

Selvennyksiä saksanpaimenkoirarodun perinnölliseen eriytymiseen

Lyhyt tutkimusraporttimme saksanpaimenkoiralinjojen perinnöllisestä eriytymisestä on herättänyt kovasti kiinnostusta, keskustelua ja myös kysymyksiä eri foorumeissa. Tervehenkinen kritiikki tutkimuksen aineistoa, metodeja, analyysijä ja johtopäätöksiä kohtaan on tervetullutta ja osa tutkijoiden arkea. Olemmekin laatineet vastauksia ja tarkennuksia keskeisiin tutkimusta ja tutkimusraporttia koskeviin kysymyksiin.

Miksi tutkimusraportti laadittiin?

Lähes vuosi sitten (elokuu/2011) silloinen SPL jalostustoimikunta esitti tutkimusryhmälle kysymyksen näyttely- ja käyttölinjojen mahdollisesta perinnöllisestä eriytymisestä: muodostavatko linjat omat geenivarantonsa ja ne ovatko ne näin vähitellen eriytyneet jalostuksen tuloksena omiksi linjoikseen.

Meillä on tutkimusryhmässä aktiivisesti käynnissä useita eri rotuja koskevia tutkimusprojekteja. Projekteissa selvitämme erilaisten ominaisuuksien ja sairauksien taustalla olevia geenejä. Geenien tunnistamista varten koirien perimä analysoidaan nk. 'perimän laajuisella analyysillä', jossa jokaisen koiran perimä testataan ~173 000 eri kohdasta. Tästä analyysistä saatua 'perimäkuva' verrataan sitten tapausten (esim. sairas, tai tietyn ominaisuuden omaava) ja verrokkien välillä geenien paikantamiseksi. Osana tätä analyysia näemme myös samalla tutkittavan populaation (rodun) rakenteen. Lähisukulaisten perimä muistuttaa keskimäärin enemmän toisiaan kuin kaukaisempien sukulaisten. Tämä voidaan havainnollistaa raportissakin esittämällämme klusterikuvalla (kuva 1). Koirat, joiden perimät muistuttavat (samankaltaiset alleelifrekvenssit) toisiaan asettuvat kuvassa lähemmäksi toisiaan.

Tautigeenien tunnistamisessa on erittäin tärkeää tietää myös tutkimuspopulaation sisäinen rakenne, koska sillä on suuria vaikutuksia tutkimusasetelmaan ja tulosten analysointim metodeihin väärin positiivisten tulosten välttämiseksi. Tutkimusraportissa esitelty populaatorakenne saksanpaimenkoirille on syntynyt osana tällaista geenitutkimusprojektia ja projektin yhteydessä saatu tietoa on hyödynnetty vastaamaan jalostustoimikunnan kysymyksen.

Vaikka varsinaisten sairausgeenien löytäminen on usein pääasiallinen tavoitteemme, on hyvä, että voimme tutkimustemme kautta tarjota vastauksia myös muihin mahdollisiin rotua koskeviin kiinnostaviin kysymyksiin. Täytyy muistaa, että ilman koiran omistajien, kasvattajien ja rotujärjestöjen vapaaehtoista tukea ja ponnisteluja näytteiden keräämiseksi, ylipäättään mikään geenitutkimus ei olisi mahdollista.

Onko tutkimus tieteellisesti pätevä?

Tutkimuslaboratoriomme on kansainvälisesti tunnustettu ja palkittu ja käytämme vain kansainväliselle tasolle riittäviä tutkimus- ja analyysimenetelmiä. Vaikka saksanpaimenkoirien linjojen geneettinen eriytyminen on tärkeä asia kasvattajien ja rodun harrastajien piirissä, populaation eriytyminen alapopulaatioihin voimakkaan suuntaavan valinnan seurauksena ei ole kuitenkaan tieteellisesti uusi asia, eikä sinällään kovinkaan merkityksellinen löydös tieteelliseltä kannalta (esim. koirat: Chang et al 2010). Tutkimuksessa käytetystä metodiikasta kertovaa tieteellistä kirjallisuutta löytyy paljon, ja voimme välittää teille artikkeleita mikäli haluatte perehtyä niihin paremmin.

