta (α ja β) heterodimeerisestä transmembraani glykoproteiini ketjusta. Sekä α - että β -ketjut sisältävät kaksi domainia; α -domainia koodaavat DQA1 ja DRA1 ja β -domainia koodaavat DQB1 ja DRB1 geenit. α 1- ja β 1-alayksiköt muodostavat peptidien sitomiskohdan. Lisäksi MHC luokan II proteiini sisältää α 2- ja β 2-alayksiköt.⁽¹²⁾

Koirilla tutkittu DLA-alue koostuu kolmesta geenistä; DRB1, DQA1 ja DQB1⁽¹²⁾. Nämä kolme geeniä muodostavat yhdessä haplotyyppin. MHC luokan II alueen on osoitettu olevan merkittävä riskitekijä koirien autoimmuunisairauksien synnyssä. Tiettyjen haplotyyppien on todettu liittyvän eri koiraroduilla tunnettuihin autoimmuunisairauksiin, joissa riskihaplotyyppin homotsygotian on todettu lisäävän sairastumisriskiä huomattavasti. Joidenkin tautien sairastumisriskiä lisäävät lisäksi haplotyypeistä riippumaton homotsygotia. MHC alueiden I ja II alleelit ovat kodominantteja, polygeenisia sekä polymorfisia, joka mahdollistaa suuren monimuotoisuuden.⁽¹³⁾ Pistemutaatiot, rekombinaatiot sekä geenikonversiot ylläpitävät DLA:n polymorfismia.⁽¹²⁾

DLA-geenien (DLA-DRB1, DLA-DQA1 ja DLA-DQB1) monimuotoisuus mahdollistaa niiden tuottamien proteiinien monipuolista mahdollisuutta tunnistaa, sitoa ja esitellä antigeenejä (peptidejä) immuunipuolustuksen T-soluille. Geenien monimuotoisuus aiheutuu niiden toisessa eksonissa sijaitsevan yhden nukleotidin polymorfista. Tämä yhden nukleotidin monimuotoisuus muuttaa proteiinin hypervariaabelin alueen peptidinsitoutumiskohtaa.

Geenit esiintyvät yleensä erilaisina alleelikombinaatioina.⁽¹²⁾ Alleelikombinaatioiden (haplotyyppien) mahdolliset epistaattiset vaikutukset luovat monimuotoisuuden ohella lisää biologisia etuja⁽¹⁴⁾. Esimerkiksi DRB1-geenin alleelit nähdään yleensä vain yhdenlaisten DQA1-DQB1 – alleelikombinaatioiden yhteydessä. DQA1 ja DQB1 alleelit voidaan sen sijaan usein nähdä monien erilaisten DRB1 alleelien yhteydessä.⁽¹²⁾



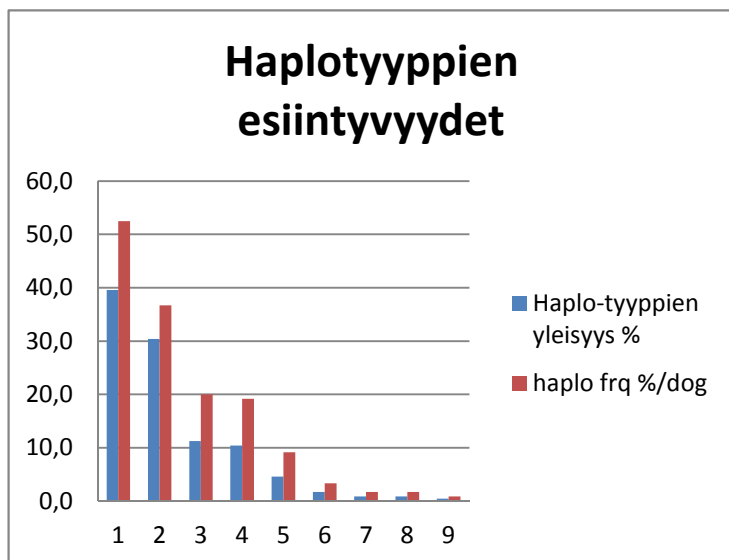
MHC-alueen monimuotoisuutta pyritään selittämään erilaisilla teorioilla. Heterotsygotian suotuisuuden teorian (ylidominanssi/dominanssi –teoria) mukaan heterotsygotia ylläpitää laajaa kykyä reagoida erilaisiin antigeeneihin. Teorian mukaan heterotsygootti on aina kelpoisempi kuin paraskaan homotsygootti tai heterotsygootti on yhtä hyvä kuin paras homotsygootti tai parempi kuin homotsygootti keskimäärin. Toinen teoria on negatiivinen frekvenssiriippuvainen valintateoria eli harvinaisempaa alleelia suosiva teoria. Teorian mukaan vierasorganismeille ei ole kehittynyt kykyä selviytyä harvinaisemmista alleleista. Kolmannen, vaihtelevan valinnan teorian mukaan hetkellinen ja paikallinen monimuotoisuus sekä patogeenien määrä aiheuttaa monimuotoisuuden säilymisen. ⁽¹⁵⁾

