



Die belangrikheid van gebruik van DNS profiele in veeboerdery

C Rossouw-Claassen (Afdelingshoof vir Dieregenetika - Unistel)
animals@unistelmedical.co.za

Die vooruitgang in molekulêre tegnologie, veral in genomika, het 'n hele nuwe stel gereedskap tot beskikking van die boerderybedryf gestel. Met die eenvoudige trek en indiening van sterthare, het die verbruiker nou toegang tot stamboom-inligting, siektestoestande en selfs groei- en teelpotensiële van sy/haar diere. Maar, wat beteken dit om 'n diere geneties te laat toets en van watter nut is dit vir die verbruiker?

DNS kan as die bloudruk van enige lewende organisme gesien word. Hierdie bloudruk bestaan uit slegs 4 letters wat miljoene der miljoene kere in verskillende kombinasies en volgordes deur die genoom/bloudruk herhaal word. Dit is op die ou end hierdie kombinasies van slegs 4 letters wat vir die liggaam instruksies gee: groei 'n stert hier of maak horings daar.

Genetiese merkers dien as die fundamentele gereedskapstuk vir genomika. Die eerste genetiese merkers wat in die veebedryf gebruik is, was bloeditperings in die 1960s. Die tegnologie het daarna oorbeweeg na die gebruik van mikrosatelliete in die 1990s en is stadig maar seker besig om oor te beweeg na die standaard gebruik van enkelnukleotiedpolimorfismes (SNPs). Mikrosatelliete word vandag algemeen gebruik in verskeie veespesies vir ouerskapverifikasie. Om die profiel vir enige organisme op te stel, moet ons kyk na areas in die bloudruk wat die volgende twee reëls navolg:

- daar moet genoeg variasie in die merker wees om een individu van 'n ander te kan uitken en tweedens;
- die area mag nie onder seleksiedruk verkeer nie. Met ander woorde, die organisme mag nie van een generasie tot 'n volgende generasie aan daardie area gaan verander ten einde beter by die omgewing te kan aanpas nie. Op die ou end wil ons kan naspour watter kopie van die merker van ma afkomstig is, en watter kopie van die merker van pa afkomstig is.

Die merkers moet dus genoeg van mekaar verskil sodat ons tussen individue kan onderskei, maar in hul uniekheid, mag hulle nie verder aan hulself verander nie. Ma se merker moet in haar uniekheid dieselfde bly, sodat ons hierdie selfde merker in haar nageslag kan sien en kan bevestig dat dit van haar afkomstig is.

Die volgordes waarna ons as "merkers" verwys, is eintlik eenvoudige herhalings van 'n paar letters op 'n spesifieke plek in die bloudruk. Die volgorde op 'n spesifieke area in die bloudruk is byvoorbeeld: ACAG. Hierdie ACAG her-

haal byvoorbeeld 5 keer in daardie spesifieke area van die bloudruk. Individu A sal dus op daardie spesifieke area in die bloudruk: ACAGACAGACAGACAGACAG wees. In 'n ander individu, in dieselfde area van die bloudruk, herhaal hierdie ACAG byvoorbeeld slegs 3 keer; en is die individu by daardie spesifieke area in die bloudruk: ACAGACAGACAG (sien figuur 1).



Merker vir Individu A:
Letters herhaal 5X

ACAGACAGACAGACAGACAG



Merker vir Individu B:
Letters herhaal 3X

ACAGACAGACAG

Figuur 1: Illustrasie van mikrosatelliet merkers tussen twee individue.

Die hoeveelheid keer wat daardie ACAG herhaal, sal konstant bly van een generasie tot 'n volgende. Individu B, met 3 herhale, sal nageslag produseer wat ook slegs 3 herhale van ACAG op die spesifieke plek in die bloudruk het. Ouerskap word dus bepaal deur die hoeveelheid herhale by elke merker van die voorspelde ma en pa te gaan vergelyk met die hoeveelheid herhale wat by die kalf se profiel gesien word (figuur 2).



Moeder

Variant 1:
ACAGACAGACAGACAGACAG



Vaar

Variant 1:
ACAGACAGACAG

Variant 2:
ACAGACAGACAGACAG

Variant 2:
ACAGACAG



Kalf

Variant 1:
ACAGACAGACAGACAG

Variant 2:
ACAGACAG

Figuur 2: Illustrasie van ouerskapbepaling met behulp van 'n mikrosatelliet-merker.