Tutkimusraportissa esitelty linjojen eriytymistä käsittelevä julkaisu ei olisi tieteellisesti riittävän uusi tai kiinnostava, jotta sitä kannattaisi edes tarjota kansainväliselle tiedelehdelle ja

siten vertaisarviointiin. Tänä päivänä populaatiorakennetta koskevat asiat julkaistaan yleensä osana isompaa tutkimuskokonaisuutta. Tämän vuoksi päädyimme tällä kertaa lyhyempää tutkimusraporttiin SPL:lle.

Koska raportti oli suunnattu koiraharrastajille, eikä tieteelliseen artikkelisarjaan, on se kirjoitettu mahdollisimman selkeästi, jättämällä tarkemmat metodi- ja analyysikuvaukset pois. Tämä ei kuitenkaan millään tavoin kumoa tutkimuksen tieteellistä arvoa. Koska rotujen rakennetta koskeva aihepiiri kiinnostaa koiraväkeä, suunnittelemme laajemman ja perusteellisemman artikkelin kirjoittamista esim. Koiramme-lehteen eri rotujen esimerkein.

Pieni otoskoko?

Tutkimusraportissa esitetty aineisto koostuu koirista, jotka ovat olleet mukana meneillään olevissa saksanpaimenkoiraa koskevissa tutkimuksissa. Aineistoa ei kerätty nimenomaisesti tätä analyysiä varten. Vaikka tutkimusaineiston koko ei ollutkaan erityisen suuri, tulokset osoittavat käyttö- ja näyttelylinjojen selvän eriytymisen. Pieni otoskoko tässä tapauksessa vieläpä vahvistaa tulosta eriytymisestä. Suurin osa koirista on lähtöisin eri kasvattajilta niin näyttö- ja kuin käyttölinjoissa, ja siten aineisto on pienuudessaankin jo nyt suhteellisen kattava.

Odotamme uusia tuloksia lonkkavikaprojektista suomalaisilla saksanpaimenkoirilla lähiaikoina ja niillä voidaan täydentää aiempaa tutkimusta. Suunnittelemme myös suurempaa reilun 500 saksanpaimenkoiran analysointia Suomesta ja Saksasta syksyn aikana ja se havainnollistaisi mahdollisia maiden välisiä eroja populaatiorakenteessa.

Mikäli, rotuyhdistykset haluavat vielä suurempaa populaatiorakenteen tutkimusta, tutkimusryhmämme on valmis analysoimaan rotuyhdistyksen kustannuksella lisää koiria tarkemman populaatiogeneettisen ja monimuotoisuuden analyysin suorittamiseksi. Varsinainen kiinnostuksemme jatkotutkimuksissa on selvittää voitaisiinko hyvistä käyttö- tai näyttelylinjan koirista tunnistaa tarkemmin vielä ”huippukoirat” perimän analyysin perusteella. Tähän jatkotutkimukseen tarvitsemme kuitenkin tiivistä yhteistyötä SPL:n ja SAKU:n asiantuntijoiden kanssa.

Miten koirat on valittu tutkimukseen?

Koirat on valittu alun perin meneillään oleviin tutkimusprojekteihin, ko projektin kriteereiden mukaisesti, eikä siis varsinaisesti populaatiorakenteen tutkimukseen. Koirat määritteli linjoihin SPL:n silloinen jalostustoimikunnan jäsen Keijo Kodis. Linjajaottelun on tarkistanut myös SPL:n Juha Puurunen. Koira määriteltiin käyttölinjaiseksi, mikäli sen viiden sukupolven sukutaulussa esiintyy tunnettuja käyttökoiria. Vastaavasti, jos sukutaulussa esiintyy tunnettuja näyttelykoiria, koira määriteltiin näyttelylinjaiseksi. Mikäli sukutaulussa esiintyy molempia linjoja, koira määriteltiin sekalinjaiseksi. Sekalinjan määrittäminen on haastavampaa, mikä näkyy raportin kuvassakin: sekalinjan koirat sijoittuvat loogisesti näyttely- ja käyttölinjan väliin. Tutkimuksen mukaan linjojen määrittäminen sukutaulujen avulla osui niin sanotusti ”nappiin”.

