

PÄIVITYS KEESHONDIEN MHC II-GEENIEN MONIMUOTOISUUSKARTOITUKSEEN

Immuunijärjestelmä on elimistön puolustusjärjestelmä vieraita taudinaiheuttajia eli patogeeneja, esimerkiksi viruksia ja bakteereja, vastaan. Luonnollisen eli synnynnäisen immuunijärjestelmän osia ovat elimistön yleispuolustusmekanismit. Luonnollinen immunitetti on yleensä ensimmäinen taudinaiheuttajien kohtaama puolustusjärjestelmä, joten sen tarkoituksena on reagoida nopeasti. Oikein toimiessaan immuunijärjestelmä tuhoaa valkosolujen vasta-aineiden avulla elimistöön tunkeutuneet taudinaiheuttajat. Joskus immuunijärjestelmä saattaa myös hyökätä elimistön hyödyllisiä osia vastaan. Tällöin kyseessä on autoimmuunisairaus. Perimän tärkeä geenialue MHC ömajor histocompatibility complexö, vastaa juuri edellä mainitusta immuunipuolustuksesta. MHC geenialueen perinnöllinen monimuotoisuus vaikuttaa merkittävästi elimistön puolustusjärjestelmän toimivuuteen. Koiran keskeisiä MHC-geenejä kutsutaan myös lyhenteellä DLA, joka tulee sanoista ödog leucocyte antigenö.

Eri koirarotujen pitkään jatkuneiden jalostuskäytäntöjen seurauksena koirarotujen MHC-geenien monimuotoisuus on yleisesti ottaen vähäistä. MHC-geenien monimuotoisuuden väheneminen saattaa altistaa koiriamme erilaisille autoimmuunisairauksille kuten diabetekselle, reumalle, moniniveltulehdukselle, kilpirauhasen vajaatoiminnalle, puolustusjärjestelmän toimintahäiriöstä johtuvalle anemialle (AIHA) ja Addisonin taudille. Tätä taustaa vasten MHC geenien monimuotoisuuden kartoittaminen ja seuraaminen on tärkeää rodun elinvoiman säilyttämiseksi ja sairauksien vastustamiseksi.

Useat tutkimukset sekä luonnonpopulaatioissa, että jalostuseläimissä antavat osviittaa siitä, että huolimatta kunkin rodun haplotyyppien lukumäärästä nousee tärkeäksi yksilön eriperintäisyys. Monien tautien riski pienenee joko olemattomaksi tai katoaa kokonaan kun huolehditaan haplotyyppien eriperintäisyydestä. DLA monimuotoisuuden kartoittaminen tuo rodulle hyödyllistä tietoa ja auttaa ymmärtämään sukusiitoksen haitallisuutta jalostuksessa.

Keeshond kartoitus

Keeshondeille keväällä 2010 tehdyn monimuotoisuuskartoituksen tulokset kertoivat rodun olevan kohtuullisen monimuotoinen. Haplotyyppinä löytyi yhteensä kahdeksan ja vähäisemmässä määrin esiintyviä haplotyyppjäkin löytyi kohtuullisen monen koiran perimästä. Sama- ja eriperintäisten koirien osuus tutkitusta populaatiosta oli kohtuullisen hyvä, vain 20 prosenttia kannan kaikista yksilöistä oli samaperintäisiä.

Keväisen kartoituksen jälkeen analysoitiin vielä yhden keeshondin näyte. Tällä välin Genoscoperilla analysoidusta yleisestä koiramateriaalista löytyi ja varmistui kokonaan uusi DRB alleeli. Keeshondien uuden koiran tulos antoikin yllättäen tämän uuden alleelin ja siten koko rodulle uuden haplotyyppin. Tämän jälkeen analysoitiin uudestaan keeshondien koko materiaali. Analysoinnin jälkeen voitiin todeta osan keeshondkoirien DRB alleelin tuloksen muuttuneen toiseksi. Tässä kohtaa lienee tarvetta selvittää hiukan miksi näin voi käydä.

Genoscoperilla käytössä oleva DLA-testi tehdään siten, että osa kunkin geenin (DRB, DQA ja DQB) emäsjärjestyksestä analysoidaan emäs emäkseltä eli sekvensoidaan, ja tämä saatu sekvenssi tulkitaan ja koodataan erillisen ohjelman avulla. Koska geeniä analysoidaan monen emäksen verran on järkevää tulosten hallinnan takia koodata saadut emäsjuosteet omiksi koodeikseen. Saatuun tulokseen vaikuttaa sekä sekvenssin puhtaus, signaalin voimakkuus että ohjelman kyky tunnistaa emäkset. Kun analysoidaan DNA-juostetta, joka antaa viitteitä uuden alleelin mahdollisuudesta, ei ole tarpeen ensin uskoa sitä. Vasta sitten kun sama asia toistuu ja mielellään vielä toisessa koirarodussa, voidaan asia todeta varmemmin ja antaa uusi koodi uudelle alleelille ja sen myötä haplotyypeillekin.