'n Enkele merker opsigself, sal nie vir ons kan uitwys wie die ouers van 'n kalf uit moontlike honderde kan wees

nie, maar wanneer verskeie van hierdie merkers ingespan word vir analise, raak dit 'n kragtige gereedskapstuk om unieke profiele vir elke dier op te stel en ouerskap te bevestig. Vir 'n ouerpaar om geverifieer te word, moet beide moeder en vaar elkeen een kopie van die kalf se merker bydra tot die profiel (tabel 1). Die kalf in die onderstaande tabel is byvoorbeeld 121 en 139 by merker **BM2113**. Die moeder het kopieë: 121 en 137 beskikbaar. Die vaar het twee kopieë van 139 beskikbaar. Die kalf erf dan sy 121 van die moeder, en sy 139 van die vader. Vir 'n ouerskap om geldig verklaar te word, moet ons dus vir elke kopie van die kalf by elke merker kan sien watter kopie van die moeder en watter kopie van die vaar afkomstig is.

Tabel 1: Voorbeeld van ouerskapverifikasie vir 'n kalf. Vir 'n geldige ouerskap moet die kalf by elkeen van die merkers 'n bydrae van beide die ma en die pa hê.

Merker	Kalf	Moeder	Vaar
BM1824	180/180	180/182	180/180
BM2113	121/139	121/137	139/139
ETH10	211/211	211/217	211/211
ETH225	151/154	150/154	140/151
ETH3	121/125	117/121	117/125
INRA23	208/214	208/208	214/214
SPS115	248/254	248/254	248/248
TGLA122	137/149	137/137	143/149
TGLA126	115/115	115/115	115/117
TGLA227	87/97	87/93	77/97
TGLA53	154/166	154/172	166/176

Indien daar 'n mispassing is, word die ouerskap as nie geldig verklaar. Tabel 2 demonstreer mispassings tussen die kalf en genomineerde ouers. By merker **BM1824**, is die kalf 180 en 190. Die 180 kon vanaf die ma afkomstig wees. As ons egter die kalf se 190 by die pa soek, sien ons hy het dit nie in sy profiel beskikbaar nie. Die pa val dus op hierdie merker as moontlike ouer uit. By merker **INRA23**, is die kalf 208 en 216. Die ma kon moontlik die 208 vir die kalf gegee het. Die kalf kort nou 216 vanaf die pa. Die pa het egter slegs 214 om te gee, dus val pa op hierdie merker uit.



Tabel 2: Voorbeeld van mispassings tydens ouerskapverifikasie vir 'n kalf. Vir 'n geldige ouerskap moet die kalf by elkeen van die merkers 'n bydrae van beide die ma en die pa hê.

Merker	Kalf	Moeder	Vaar
BM1824	180/190	180/182	182/182
BM2113	121/139	121/137	139/139
ETH10	211/215	209/217	211/211
ETH225	151/154	150/154	140/151
ETH3	121/125	117/121	117/125
INRA23	208/216	208/208	214/214
SPS115	248/254	248/254	248/248
TGLA122	137/149	137/137	143/149
TGLA126	115/115	115/115	115/117
TGLA227	87/97	87/93	77/97
TGLA53	154/166	154/172	166/176

Die hoof funksie van hierdie DNS profiele is ouerskapbepaling en identiteitsverifikasie. Dit is belangrik om ouerskappe te verifieer vir die volgende redes:

- Meer **akkurate teelseleksies**. Nuwe tendense in diereproduksie-sisteme neig om produsente aan te moedig om groter getalle diere per plaas te produseer in reaksie tot omgewingsbeperkings. In hierdie tipe opset word verskeie diere met mekaar geteel op dieselfde dag of gee geboorte op dieselfde dag, wat kan lei tot stamboom opnamefoute.
- **Genetiese verbetering** van die populasie weens meer akkurate ekonomiese teelwaardes – deur die korrekte ouers se data in die berekeninge te inkorporeer.
- Identifisering van bulle wat oor- en onderpresteer in die stoet.
- Identifisering van probleembulle in die stoet – dié wat tot kalwingsprobleme of mutasies in die stoet lei.
- Stel jou in staat om diere teen 'n hoër prys te verkoop omdat stambome geverifieer kan word.

