

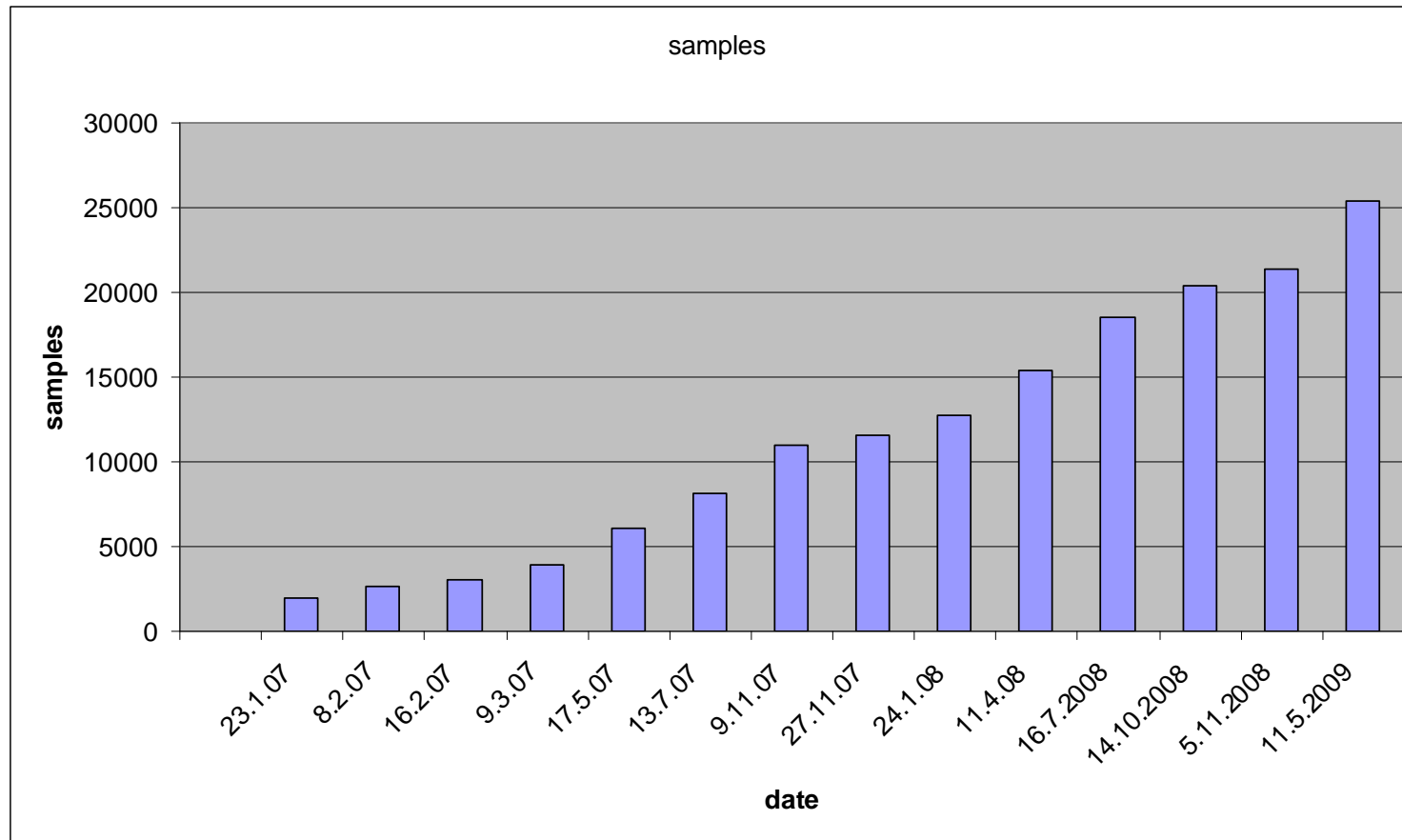


## Geenitutkimukset – tilannekatsaus

- Miten geenejä tutkitaan?
- Complex traits – voiko niihin vaikuttavia geenejä löytää?
- Saksanpaimenkoiran projektit - tilannekatsaus

Katriina Tiira, FT, Peruseläinlääketieteen laitos, PL 66, Helsingin yliopisto, [katriina.tiira@helsinki.fi](mailto:katriina.tiira@helsinki.fi)

# Koirien DNA-pankki Suomessa 2009



Näytteitä kerätty ~260 eri rodusta

## Yleisimmät sairaudet geenipankissa

<b><u>Sairaus</u></b>	<b><u>Sairaiden määrä</u></b>
Epilepsia	834
Allergia	889
Sydänviat	219
Hammaspuutokset	791
Silmäsairaudet	320
Toistuvat tulehdukset	572
Kivesviat	319
Autoimmuunisairaudet	200
Kilpirauhasen vajaatoiminta	177
Luustosairaudet	898