Tautilähtöisten teorioiden lisäksi monimuotoisuuden säilymistä on selitetty erilaisilla lisääntymiseen liittyvillä teorioilla. Yhden näkökulman mukaan MHC-alueen vaihtelun tuoma sairauksien kestävyys ohjaa tuottamaan kelpoisia jälkeläisiä. Jälkeläiset selviävät joko etua tuovan heterotsygotian tai suotuisan kilpailuasetelman vuoksi. Toisen teorian mukaan monimuotoisuus pyritään säilyttämään sisäsiitosta välttämällä, jolloin haitalliset resessiiviset mutaatiot eivät pääse yleistymään. ⁽¹⁵⁾

LIITE 4. Taulukko 1. Rodussa tavatut DLA-alueen geenimuodot (n= 120 koiraa)

	DRB1	DQA1	DQB1	Homo- tsygootit	Haplo- tyypit	Haplo-tyyppien yleisyys %
1	01201	00401	01303	32	95	39,6
2	01201	00401	013017	29	73	30,4
3	01501	00601	02301	3	27	11,3
4	00601	005011	02001	2	25	10,4
5	01501	00601	00301	0	11	4,6
6	02001	00401	01303	0	4	1,7
7	01301	00301	00501	0	2	0,8
8	00101	00101	00201	0	2	0,8
9	00901	00101	008011	0	1	0,4
	01502	00601	02301	0	0	0,0
	01901	00401	01303	0	0	0,0
	00601	005011	00701			
					240	100,0

Tunnetaan UK-
populaatiossa



LIITE 4.

Taulukko 2. Yksittäisten koirien geenimuodot DLA-alueella

Koiran nimi	DRB1	DQA1	DQB1	DRB2	DQA2	DQB2
Jeppu	01201	00401	01303	01201	00401	01303
Cream Breeze Adventurous	01201	00401	01303	01201	00401	01303
Warpersmoss Rhythem	01201	00401	01303	01201	00401	01303
Jacklaine's Better Be Good	01201	00401	01303	01301	00301	00501
Goldgingers Boogie Woogie	01201	00401	01303	01501	00601	02301
Höghedens Simalabim	01201	00401	013017	01201	00401	013017
Weljesten Gifted Au	00601	005011	02001	00601	005011	02001
Duckpond Gold Digger	01201	00401	01303	01501	00601	00301
Goldgingers Red Hot Pepper	01201	00401	01303	01501	00601	00301
Nanny's Ofelia	01201	00401	013017	01201	00401	013017
Luckyangel	01201	00401	013017	01201	00401	013017
Jako's Jewel Of Finngreen	01201	00401	01303	01501	00601	02301
Delibes's Lady Manhattan	01201	00401	01303	01501	00601	02301
Minellin Touch Me	00601	005011	02001		00401	013017
Kultapirtin Just Only One	00601	005011	02001	01201	00401	01303
Bitterblue Molly Melody	01201	00401	01303	01201	00401	01303
Baltimor De Pic Negre	01201	00401	01303	01201	00401	01303
Zenana's Uriah Power	01201	00401	013017	01501	00601	00301
Dasty Hello Mary Lou	00601	005011	02001	01501	00601	02301
Cayring Carrol Cathay	01201	00401	013017	01201	00401	013017
Goldensmile My Love My Life	01201	00401	01303	01201	00401	01303
Goldencoat Bedtime Story	01201	00401	01303	01201	00401	01303
Rushes Joy Of Honey	00601	005011	02001	01201	00401	013017
Rushes Gunman's Joy	01201	00401	013017	01201	00401	013017
Gillbryan Pennsheelin	00601	005011	02001	01201	00401	01303
Creamline Funny Lady	01201	00401	013017	01201	00401	013017
Flavens Chevannah	00601	005011	02001	01501	00601	02301
Koiramäen Santtu	01201	00401	01303	01201	00401	01303
Gollebearal Beaivvás	01201	00401	01303	01501	00601	02301
Isael Ice Princess	01201	00401	01303	01201	00401	01303
Creamline Give Me Five	00601	005011	02001	01501	00601	02301
Kultahöpön Versailles	01201	00401	01303	01501	00601	02301
Guldgården My Sparrow	01201	00401	013017	01501	00601	00301
Vofclit's No Else But Me	01201	00401	01303	01501	00601	02301
Goldenmember's Sparkling Dream	01201	00401	01303	01501	00601	02301
Tino	00601	005011	02001	01201	00401	01303
Zeroalfa's Trace Of Autumn	01201	00401	01303	01201	00401	01303
Sodelight Catch Me A Star	01501	00601	02301	01501	00601	02301
Kultatuulen Jennifer Lopez	00601	005011	02001	01201	00401	01303
Pikestar's Golden Soul	01201	00401	01303	01201	00401	01303
Woodchuck's Just Like Ruby	01201	00401	013017	01201	00401	013017
Woodchuck's Karma Chamelia	01201	00401	013017	01201	00401	01303
Woodchuck's Lemon Mist	01201	00401	01303	01501	00601	02301
Woodchuck's Ivory Rose	01201	00401	01303	01201	00401	01303
Woodchuck's Honey Rose	00601	005011	02001	01201	00401	01303
Woodchuck's Girl Power	01201	00401	01303	01501	00601	02301