Onko aineisto valikoitunut jonkun kasvattajan koiriin?

Tutkimusaineistossamme sekä käyttö- että näyttölinjoissa koirat tulevat pääsääntöisesti eri kasvattajilta: näyttelylinjassa 14/17:stä koirasta ja käyttölinjassa 26/30:stä koirasta. Täten aineisto ei ole keskittynyt tietyn kasvattajan tai kasvattajajoukon koiraan, vaan on suhteellisen kattava otos populaatiosta.

Miksi koirien nimiä ei voi antaa julkisuuteen?

Tutkimusryhmämme käsittelee tutkimukseen annettuja koiran ja omistajan tietoja ehdottoman luottamuksellisesti, emmekä lähde erikseen missään tutkimusraportissa yksilöimään ja nimeämään koiria. Tämä on hyvän tutkimusetiikan mukaista niin ihmis- kuin koiratutkimuksessakin. Keijo Kodiksen määrittelyn lisäksi SPL nykyinen jalostusvastaava Juha Puurunen on nähnyt lista niistä 60 koirasta, jotka eivät ole kieltäneet tiedon antamista rotujärjestölle. Tätä kysytään erikseen omistajalta verinäytelomakkeessa, joka täytetään verinäytteen luovutuksen yhteydessä.

Perustuvatko päätelmät oikeasti tuloksiin ja antaako käytetty menetelmä valideja tuloksia?

Olemme käyttäneet tutkimuksessa menetelmiä, jotka ovat yleisesti käytössä maailmanlaajuisesti populaatiogeneettisessä tutkimuksessa. Jokaisen koiran perimä on analysoitu kokoperimänlaajuisella analyysillä (Illuminan HD Canine SNP Chip 173K). Kyseisestä metodia on käytetty mm. eri rotujen geneettistä etäisyyttä tutkivissa artikkeleissa (mm. Boyko et al. 2010, von Holdt et al. 2010).

Huomionarvoista on myös se, että populaatiogeneettisissä tutkimuksissa harvoin päästään yhtä suureen markkerimäärään kuin mitä käytimme tutkimuksessamme (~173 000 markkeria). Monet eläin- ja kasvipopulaatioiden samankaltaisuutta tai geneettistä monimuotoisuutta käsittelevät tutkimukset on tehty jopa muutamalla tai muutamalla kymmenellä (3-40) markkerilla (Eckert et al. 2008). Käyttämämme DNA-tutkimusmetodi on siis erittäin luotettava. Varsinaiset datan analyysit on tehty R-ohjelmistoon kuuluvilla assosiaatioanalyysi- ja populaatiogenetiikkastatistiikkapaketeilla GenABEL (Aulchenko et al. 2007) ja pegas (Paradis 2009). Niihin liittyvistä laskennallisista kaavoista saa lisätietoa kyseistä viitteistä.

Mikä on tulosten merkitys jalostuksellisesti?

Tutkimuksemme osoittaa, että saksanpaimenkoiran geneettisessä rakenteessa on tunnistettavissa kaksi alapopulaatiota. Rodussa on tehty suuntaavaa valintaa, jonka seurauksena on syntynyt kaksi perinnöllisesti eroavaa linjaa. Alapopulaatiot muodostuvat suhteellisen nopeasti voimakkaan suuntaavan valinnan seurauksena, mutta ne voidaan myös purkaa sekoittamalla kaksi populaatiota, mikäli niin halutaan.

Populaatiogeneettisesti rodun jakautuminen kahteen linjaan vähentää myös geneettistä muuntelua linjojen sisällä. Yksittäisessä linjassa on vähemmän vaihtelua kuin rodussa kokonaisuutena. Linjojen yhdistäminen tai sekoittaminen voisi lisätä molempien linjojen perinnöllistä muuntelua (yhdistynyt geenivaranto). Yleisellä tasolla geneettisen muuntelun väheneminen saattaa mm. lisätä sairauksien määrää ja heikentää rodun elinvoimaa, mikä näkyy esimerkiksi pienentyneissä pentuemäärissä. Tutkimuksessa ei ole kuitenkaan määritelty tarkemmin monimuotoisuuden määrää rodussa tai linjojen välillä eikä se ota kantaa ovatko ne riittävällä tasolla tämän päivän koirissa. Yleisesti monimuotoisuuden vaaliminen on kuitenkin suositeltava jalostuksellinen tavoite terveiden ja elinvoimaisen rodun säilyttämiseksi.