# Tutkimuksen päävaiheet

**Näytteiden ja sukutaulujen kerääminen (kasvattajien rooli!)**



**Geenin paikantaminen kromosomiin (koiralla 39)**

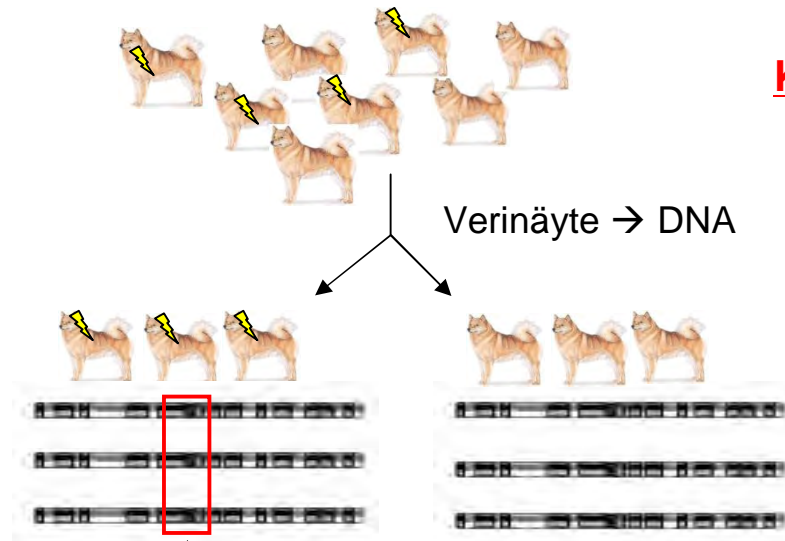


**Geenivirheen tunnistaminen paikannetusta  
kromosomialueesta**



**Geenitestin kehittäminen jalostuksen apuvälineeksi**

# Tauti/ominaisuus geenien kartoittaminen koirista

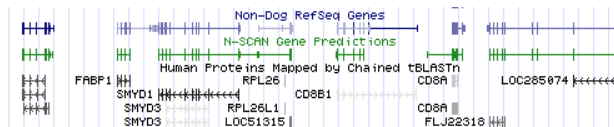


**Kerätään sairaat ja terveet rodusta**

**→ Paikannetaan geenialue/alueet kromosomiin DNA-markkereilla**



**Tarkennetaan aluetta toisten rotujen avulla**



**Tunnistetaan geenivirhe**

## Complex traits (monimutkaista periytymismallia noudattavat ominaisuudet)

- Aikaisemmin oli vaikea päästä käsiksi ominaisuuteen johon vaikuttaa monta geeniä
- Tällä hetkellä olemassa menetelmiä, joilla se on mahdollista
- Genome-wide association analysis (GWAS), koko perimän laajuinen kartoitus
- mm. käyttäytymiseen ja persoonallisuuteen vaikuttavia geenejä etsitään mm. hiireltä, ihmiseltä, koiralta jne.
- Koiralla 10-100 kertaa helpompi löytää ihmiseen verrattuna yksinkertaisemman perimänsä vuoksi

## Käyttäytymiseen assosioituvia geenialueita ja mahdollisia kandidaattigenejä Koiralla - esimerkki

**Table 2.** QTLs associated with behavior

Trait	Chromosome	Position	Log <i>P</i>	GWT	No. of genes	Candidate genes
Herding	<b>CFA 1</b>	<b>27630805</b>	<b>7.20</b>	<b>0.001</b>	<b>4</b>	<i>MC2R, C18orf1</i>
Boldness	CFA 4	40782966	4.15	0.05	7	<i>DRD1</i>
Pointing	CFA 8	33344686	5.33	0.05	6	<i>CNIH</i>
Boldness	<b>CFA 15</b>	<b>44137464</b>	<b>5.05</b>	<b>0.001</b>	<b>5</b>	<i>IGF1</i>
Boldness	<b>CFA 22</b>	<b>25446003</b>	<b>6.09</b>	<b>0.001</b>	<b>1</b>	<i>PCDH9</i>

As in Table 1, a genome-wide SNP scan was used to associate SNP markers with several behavioral phenotypes: pointing, herding, and boldness. Phenotypic data is available in Jones et al. (2008). From left to right, columns list the trait, chromosome, CanFam2 nucleotide position on the chromosome, the log *P* value of the significance, the genome-wide threshold (GWT) of significance, number of known genes in the LD interval (400 kb), and possible candidate genes. The GWTs for the 3 traits were herding:  $0.01 < P < 0.05 = 4.38$ ;  $P < 0.01 = 5.04$ ; pointing:  $0.01 < P < 0.05 = 4.69$ ;  $P < 0.01 = 5.69$ ; Boldness:  $0.01 < P < 0.05 = 4.09$ ;  $P < 0.01 = 4.81$ . More significant loci are in bold. Italics denote genes.