Koiran nimi	DRB1	DQA1	DQB1	DRB2	DQA2	DQB2
Gingsjöns Lambretta	01201	00401	013017	01501	00601	00301
Noudon Come Rain Or Shine	01201	00401	01303	01201	00401	01303
Kultakedon Armageddon Anatolius	01201	00401	013017	01201	00401	013017
Greenhill's Zefyros	00601	005011	02001	01501	00601	02301
Kultatuulen Jessica Alba	00601	005011	02001	01201	00401	01303
DREAMSTYLE DRIVING MISS DAISY	01201	00401	01303	01201	00401	01303
Bandelero's Idol Gacanova	00101	00101	00201	01501	00601	00301
Springlove's X-Mas Magic	01201	00401	01303	01201	00401	01303
Trewater Annika	01201	00401	01303	01501	00601	02301
Let's Colonel	01201	00401	013017	01201	00401	013017
Resound Pinkcadillac	01201	00401	013017	01201	00401	013017
Kultameren Cosmic Starlet	01201	00401	01303	01501	00601	02301
Weljesten Money Penny Au	00601	005011	02001	02001	00401	01303
Misstep's Jambalaya	01201	00401	01303	01201	00401	01303
Cordelia	01201	00401	013017	01201	00401	013017
Makuuni Pro Valo	01201	00401	013017	01201	00401	013017
Rushes Great Escape	01201	00401	013017	01201	00401	013017
Rushes Ice Cool	01201	00401	013017	01201	00401	013017
Woodchuck's Highest Hope	01201	00401	01303	01201	00401	01303
Finngreen Scarlett O'Hara	01201	00401	01303	01201	00401	01303
Velvet Kiss For Gladtail	01201	00401	013017	01201	00401	013017
Sarnell Time And Again	01201	00401	01303	01501	00601	00301
Soft Soul Be My Star	00601	005011	02001	01201	00401	013017
Kultameren Cosmic Stunner	00601	005011	02001	01501	00601	00301
Jakken Etevä-Eukko	01201	00401	013017	01201	00401	013017
Misstep's Hullabaloo	01201	00401	013017	01201	00401	013017
Kultahännän Ennustaja Eukko	01201	00401	013017	01201	00401	013017
Hepoharjun Candy	00601	005011	02001	01201	00401	013017
Indian Story's Easy Going	01201	00401	013017	01201	00401	013017
Golden Marleen's Eliot Ness	01201	00401	01303	01201	00401	01303
Noudon Valley Virgin	00601	005011	02001	01201	00401	01303
Mistywood's Kissing Charmer	01201	00401	01303	01201	00401	01303
Glamorous Beresha	00601	005011	02001	01201	00401	01303
Mellan Kiss Me Robert	01201	00401	013017	01201	00401	013017
Perfect Beast Brigitte Bardot	01201	00401	01303	01501	00601	02301
Gladtail Truly Yours	01201	00401	01303	01501	00601	02301
Combine Make My Day	01201	00401	01303	01201	00401	01303
Tuohikorven Ikaros	01201	00401	013017	01201	00401	013017
Joystep's Unique Design	01201	00401	01303	01201	00401	01303
Kiantime's Wild Thing	01201	00401	01303	01201	00401	01303
Golden Cub Ice'n Fire	01201	00401	01303	01501	00601	02301
Koiramäen Formula	00601	005011	02001	01201	00401	013017
Boogie's Nefer Nefer	01201	00401	013017	01501	00601	00301
Goldewater Whirlwind Star	01201	00401	01303	01201	00401	01303
Windalas Ocean Of Gold	00601	005011	02001	00601	005011	02001
Mäkiharjun Quite A Handsome	01201	00401	013017	01201	00401	013017
Golden Firehill Night-Wish	01201	00401	01303	01201	00401	01303

