

## Erfðagreiningar dýra

Sigríður Hjörleifsdóttir, Sigurlaug Skirnisdóttir, Alexandra M. Klonowski, Sigurbjörg Hauksdóttir, Steinunn Magnúsdóttir, Kristinn Ólafsson,  
*Mátis-Prokaria, Gylfaflöt 5, 112 Reykjavík*

### Inngangur

Á undanförunum 4-5 árum hefur verið unnið markvisst að uppbyggingu á erfðagreiningum á dýrum hjá Prokaria, líftækisviði Mátis ohf. Í upphafi var unnið að erfðagreiningum á laxi og voru stór verkefni unnin fyrir laxeldisaðila í Kanada og USA. Síðan hefur verið bætt við greiningaraðferðum bæði á fleiri fisktegundum og spendýrum. Prokaria hefur alls greint tugþúsundir sýna og öðlast mikla færni og viðurkenningu á gæðum þessarar þjónustu. Fjöldi erlendra aðila kaupir nú erfðagreiningar hjá Prokaria, enda á mjög samkeppnishæfu verði, sem nú er allt að helmingi ódýrara en hjá samkeppnisaðilum, t.d. á Norðurlöndum. Erfðagreiningar á dýrum geta nýst í margvíslegum tilgangi og má þar nefna foreldragreiningar í kynbótastarfi, sem einstaklingsgreiningar innan tegundar, greiningar á milli tegunda, greiningar á villtum stofnum og í rekjanleika- eða upprunagreiningar (McConnell et al., 1995; O'Connell and Wright, 1997).

Í erfðagreiningu má nota svonefnd erfðamörk en það eru ákveðnir staðir eða DNA raðir sem eru á einhvern hátt greinanlegir í erfðamenginu. Algengt er að nota erfðamörk sem byggjast á endurteknum stuttröðum (microsatellites eða örtungl) sem vitað er að séu breytilegar á milli einstaklinga sömu tegundar. Þessi svæði eru notuð til að smíða DNA vísa eftir, vísarnir eru síðan notaðir í PCR mögnun og breytileiki á milli einstaklinga greindur út frá stærð PCR búta sem myndast (McConnell et al., 1995; O'Connell and Wright, 1997).

Hjá Prokaria hefur einnig verið unnið að þróun á nýjum erfðamörkum fyrir tegundir þar sem ekki voru til birt erfðamörk í því magni sem þörf er á í greiningar af þessu tagi. Þar má nefna 118 ný erfðamörk í þorski og um 100 ný erfðamörk í leturhumri. Auk nýrra erfðamarka sem þróuð hafa verið með raðgreiningu á auðguðum svæðum innan erfðamengisins þá hefur Prokaria einnig þróað erfðamörk sem eru staðsett í sérstökum lykilgenum (candidate genes) sem talið er að hafi bein áhrif á vöxt dýra.

### Erfðagreiningarsett

Erfðagreiningar eru aðferðir sem krefjast mikillar sérfræðilekkingar, mikils tækjabúnaðar og dýrra efna. Unnið hefur verið að þessari uppbyggingu innan fyrirtækisins á undanförunum árum. Til þess að gera þessar greiningar raunhæfan kost er því mjög mikilvægt að hægt sé að vinna allt ferlið á sem hagkvæmastan hátt. Í þessu felst m.a. vel þróuð greiningarsett þar sem greind eru mörg erfðamörk í einu hvarfi og einni keyrslu á raðgreiningarvélinni, að rannsökuð séu mörg sýni í einu þar sem minnsta eining eru 96 sýni í einu, að bestu mögulegu tæki séu notuð og að vel þjálfað starfsfólk vinni verkið þar sem allir verkþættir eru hugsaðir út frá hagkvæmni. Þetta hefur verið haft að leiðarljósi í uppbyggingu á þeim erfðagreiningaraðferðum sem byggðar hafa verið upp hjá Prokaria. Mikil og kostnaðarsöm þróunarvinna liggur að baki hverju erfðagreiningarsetti. Sem dæmi má nefna að til að ná inn 17 erfðamörkum í 3 hvarfblöndur í bleikju þurfti að prófa 70 mismunandi vísapör í fjölmörgum tilraunum. Í Töflu 1 má sjá lista af þeim erfðagreiningarsettum sem búið

er að þróa innan fyrirtækisins. Auk þess eru í þróun erfðagreiningarsett fyrir leturhumar og sandhverfu.