*Journal of Heredity* 2009;100(Supplement 1):S37–S41  
doi:10.1093/jhered/esp011

# Saksanpaimenkoira mukana

- Käyttäytyminen & luonne
  - Saalistushalukkuus
  - Ääniarkuus
  - Hännänjahtaus (uusi)
- Sairaudet
  - Perianaalifistelia
  - Pannus
  - Haiman vajaatoiminta
  - Epilepsia
  - Sydän-, ja verisuonisairaudet
  - Atopia

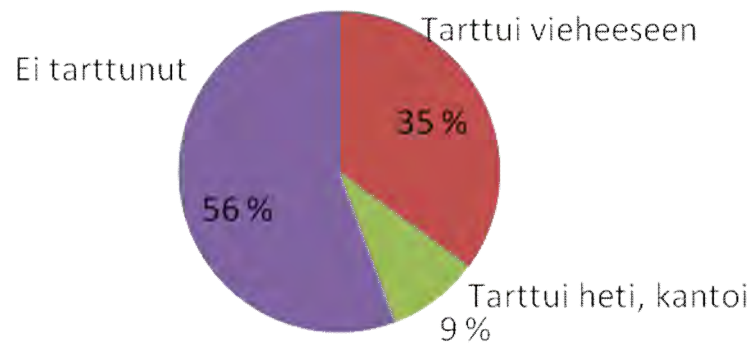


# Saalistushalukkuus

- tavoitteena pyrkiä löytämään saalistushalukkuuteen vaikuttavia geenejä
- Osallistujia 274 sp sekä 107 suursnautseria
- Metodi : Luonnelomake (omistajan näkemys koirasta) sekä MH kuvauksen saalistusosa
- 21 koira tekivät testin kahdesti, toistettavuus hyvä ( $r=0.84$ ,  $P=0.0000$ )
- Tarkoitus löytää ääripäät
- Luokittelu S1, S2, S3 ja rauhallinen

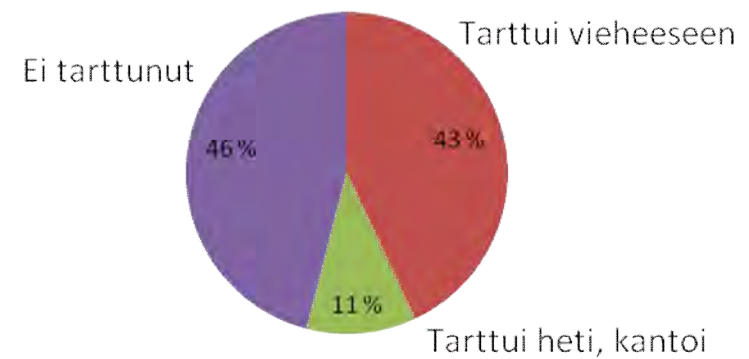
# Saalistushalukkuus

Viehetesti  
saksanpaimenkoira



14% rauhallisia

Viehetesti  
suursnautseri

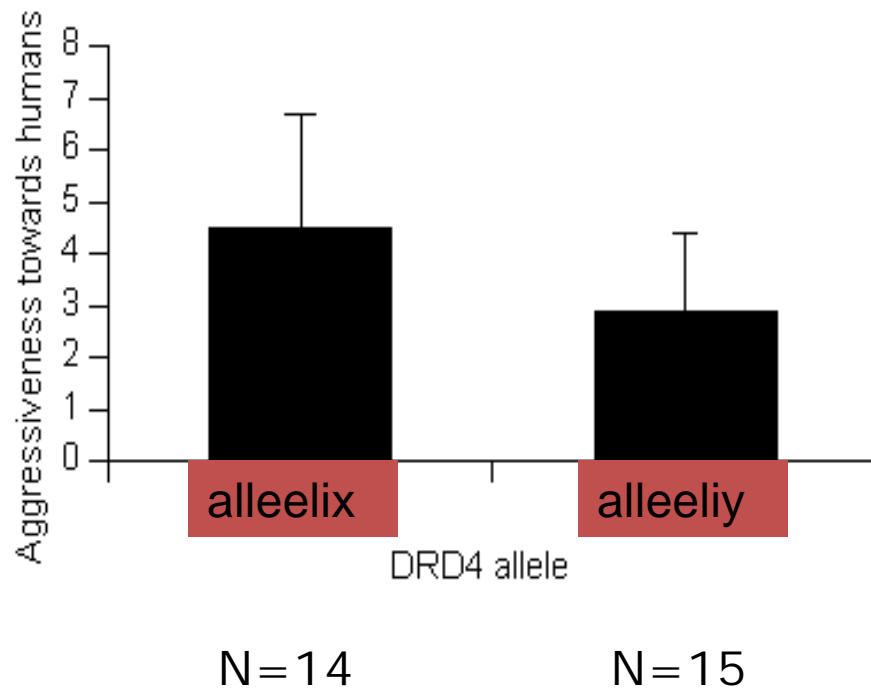


9 % rauhallisia

# Saalistushalukkuus & DRD4

- DRD4 dopamiinireseptori, eräs yleisimmistä käyttäytymiseen yhdistetyistä kandigeeneistä (ihmisillä mm. Novelty seeking, mieliala-häiriöt, ADHD; eläimillä boldness)
- Mahdollinen assosiaation saalistushalukkuuden kanssa?? (Gradu: Tarja Kainlauri)
- Ei assosiaatiota (48+48), mutta löytyi assosiaatio koiran käyttäytymiseen ihmisiä kohtaan (luonnelomakkeiden tiedot)

