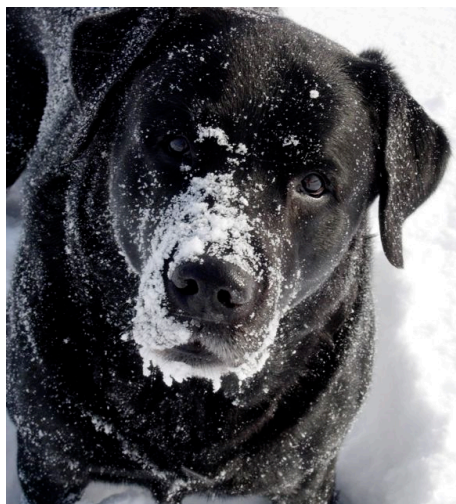


Helgenomsekvensering av Hundar:

Identifiering av Sjukdomsorsakande Mutationer och Utvärdering av Konsekvenser för Framtidens Hundavel



<p>HUVUDSÖKANDE:</p> <p>Tomas Bergström, PhD</p> <p>Inst. För Husdjursgenetik Sveriges Lantbruksuniversitet Box 7023, 750 07 Uppsala Tel: +46 18-671997 Mobil: +46 70 6281660 Fax: +46 18-672848 E-mail: Tomas.Bergstrom@slu.se</p>	<p>MEDSÖKANDE:</p> <p>Göran Andersson, PhD, Prof</p> <p>Inst. För Husdjursgenetik Sveriges Lantbruksuniversitet Box 7023, 750 07 Uppsala Tel: +46 18-671997 Mobil: +46 70-380 89 19 Fax: +46 18-672848 E-mail: Göran.Andersson@slu.se</p>
<p>MEDSÖKANDE:</p> <p>Kristina Narfström DVM, PhD, DECVO, Prof em.</p> <p>Department of Veterinary Medicine and Surgery Clydesdale Hall College of Veterinary Medicine University of Missouri Columbia, MO 65211 USA Tel: +46 701759095 FAX: +46 8 622 6054 E-mail: NarfstromK@missouri.edu</p>	<p>MEDSÖKANDE:</p> <p>Kerstin Bergvall DVM, DECVD</p> <p>Inst. För Kirurgi och Medicin Sveriges Lantbruksuniversitet Box 7054, 750 07 Uppsala Tel: +46 18-671365 Mobil: +46 70-781 66 98 Fax: +46 18-672848 Mobil: +46 70-380 89 19 Fax: +46 18-672848 E-mail: Kerstin.Bergvall@slu.se</p>

Delrapport - 2014

Bakgrund

Denna ansökan avser helgenomsekvensering av hundar. Syftet är att använda denna kraftfulla teknik för att identifiera sjukdomsorsakande mutationer och att utvärdera konsekvenserna av att helgenomsekvensering inom en nära framtid sannolikt kommer att vara allmänt tillgänglig för hundägare på samma vis som dagens DNA-tester för enskilda sjukdomar. En central resurs för helgenomsekvensering vid Veterinärmedicinsk och Husdjursvetenskapligt Centrum (VHC) byggs med nära koppling till Hundbiobanken (Canine Biobank) för att använda tillgängliga prover i biobanken och främja samarbete mellan klinisk och preklinisk forskning som syftar till att förbättra hundhälsan.

Projektets målsättningar kan sammanfattas i att:

- Bygga upp en core facilitet för Next Generation Sequencing (NGS) för pre-klinisk och klinisk veterinärmedicinsk forskning på hund vid Veterinärmedicinsk och Husdjursvetenskapligt Centrum (VHC) som invigs 2014.
- Utnyttja NGS för helgenomsekvensering av hundar för effektiv identifiering av sjukdomsorsakande mutationer.
- Utvärdera hur förändringen från dagens DNA-tester av ett fåtal gener till sekvensinformation från hela genomet kommer att påverka hundaveln i framtiden.
- Initiera en diskussion kring hur dagens lagstiftning, riktlinjer och avelsrådgivning är anpassade för en situation där enskilda hundars hela arvsmassa är känd och hur denna nya kunskap från helgenomsekvensering kan användas för att öka den genetiska variationen hos hundraser och förbättra hundhälsan.

UPPNÅDDA RESULTAT

Under 2014 har vi genomfört en pilotstudie där vi har utnyttjat helgenomsekvensering för att identifiera de molekylärgenetiska orsakerna till den autosomt recessiva sjukdomen trampdyne-hyperkeratos hos hundrasen kromfohländer. I studien sekvenserades en trio bestående av en affekterad avkomma och dess friska föräldrar.

Eftersom sjukdomen antas vara autosomt recessiv så kunde vi förutsätta att avkomman var homozygot för den sjukdomsorsakande mutationen samt att de båda friska föräldrarna var bärare (heterozygoter). Sekvenseringen i denna pilotstudie genomfördes vid SciLife Lab i Uppsala och för den bioinformatiska analysen byggdes en avancerad "pipeline" av olika datorprogram och databaser upp vid institutionen för husdjursgenetik. Denna "pipeline" användes för att jämföra arvsmassan hos de tre hundarna och identifiera positioner i arvsmassan som uppfyllde villkoret att föräldrarna skulle vara heterozygoter och avkomman homozygot. Därefter filtrerades de mutationer bort som med olika datamodeller

sannolikt kunde antas vara ofarliga. De som mutationer som med stor sannolikhet vara negativa och skadliga i homozygot form analyserades vidare. Efter olika filtreringssteg återstod en sju mutationer som sedan undersöktes i ytterligare åtta individer med hyperkeratos och 16 friska kontroller. Tre mutationer visade sig finnas i homozygot form hos samtliga sjuka individer. Två av dessa mutationer visade sig efter ytterligare analyser ligga i ett område i arvsmassan som inte kodade för ett protein. Därmed återstod en mutation som med stor sannolikhet var orsakande för trampdyne-hyperkeratos hos kromfohländer. Resultaten ska inom kort skickas in till en vetenskaplig tidsskrift.

Denna pilotstudie visade att helgenomsekvensering är en kraftfull metod för att identifiera sjukdomsorsakande mutationer för ärftliga monogena sjukdomar med autosomalt recessiv nedärvning. Detta angreppssätt visar också att helgenomsekvensering en lovande metod för kostnadseffektivt och snabbt identifiera sjukdomsorsakande mutationer.

Sedan vi fick projektet beviljat av SKK/AGRIA's forskningsfond har fakulteten för Veterinärmedicin och Husdjursvetenskap (VH) vid SLU beslutat att göra en strategisk satsning och medfinansiera en infrastruktur för helgenomsekvensering. Under sommaren 2014 inledde vi därför en offentlig upphandling av en Next Generation Sequencing (NGS) plattform för helgenomsekvensering. Upphandlingen är nu i ett slutskede och de olika anbuden utvärderas inför beslutet. Vår bedömning är att en plattform kommer att vara i drift vid Veterinärmedicinsk och Husdjursvetenskapligt Centrum (VHC) kring årsskiftet.