**1. tafla** Erfðagreiningarsett sem eru þróuð og tilbúin til notkunar hjá Prokaria:

Nafn á erfðagreiningarsetti	Tegund lífveru	Erfðamörk
M-001 FengPrint11	Hestur	HMS3, HMS2, UM011, HMS6, ASB23, CA425, VHL20, ATH4, ASB17, HMS1, ASB2
M-002 FengPrint 13	Hestur	AHT5, HMS7, HMS3, HMS2, UM011, HMS6, ASB23, CA425, VHL20, ATH4, ASB17, HMS1, ASB2
M-003 FengPrint 14	Hestur	AHT5, HMS7, HMS3, HMS2, UM011, HMS6, ASB23, CA425, VHL20, ATH4, ASB17, HMS1, ASB2, HTG4
M-004 MinkPrint 11	Hrefna	GATA098, EV1Pm, ZFYX0582, GT310, EV37Mn, GATA417, GT023, GT211, GT509, GATA028, GT575
M-005 MinkPrint 17	Hrefna	GATA098, EV1Pm, ZFYX0582, GT310, EV37Mn, GATA417, GT023, GT211, GT509, GATA028, GT575, GT195, EV094, GATA053, GT011, sam25, EV096
M-006 FinPrint 18	Langreyður	GATA098, EV1Pm, ZFYX0582, GT310, EV37Mn, GT023, GATA417, GT211, GATA028, GT575, GT195, GT307, GATA053, GT011, TAA023, EV094, GGAA520, GT271
M-007 CodPrint 6	Þorskur	Gmo19, nGmo8, Tch11, Tch14, Gmo37, nPGmo38
M-008 CodPrint 9	Þorskur	nGmo8, Tch14, Gmo19, Tch11, Gmo37, Gmo2, Gmo34, Tch5, Tch22
M-009 CodPrint 10	Þorskur	pGmo38, pGmo61, pGmo94, pGmo124, pGmo71, pGmo87, pGmo74, pGmo49, pGmo100, pGmo134
M-010 CodPrint 19	Þorskur	nGmo8, Tch14, Gmo19, Tch11, Gmo37, Gmo2, Gmo34, Tch5, Tch22, pGmo38, pGmo61, pGmo94, pGmo124, pGmo71, pGmo87, pGmo74, pGmo49, pGmo100, pGmo134
M-011 CodPrint 20	Þorskur	nGmo8, Tch14, Gmo19, Tch11, Gmo37, Gmo2, Gmo34, Tch5, Tch22, pGmo38, pGmo61, pGmo94, pGmo124, pGmo71, pGmo87, pGmo74, pGmo49, pGmo100, pGmo134, Panl
M-012 SalPrint 6	Lax	Sp2210, SSa202, SSa171, Sp2215, Sp2201, SSa197
M-013 SalPrint7	Lax	SSa202, Ssa197, SSa171, Ssa85, SSOSL311, SSOSL438, SSa289
M-014 SalPrint 8	Lax	Sp2210, SSa202, SSa171, Sp2215, Sp2201, SSa197, SSa405UOS, SSa421UOS
M-015 SalPrint 15	Lax	SSsp3016, SSsp2210, SSspG7, SSa197, SSa171, SSa202, Sp2201, SsaD157, SsaF43, SsaD144, Ssa14, SsaD486, Sp1605, Sp2216, SSa289
M-016 HalPrint 8	Lúða	Hhi56, HhiA44, HhiI29, HhiC17, HhiJ42, HhiD34, Hhi60, Hhi52

M-017 CloFishPrint 16	Trúðfiskur	79, CF12, CF27, 45, CF3, CF29, CF11, CF16, CF39, CF36, 70, 120, CF9, CF19, CF42, CF35
M-018 CloFishPrint 15	Trúðfiskur	79, CF12, CF27, 45, CF3, CF29, CF11, CF16, CF39, 70, 120, CF36, CF9, CF42, CF35
M-019 RedFish 13	Karfi	SEB9, SEB25, SEB31, SEB33, SEB45, Smen5, Smen10, Sal1, Spi4, Sal3, Sal4, Spi6, Spi10
M-20 ChickPrint	Kjúklingur	LEI94, MCW295, MCW183, GUJ0070, GUJ0097, GUJ0044, MCW34, LEI192, LEI234
M-021 ArcCharrPrint 17	Bleikja	SalD39SFU (Ble4), Ssa410UoS, One11ASC-Prok, Ssa422UoS, Smm10, Omy301UoG-Prok, Ble2, Smm22, SSOSL456, Ssa408UoS, Ble7, SsaD157, SalJ81SFU (ble10), Smm17, Sfo23, Ble5, Smm24
M-022 SheepPrint 11	Sauðfé	OarCP0049, OarFCB0020, OarFCB0011, INRA0005, OarAE0129, HSC, OarFCB0304, INRA0063, MAF0214, INRA0023, CSRD0247
M-023 DogPrint	Hundur*	AHTk211; CXX279; REN169O18; INU055; REN54P11; INRA21; AHT137; REN169D01; AHTh260; AHTk253; INU005; INU030; Amelogenin; FH2848; AHT121; FH2054; REN162C04; AHTh171; REN247M23
M024 CattlePrint11	Kýr	BM2113; TGLA53; SPS115; TGLA126; TGLA122; INRA23; ETH3; BM1824; TGLA227; ETH225; ETH10