# DRD4 ja aggressiivisuus



- Tietty alleeli löytyi useammin niiltä koirilta, jotka suhtautuvat ystävällisemmin ihmistä kohtaan
- Kruskal-Wallis  $F=5.03$ ,  $Df=1$ ,  $P=0.033$

# DRD4 assosiaatio

- Uteliailla, rohkeilla koirilla (tutustuvat nopeasti uuteen tilaan) useammin tietty genotyyppi
- Kruskal-Wallis  $F=3.20$ ,  $Df=2$ ,  $P=0.0524$
- Lisää näytteitä analysoidaan parhaillaan, ja tuloksia varmistetaan isommassa koiramäärässä

# Saalistushalukkuus

- Luonnelomake – faktorianalyysi luonteenpiirteistä:
  - Tavoitteena saada min määrä keskenään korreloimattomia muuttujia isosta määrästä alkuperäisiä muuttujia
- Koko aineisto mukana (noin 400 koiraa)

# Persoonallisuuskategoriat kyselyn perusteella tässä tutkimuksessa

Leikkisyys/vilkkaus

Rohkeus

Aggressio

Uteliaisuus/sosiaalisuus

# Persoonallisuuskategoriat kyselyn perusteella tässä tutkimuksessa

## FACTOR 1 Leikkisyys/vilkkkaus

- Onko koira innostunut leikkimisestä, lelut, rätit, pallo? Onko koiraa helppo motivoida leikillä ja leluilla? (0.66)
- Miten arvioisit koirasi vilkkauden asteikolla 1-5? (0.63)
- Halukkuus lähteä liikkuvan 'saaliin' (pyörä, juoksija, tms.) perään (0.49)
- Lähteekö koira helposti riistan (jänikset, linnut ym.) perään (0.38)

## FACTOR 2 Rohkeus

- Miten innokkaasti koira tutustuu uuteen paikkaan ja uuteen tilaan? Miten utelias koira on? (0.52)
- Miten koira suhtautuu outoihin ja pelottaviin tilanteisiin? (0.69)
- Miten arvioisit koirasi luonteen rohkeus-arkuus akselilla? (0.67)

## FACTOR 3 Aggressio

- Miten koira suhtautuu vieraisiin ihmisiin? (-0.53)
- Onko koirasi aggressiivinen tutuille tai vieraille ihmisille? (ei omistaja) (0.60)
- Miten usein koirasi osoittaa yllä kuvaamiasi aggressiivisia eleitä kohdatessaan tuttuja tai vieraita ihmisiä?
- samat, mutta koiria kohtaan (0.40)

# Persoonallisuuskategoriat kyselyn perusteella tässä tutkimuksessa

## FACTOR 4

### Uteliaisuus/sosiaalisuus

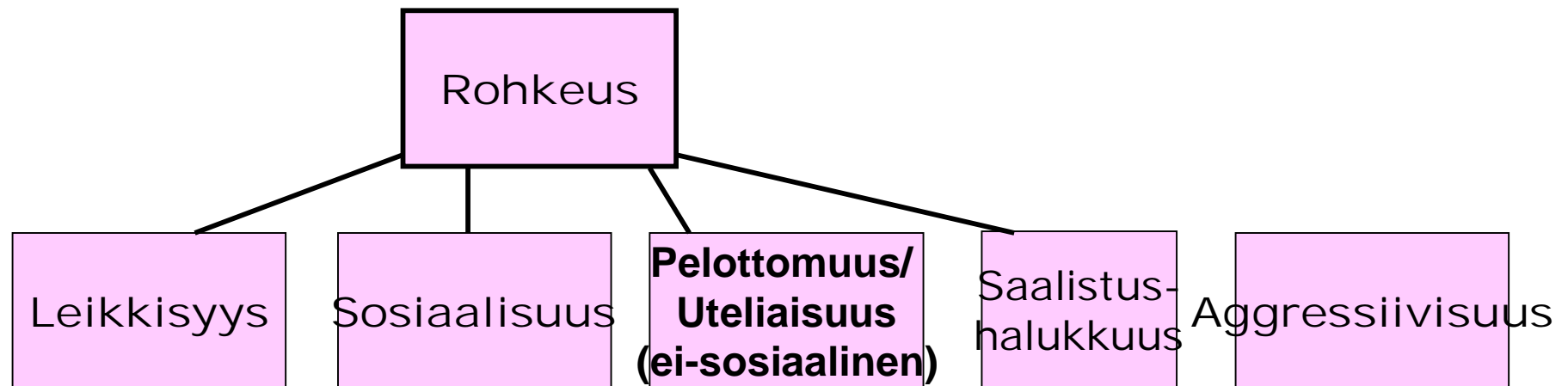
-Miten koira suhtautuu  
vieraisiin ihmisiin?