Gegewe die behoefte aan hoë gehaltestandaarde in alle gebruike van molekulêre data, word laboratoriums wat mikrosatelliet- en/of SNP-gebaseerde ouerskapontledingsdienste, insluitend ouerskapverifikasie of diere-identifikasiebevestiging aanbied, aangemoedig om aan die basiese vereistes vir akkrediasie te voldoen. Dit sluit in bewyse van die minimum interne bestuursgehalte-versekeringstandaarde en deelname aan 'n internasionale ringtoets (vergelyking) wat deur die Internasionale Vereniging vir Diere Genetika (ISAG) aangebied word.

Die doel van die ISAG vergelykingstoets is om laboratoriums wat diere-DNS genotipeer in staat te stel om hoë en vergelykbare standaarde te handhaaf, om internasionale ooreenkomste te hê oor nomenklatuur, asook reëls vas te stel vir hoe verwantskapstoetsing gedoen moet word. Wanneer laboratoriums almal dieselfde nomenklatuur en reëls volg wanneer dit kom by die skep van profiele, stel dit laboratoriums reg oor die wêreld in staat om profiele met mekaar te kan uitruil wat dan weer vir ouerskap- en identiteitsver-

ifikasie gebruik kan word. Indien laboratoriums dieselfde reëls en prosedures volg om DNA profiele te skep, behoort die profiele altyd met mekaar vergelykbaar te wees, ongeag waar die profiel oorspronklik geskep is. Hierdie ringtoetse vind elke twee jaar plaas, met 'n dienslaboratorium wat vir elke spesie aangewys word per toetsingsiklus. Hierdie dienslaboratorium maak dan 21 monsters verteenwoordigend van verskeie rasse binne die spesie bymekaar en ekstraheer genoegsame DNS om aan elke deelnemende laboratorium te stuur. Elke laboratorium wat aan hierdie toetse deelneem, kry dieselfde stel monsters om te toets, met die profiel van 1 van die monsters wat aan die laboratoriums bekend gemaak word. Hierdie profiel dien dan as verwysing vir hoe die laboratorium die oorblywende 20 monsters se profiele moet opstel. Aan die einde van die toetsingstydperk dien die laboratoriums hul resultate in, wat dan deur die dienslaboratorium evalueer word. Die laboratorium word dan 'n rang toegeken (tabel 3), gebaseer op hoe akkuraat hul ingediende profiele was en of hulle in staat was om ouerskapverifikasie korrek te interpreteer.

Tabel 3: Rangaanwysings met deelname aan ISAG ringtoetse

Genotiperingsakkuraatheid	
Totale getal laboratoriums deelgeneem: 60	
Rang	% Laboratoriums binne die rang
1: 98 – 100% akkuraatheid	70
2: 95 – 97,9% akkuraatheid	10
3: 90 – 94,9% akkuraatheid	7
4: 80 – 89,9% akkuraatheid	8
5: 80% akkuraatheid	5



Laboratoriums ontvang na dese 'n sertifikaat wat aan kliente gestuur kan word om sodoende hul bevoegdheid aan hul kliënte te demonstreer. Laboratoriums wat egter nie gereeld aan hierdie toetse deelneem nie, loop die risiko dat hul profiele nie vergelykbaar met dié van ander laboratoriums sal wees nie.

Vertrou in ouerskap is 'n sleutelkomponent om 'n plaas se kuddeverbeteringsplan na die volgende vlak te neem. Een van die grootste uitdagings vir boere gedurende kalfseisoen is die tyd wat nodig is om kalfbesonderhede konsekwent vir 'n volgehoue tydperk te monitor en akkuraat aan te teken. Ouerskapverifikasie word ook veral belangrik wanneer veelvuldige bulparings in 'n stoet gebruik word. Nie net lig dit probleemparings en goeie passings uit nie, maar DNS-toetse kan kalftyd baie makliker maak om te bestuur, omdat jy met sekerheid die ouerskappe kan verifieer, sonder om daar te wees om elke geboorte aan te teken.