Koiran nimi	DRB1	DQA1	DQB1	DRB2	DQA2	DQB2
Mighty Duck's Mustang	01201	00401	013017	02001	00401	01303
Real Queen's Lot Of Loud	01201	00401	013017	01201	00401	013017
Eisapurran King Napoleon	01501	00601	02301	01501	00601	02301
Vicky's Paw Bettina	01201	00401	01303	01301	00301	00501
Häämörin Yliveto	01201	00401	01303	01501	00601	00301
Goldfellow Skyehaven	01201	00401	013017	01201	00401	013017
Tessun-Kulta Eleanora	01201	00401	01303	01201	00401	01303
Fairquest Rhythm'n Blues	00601	005011	02001	01201	00401	01303
Kukkakosken Amore	01501	00601	00301	01501	00601	02301
Goldpaw Omega	01201	00401	013017	01201	00401	013017
Let's Break Ranks Fox	00901	00101	008011	01201	00401	013017
Omskakas Milt	01201	00401	013017	02001	00401	01303
Pammukan Veli Kulta	01201	00401	01303	02001	00401	01303
Cosmona's Lady In Red	01201	00401	01303	01501	00601	02301
Golden Mountain Spring's Xpeditious	01201	00401	013017	01201	00401	013017
Be Active's Quickstep Campo	01201	00401	01303	01201	00401	01303
Snuffy's Lustiga Lilli	01501	00601	02301	01501	00601	02301
Winter Road Absolutely Brute	00601	005011	02001	01201	00401	013017
Yarraman's Merry Go-Round	01201	00401	01303	01201	00401	01303
Alibren Shear Spirit	01201	00401	013017	01201	00401	013017
Björkbo Gullviva	01201	00401	01303	01201	00401	01303
Dainty's Bright Angel	01201	00401	01303	01501	00601	02301
Willowfield's Driving Fast	01201	00401	01303	01201	00401	01303
Riverside Fellow's Adonis	01201	00401	013017	01201	00401	013017
Have A Drink On Me Brdske Zlato	01201	00401	01303	01201	00401	01303
Miklaus Lucky One	00101	00101	00201	01201	00401	013017
Shetlandia Nightingale	01201	00401	013017	01201	00401	013017



LIITE 5: TESTED HEREDITARY DISEASES IN GOLDEN RETRIEVERS

Hereditary diseases present in Golden Retrievers – MyDogDNA pilot group (2013)

Progressive retinal atrophies (PRAs) are ocular diseases characterized by degeneration of retinal photoreceptors causing vision loss and eventually blindness. In typical PRA loss of function of the rod type of photoreceptors occurs first followed by loss of function of the cone type. A form of PRA that is specific to Golden Retrievers has been identified (GR_PRA1). It is typically a late-onset PRA with an approximate age of 6 years at diagnosis but there is great variability regarding the age of onset. There is no treatment available at the moment. The mutation is a single base pair insertion in the gene *SLC4A3* (solute carrier family 4, anion exchanger, member 3) on chromosome 37 that causes a frameshift mutation resulting in a premature stop codon. The disease is inherited in an autosomal recessive manner. ^(16, 17)

Dystrophic Epidermolysis Bullosa is a skin disorder affecting Golden Retrievers. The condition is caused by separation of dermis and epidermis of the skin due to a dysfunctional collagen VII. Affected dogs suffer from lesions in oral cavity and gastrointestinal track and blistering of the skin which diminishes approximately from the age of 8 months old. Lesions and bleeding in mouth are present at birth and will develop into an erosion of the mouth and upper digestive tract. Affected pups suffer from growth retardation and are smaller than their littermates possibly because of difficulties in feeding. No treatment is available for the disease.

The mutation causing Dystrophic Epidermolysis Bullosa is a G to A substitution in exon 68 of the *COL7A1* gene on chromosome 20. The mutation presumably disturbs the assembly of the collagen VII homotrimers. The mutation was identified by candidate gene approach from a strain of affected Golden Retrievers. ^(18, 19, 20)