(0.59)

- Miten innokkaasti koira  
tutustuu uuteen paikkaan ja  
uuteen tilaan? Miten utelias  
koira on? (0.53)

# Saalistushalukkuus

- Neljä pääfaktoria, rohkeus, leikkisyys, aggressiivisuus, uteliaisuus/sosiaalisuus
- Svartberg & Forkman 2002: MH kuvaukseen perustuvat persoonallisuuskategoriat (yli 15 tuhatta koiraa, 164 rotua):



- kooste kolmesta tutkimuksesta (Ley et al 2009, Jones & Gosling 2005, Svartberg & Forkman 2002) :

Pelokkuus/pelottomuus 3

Sosiaalisuus 3

Vilkkkaus  
Aktiivisuus 2

Koulutettavuus 2

Aggressiivisuus 2

Alistuvuus 1

Sinnikkyys 1

Leikkisyys 1

saalistushalukkuus 1

Reaktiivisuus 1

# Mikä selitti parhaiten viehetestin tulosta?

## Leikkisyys/vilkkaus

- Onko koira innostunut leikkimisestä, lelut, rätit, pallo? Onko koiraa helppo motivoida leikillä ja leluilla? (0.66)
- Miten arvioisit koirasi vilkkauden asteikolla 1-5? (0.63)
- Halukkuus lähteä liikkuvan 'saaliin' (pyörä, juoksija, tms.) perään (0.49)
- Lähteekö koira helposti riistan (jänikset, linnut ym.) perään (0.38)

## Rohkeus

- Miten innokkaasti koira tutustuu uuteen paikkaan ja uuteen tilaan? Miten utelias koira on? (0.52)
- Miten koira suhtautuu outoihin ja pelottaviin tilanteisiin? (0.69)
- Miten arvioisit koirasi luonteen rohkeus-arkuus akselilla? (0.67)

## Aggressio

- Miten koira suhtautuu vieraisiin ihmisiin? (-0.53)
- Onko koirasi aggressiivinen tutuille tai vieraille ihmisille? (ei omistaja) (0.60)
- Miten usein koirasi osoittaa yllä kuvaamiasi aggressiivisia eleitä kohdatessaan tuttuja tai vieraita ihmisiä?
- samat, mutta koiria kohtaan (0.40)

# Saalistushalukkuus

Yksittäisistä kysymyksistä parhaiten selittivät viehetestin tulosta:

- Uteliaisuus ( $P=0.0099$ )
- Miten suhtautuu pelottaviin tilanteisiin? ( $P=0.0147$ )
- Miten leikkisä koira on ( $P=0.0173$ )

# Saalistushalukkuus

- Viehesuoritusta siis selitti parhaiten koiran rohkeus, uteliaisuus (ja myös leikkisyys) – miksi ei vaikkapa pyörän jahtaus tai riistan ajo?
- Tilanne uusi kaikille – silloin ratkaisee luontainen rohkeus/suhtautuminen uusiin tilanteisiin
- Koulutuksen vaikutus suurin pyörän jahtauksessa sekä riistan ajossa
- Vastaavasti omistaja koki että koulutuksella ei paljoakaan vaikuteta aggressiivisuuteen, uteliaisuuteen, rohkeuteen, miten suhtautuu pelottaviin asioihin, miten suhtautuu ihmisiin.

# Saalistushalukkuus

- Tavoite tehdä vielä koko perimänlaajuinen kartoitus
- Saalis'vietti' – saalistushalukkuus viehetestissä, kuvaavatko samoja asioita? Mistä saalis'vietti' koostuu?

# Ääniarkuus

- Ääniarkuudelle saatu korkeita periytymisasteita (van der Waaij et al. 2008: 0.56 labradori)
- Ääniarkuuteen vaikuttavien geenien etsiminen – yhteistyössä Steve Hamilton (Univ. of California)
- Näytteitä kerätty Suomesta tähän mennessä 410 (172 case + 238 control) 72 rodusta
- Saksanpaimenkoirien näytteitä mukana tutkimuksessa 56kpl – analysoidaan parhaillaan

# Hännänjahtaus

- Stereotyyppinen käyttäytymismalli, (Obsessive Compulsive Disorder, OCD) – eläin suorittaa tiettyä toimintaa liiallisessa määrin tilanteeseen nähden.
- Pakko-oireisuus ihmisillä
- Mm. hännänjahtaus, valojen ja varjojen jahtaus, 'näkymättömät' kärpäset, liiallinen nuoleminen/pureminen (esim. tassut, ilman fyysistä syytä)