Kahden eri linjan jalostaminen lienee rotujärjestöltä ja kasvattajilta aikoinaan tietoinen päätös. On ollut tarve erityyppisille saksanpaimenkoirille ja on suosittu yhdistelmiä, jotka ovat tuottaneet haluttuja ominaisuuksia koiriin. Näihin ominaisuuksiin vaikuttavat myös geenit ja samalla eri linjoihin on ”rikastunut” erilaisia geenejä. Tämä antaa tutkijoille mahdollisuuden eritellä yksittäisten ominaisuuksia koirien molemmista linjoista ja linjojen sisältä ja selvittää tarkemmin millaisia geenejä erilaisten ominaisuuksien taustalta voisi löytyä riittävän isolla aineistolla. Tällaista geenitietoa voisi mahdollisesti hyödyntää tarkemmin erilaisten koirien jalostamisessa tulevaisuudessa.

Mikä merkitys tällä tuloksella on?

Rodussa on tunnistettavissa DNA-tasolla kaksi alapopulaatiota, näyttely- ja käyttölinja. Havaintomme jalostuksellinen merkitys on selitetty yllä.

Kertooko raportti saksanpaimenkoirien käyttöominaisuuksista?

Tutkimustulokset eivät kerro mitään saksanpaimenkoirien käyttöominaisuuksista.

Miten määritellään hyvä käyttöominaisuus?

Mikäli tutkimuksellisesti halutaan porautua syvemmälle käyttöominaisuuksien genetiikkaan, pitää ne ensin määritellä ja löytää objektiiviset tavat niiden periytyvyyden arvioimiseksi ja ylipäättään mittaamiseksi. Ominaisuuksien määrittelemine on haastava tehtävä, ja siihen tarvitaan niin tutkijoiden kuin rodun kokeneiden käyttöominaisuuksien asiantuntijoiden suurta panosta. Käyttöominaisuudet koostuvat monesta persoonallisuuskomponentista ja niitä määrittävät useat geenit. Monigeenisten ominaisuuksien löytämisestäkin tutkimusryhmällämme on kokemusta (Wilbe et al. 2009).

Viitteet:

Boyko AR, Quignon P, Li L, Schoenebeck JJ, Degenhardt JD, et al. (2010) A Simple Genetic Architecture Underlies Morphological Variation in Dogs. PLoS Biol 8(8): e1000451. doi:10.1371/journal.pbio.1000451

Chang, M, Yokoyama, J, Branson, N, Dyer, D, Hitte, C, Overall, K. & Hamilton S. (2009) Inbreed Stratification Related to Divergent Selection Regimes in Purebred Dogs May Affect the Interpretation of Genetic Association Studies. Journal of Heredity 2009:100(Supplement 1):S28–S36 doi:10.1093/jhered/esp012

Eckert et al. (2008) Genetic variation across species' geographical ranges: the central–marginal hypothesis and beyond. Molecular Ecology 17, 1170–1188.

Wilbe et al. (2010) Genome-wide association mapping identifies multiple loci for a canine SLE-related disease complex Nature Genetics 42(3): 250-255

Von Holdt et al. (2010) Genome-wide SNP and haplotype analyses reveal a rich history underlying dog domestication. Nature 464(8): 898-903. doi:10.1038/nature08837898

Yurii S. Aulchenko, Stephan Ripke, Aaron Isaacs, Cornelia M. Van Dujin (2007) GenABEL : an R library for genome-wide association analysis. Bioinformatics (2007) 23 (10): 1294-1296.

Paradis, E. (2009) pegas: an R package for population genetics with an integrated-modular approach. Bioinformatics (2010) 26 (3): 419-420.