\*Ekki þróað hjá Prokaria

### Dæmi um erfðagreiningarverkefni.

Eins og fram kemur í inngangi nýttast erfðagreiningar á dýrum í ýmsum tilgangi. Verða hér nefnd nokkur dæmi um verkefni sem unnin hafa verið hjá Prokaria á undanförunum árum.

**Hestar (spendýr, eldi):** Á þeim 3 árum sem hestagreiningar hafa verið í gangi hjá Prokaria hafa um 10.000 sýni verið erfðagreind og niðurstöður sendar í World Feng gagnagrunninn. Í fyrstu voru notuð 11 erfðamörk en síðar var þeim fjölgað í 13 erfðamörk. Prokaria útbýr sýnatökusett sem innihalda búnað fyrir 25 sýni. Búnaðarsamböndin og dýralæknar panta síðan sýnatökubúnaðinn hjá Prokaria og hann er sendur með pósti. Eftir að búið er að taka sýnin, sem eru stroksýni úr nösnum hestanna eru þau send aftur til Prokaria. DNA er einangrað úr stroksýnunum og síðan eru efnahvörfin gerð og þau greind á raðgreiningarvél fyrirtækisins. Aflestur er unnin og yfirfarinn af sérfræðingum Prokaria sem útbúa exceltöflur með arfgerðum hestanna. Exceltöflunum er svo hlaðið inn í World Feng sem ber saman arfgerð afkvæma og foreldra og gefur svo meldingu um hvort að samanburður standist kröfur eða ekki.

Margar sérgreiningar hafa einnig verið unnar hjá Prokaria þar sem verið er að leysa úr vafamálum. Dæmi um slíkt vafamál er greining á hesti sem verið hafði lengi í stöði hjá öðrum aðila en eigandanum. Hesturinn var ekki merktur með örmerki þegar eigandinn fékk hestinn til baka þá vildi hann meina að það væri ekki réttur hestur. Hann vissi hverjir foreldrarnir voru og með erfðagreiningu mátti finna út að eigandinn hafði rétt fyrir sér þ.e. hann hafði ekki fengið réttan hest til baka.

**Lax (fiskur, villtur):** Í alþjóðlegu verkefni um laxa í Atlantshafi er markmiðið að geta rakið lax í Atlantshafinu til upprunaár sinnar (eða ársvæðis). Þetta er m.a. til þess að geta rakið farleiðir laxa í hafinu. Í samstarfi við Veiðimálastofnun hefur Mátis-Prokaria erfðagreint yfir 4000 laxasýni úr 42 ám á Íslandi með 15 erfðamörkum sem allir aðilar verkefnisins hafa komið sér saman um að nota. Hvert land fyrir sig rannsakar sínar heimaár og síðan eru öll gögn sett í sameiginlegan gagnagrunn. Að verkefninu vinnur doktorsneminn Kristinn Ólafsson undir leiðsögn frá Háskóla Íslands, Veiðimálastofnun og Hafrannsóknastofnuninni.

**Þorskur (fiskur eldi):** Þorskeldisfyrirtæki sem valið hefur að byggja ekki upp hefðbundið kynbótaprógramm með aðskildum fjölskyldum hefur látið erfðagreina allan foreldrastofn sinn með það að markmiði að velja saman fiska til undaneldis sem eru fjarskyldir en samt með ásættanlegan kynbótastuðul. Með skyldleikatré og kynbótastuðlum getur fyrirtækið valið saman hrygnur og hænga sem verða til þess að erfðabreytileikinn helst í hámarki um leið og valið er fyrir æskilegum eiginleikum (s.s. örur vexti).

### Heimildir

McConnell S. K., Hamilton L., Morris D., Cook D., Paquet D., Bentzen P. & Wright J. M. 1995. Isolation of salmonid microsatellite loci and their application to population genetics of Canadian east coast stocks of Atlantic salmon. *Aquaculture* 137: 19–30.

O'Connell M. & Wright J. M. 1997. Microsatellite DNA in fishes. *Reviews in fish biology and fisheries* 7: 331-363.