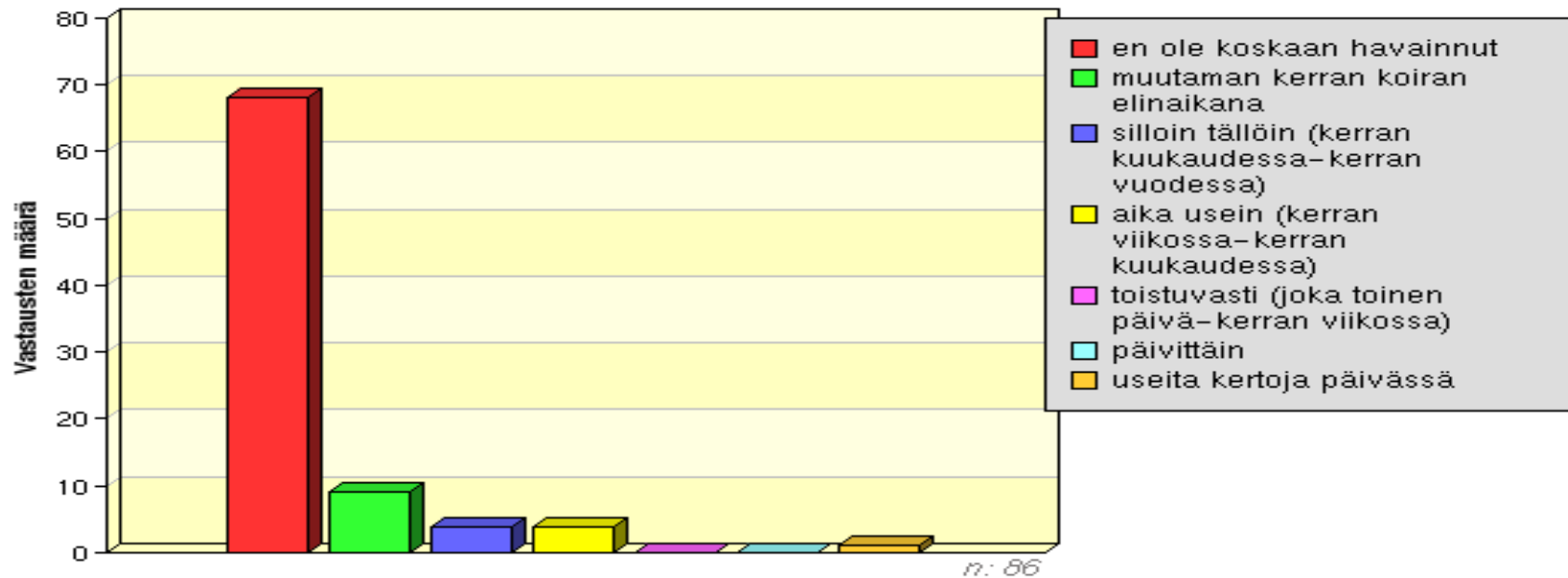
# Hännänjahtaus

- Oletetaan olevan periytyvä piirre - esiintyy paljon (maailmanlaajuisesti) bullterriereissä sekä saksanpaimenkoirissa
- Tutkimus aloitettu yhteistyössä Dr Paul Arnoldin kanssa (Hospital of Sick Kids, Toronto) – tutkimuksen toivotaan auttavan vastaavaa ihmistutkimusta
- Mukana suomalaiset bullterrierit ja yhteistyöhön mukaan toivotaan myös saksanpaimenkoirat
- Kysely webbiversiona

# Hännänjahtaus

Jahtaako / pureeko koira häntäänsä

Vastausten absoluuttinen jakauma



# Arkuus

- Arkuus-rohkeus on persoonallisuus-jatkumo, joka löydetty kaikista tutkituista eläinlajeista tähän mennessä (kalat, matelijat, linnut, ihmiset, koirat Gosling 2001, Sih *et al.* 2004, Bell 2007)
- Koirien pelokkuudelle arvioitu korkeita periytymisasteita (jopa 0.49; Goddard & Beilharz 1983)
- Yleistynyt kaikissa roduissa – yksi syy näyttäisi olevan näyttelymeriitteihin keskittyvä jalostus (Svartberg 2006)

# Arkuus

- Arkuuden taustalla 1) geneettinen alttius 2) puutteellinen sosiaalistaminen 3) huonot kokemukset
- Arkuus, jolla geneettinen tausta: krooninen ja koko elämänmittainen yleistynyt arkuus (Lindsay 2001)
- Data kerätään 1) kyselylomakkeella sekä 2) testaamalla osan koirista
- Tanskandoggi päärotuna (rotuyhd aloite)- vastauksia tullut tähän mennessä 560, 94:stä eri rodusta

# Perianaalifistelia

- Perianaalifistelia on suolistosairaus, autoimmuunisairaus, jonka voi laukaista mm. bakteeri-, ja hiivatulehdukset sekä stressi. Yli 80% hoidetuista tapauksista sp:llä
- Aikaisemmin löydetty riskialleeli DRB1\*00101 (tutkimuksessa oli mukana suomalaisia sp)
- Yksi kopio riskialleelistä (heterotsygoottinen): sairastumisriski 5-kertainen
- Kaksi riskialleelia (homotsygoottinen): sairastumisriski 5-kertainen ja sairastuu nuorempana kuin jos heterotsygoottisena

# Perianaalifistelia

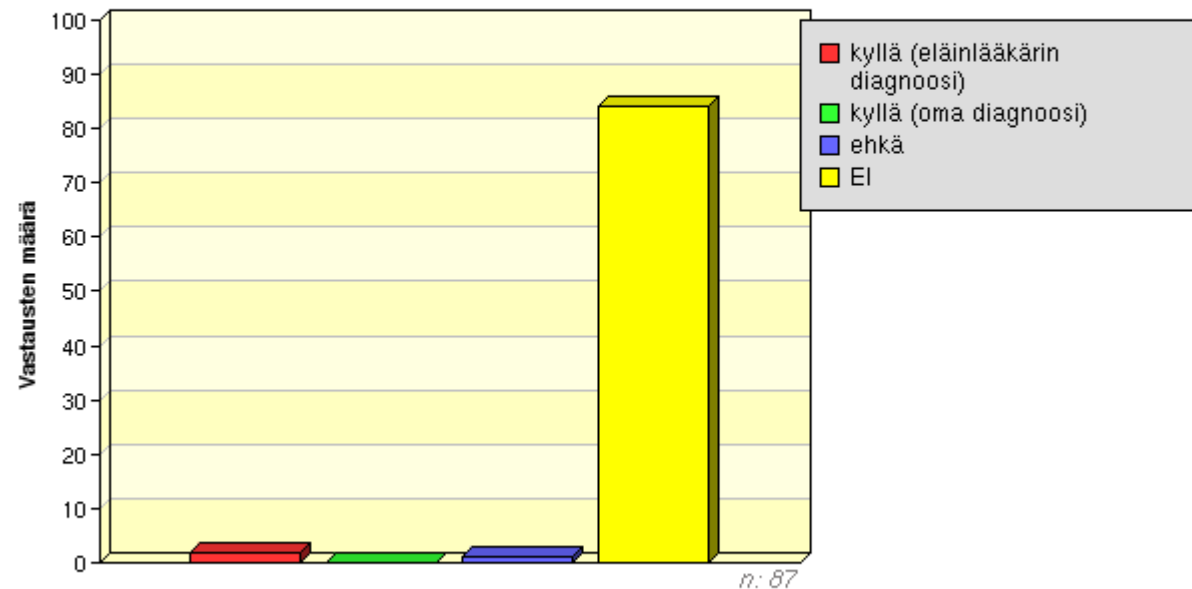
- Saalistushalukkuustestin 'kylkiäisenä' genotyypattiin 273 sp riskialleelin suhteen
- 88.3% ei kannata riskialleelia
- 11% riskialleeli heterotsygoottisena (30 koiraa)
- 0.7% riskialleeli homotsygoottisena (2 koiraa)
- Kellään koiralla ei ollut oireita viime vuonna – kysely on lähetetty omistajille, jossa kysytään mm. koiran tämän hetkistä terveydentilaa – vastausaikaa 1.12 saakka.

# Perianaalifistelia

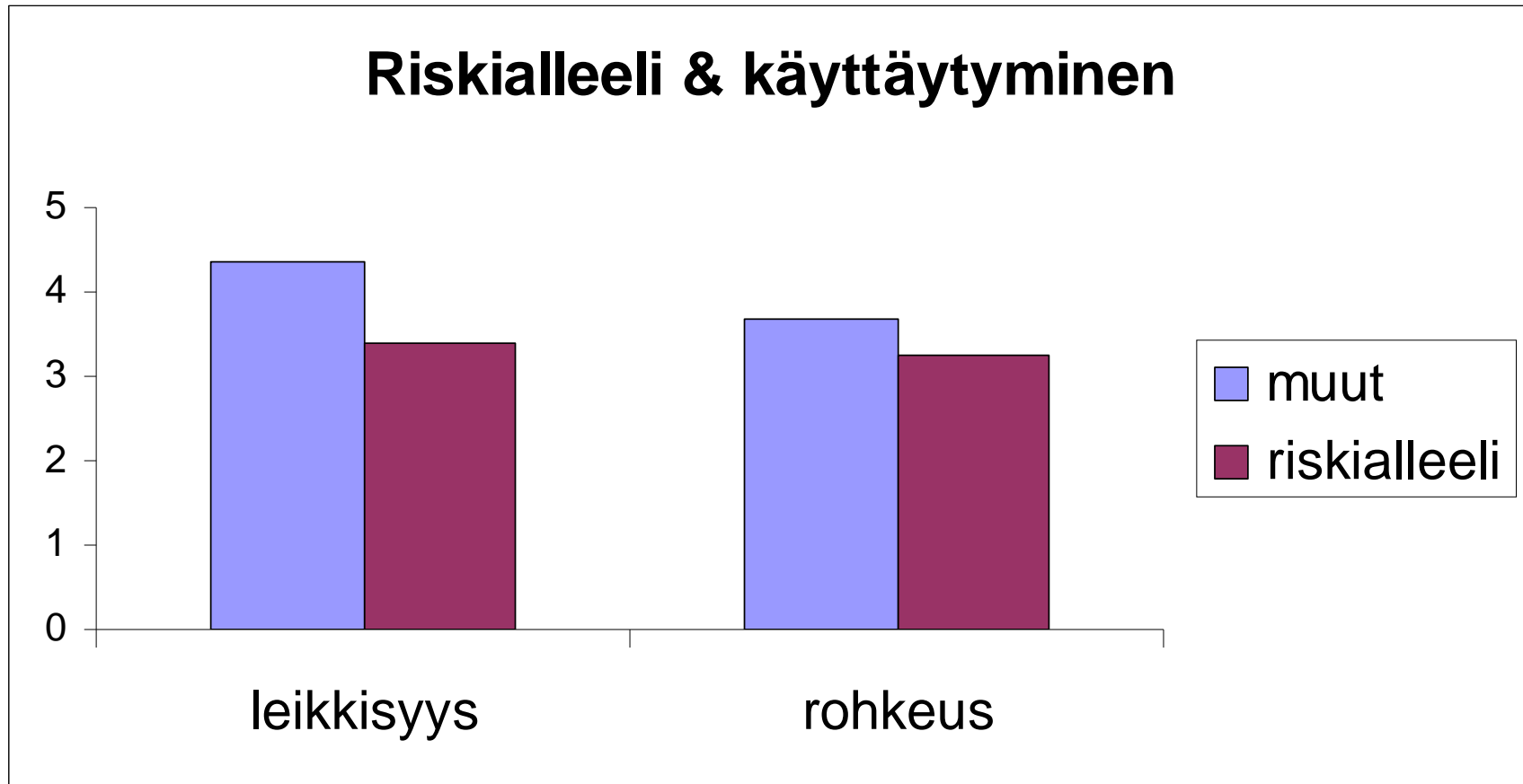
- Tilanne tällä hetkellä: 38% vastannut kyselyyn, toivotaan lisää vastauksia
- Näistä:

Perianaalifistelia  
Sairastaako koirasi perianaalifisteliää?

Vastausten absoluuttinen jakauma



# Erot koirien välillä, joilla on 00101 alleeli ja joilla ei ole



# Erot koirien välillä, joilla on 00101 alleeli ja joilla ei ole

- Mistä johtuvat erot käyttäytymisessä ja luonteessa?
- Kukaan alleelin kantajista ei kuitenkaan vielä sairas, tai edes oireita..? Vaikuttaako kuitenkin käyttäytymiseen vaiko..
- Riskialleeli-koirat eri populaatiosta, jossa eri jalostetut ominaisuudet (näyttely/työlinja)...?

# Pannus

- Canine chronic superficial keratitis (CSK)
- Progressiivinen, bilateraalinen arpikudoksen muodostuminen ja verisuonittuminen sarveiskalvolle
- Johtaa hoitamattomana sokeutumiseen
- Vastaa immunosuppressiiviseen lääkehoitoon
- Kohonnut MHC II ekspressio sarveiskalvoilla

**Vastaaja tutkija Päivi Jokinen, [pzjokine@gmail.com](mailto:pzjokine@gmail.com)**

# Risk factors for development of chronic superficial keratitis in dogs

Chavkin et.al. J Am Vet Med Assoc. 1994 May 15;204(10):1630-4.

- Prevalenssi korreloi asuinpaikan korkeutta maanpinnasta (UV-säteily)
- Belgianpaimenkoira tervuren, saksanpaimenkoira, bordercollie, englanninvinttikoira, siperian husky ja Australianpaimenkoira riskirotuja
- 4-7 –vuotiaiden riski sairastua 2.36 suurempi kuin alle 4- vuotialilla. ( $P < 0.05$ ).
- $< 4$  –vuotiaista leikatut nartut ja urokset riippumatta steriloinnista alttiimpia sairastumaan.

# Pannuskysely

- Pannuskysely lähetetty; 22/30 pannuskoiran omistajasta vastannut
- Kontrollikoirien omistajista 30/60 vastannut kyselyyn.
- Tarvitaan loput kyselyt.

# MHC II assosiaation tutkiminen

## ALUSTAVAT TULOKSET:

- Mahdollinen riskihaplotyyppi
- Mahdollinen suojaava haplotyyppi
- Kliiniset tutkimukset tekemättä kontrolleille – yksi peilattu terveeksi.
- Kutsutaan osa pannuskyselyn saaneista koirista peilaukseen.

# Saksanpaimenkoira mukana myös näissä tutkimuksissa

- Haiman vajaatoiminta
  - 18 näytettä lähetetty Englantiin, hienokartoitusvaihe
- Atopia
  - Yhteensä 42 atopia/allergia/kutina oireisesta koirasta näyte, atopiakyselyn täyttänyt näistä 5. LISÄÄ NÄYTTEITÄ TARVITAAN!
- Epilepsia
  - 6 (+1 mahdollinen) koirasta näytteet
  - Englannissa analysoitu saksanpaimenkoira mukana (ei suomalaisia näytteitä) – lokusta ei ole pystytty paikallistamaan. LISÄÄ NÄYTTEITÄ TARVITAAN!
- Sydän- ja verisuonisairaudet
  - Tällä hetkellä mukana 58 saksanpaimenkoiraurosta, juuri nyt projektiin ei kaivata enempää koiria



Kiitos yhteistyöstä!

[www.koirangeenit.fi](http://www.koirangeenit.fi)