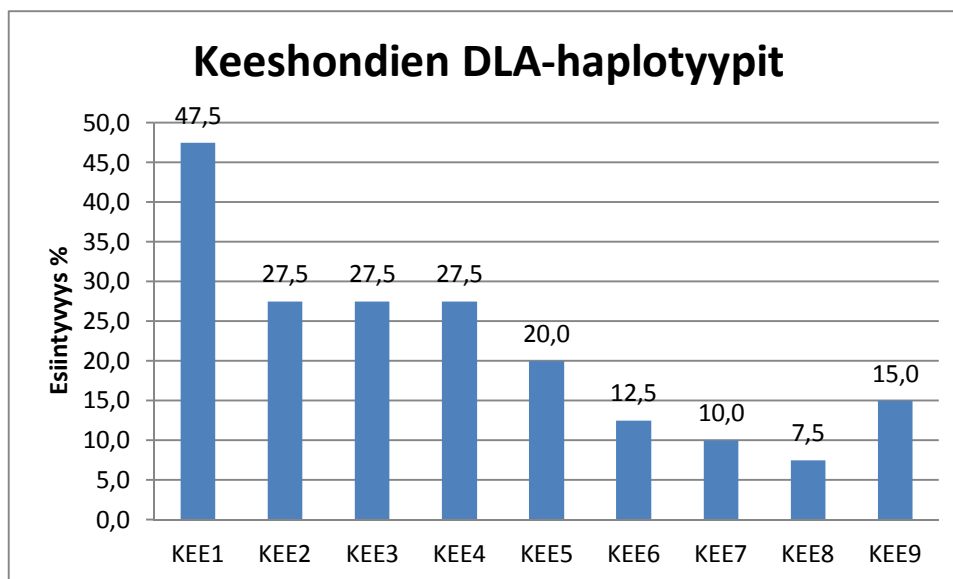
Näin kävi keeshondien tulosten kohdalla ja kun koko data analysoitiin uudelleen, saatiin viidelle koiralle uusi DRB-alleeli, joka muuttaa myös koko haplotyyppin toiseksi. Eri rotujen DLA-profiileja ei ole kovin paljon tutkittu ja mitä useammasta koirasta niitä testataan sitä useampia muotoja on syytä olettaa löytyvän.

Käytännössä siis koirien tulokset eivät ole muuttuneet mihinkään vain koodaustapa muuttuu yhden alleelin osalta. Löydetty uusi alleeli poikkeaa edellisestä vain yhden emäksen verran, joten löydös ei ole kovinkaan merkittävä. Uusi DRB alleeli 01506 kytkeytyy yhteen saman DQA- ja DQB-alleelin kanssa kuin 01502, joten käytännössä nuo haplotyyppit eivät eroa toisistaan paljoakaan. Yhden emäksen muutos voi muuttaa tai voi olla muuttamatta tuottamaansa aminohappoa, riippuen siitä millainen tuo muutos on ja missä kohtaa kodonia se esiintyy. Tätä emme ole tässä vaiheessa vielä tutkineet.

DLA-tutkimuksen päivitetty tulokset on esitetty taulukossa 1 sekä kuvissa 2 ja 3. Rodulla havaittiin siis kahdeksan DRB1-alleelia (= kahdeksan eri muotoa DRB1 geenistä), neljä DQA1-alleelia ja seitsemän DQB1-alleelia. Koska DRB1-, DQA1- ja DQB1-geenit periytyvät aina yhdessä ötoisiinsa kytkeytyneenä, niistä muodostuu kolmen alleelin yhdistelmiä eli haplotyyppijä. Keeshondeilla on nyt yhteensä yhdeksän erilaista haplotyyppiä.

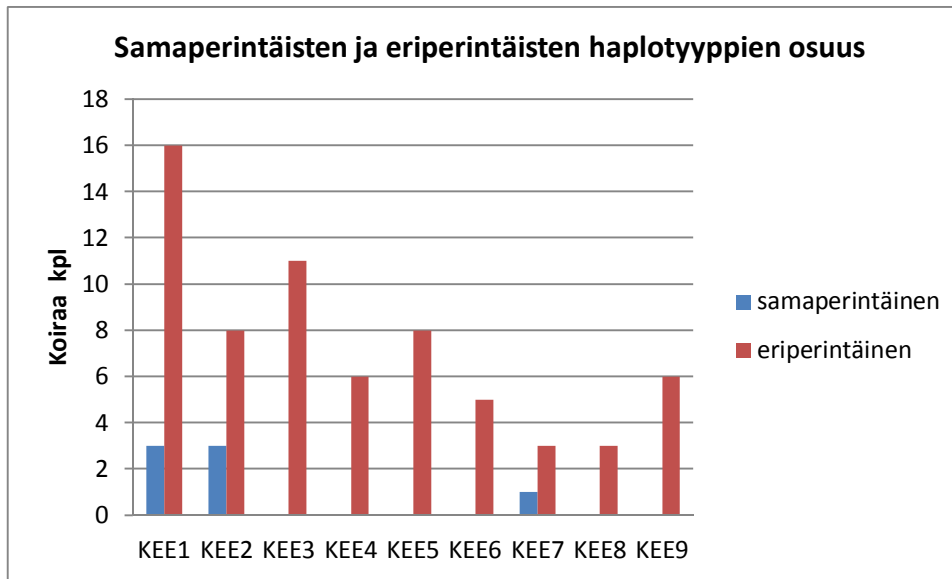
Taulukko 1. Yhteenveto 40 keeshondin DLA-monimuotoisuudesta vuonna 2010.

Haplotyyppi	DRB1	DQA1	DQB1	Esiintyvyys koira %	Esiintyvyys haplotyyppi %
KEE1	02001	00401	01303	47,5	27,5
KEE2	00601	005011	00701	27,5	17,5
KEE3	01501	00601	01101	27,5	13,8
KEE4	01502	00601	02301	15,0	7,5
KEE5	00101	00101	03601	20,0	10,0
KEE6	00901	00101	008011	12,5	6,3
KEE7	01201	00101	00201	10,0	6,3
KEE8	01501	00601	02301	7,5	3,8
KEE9	01506	00601	02301	15,0	7,5
Eri alleeleja	8	4	7		



Kuva 2. Haplotyyppien prosentuaaliset osuudet tutkitussa aineistossa.

Samaperintäisten osuus tutkitussa aineistossa pysyi ennallaan. Vain vajaat 20 prosenttia tutkituista koirista kantaa samaa haplotyyppiä molemmissa kromosomeissaan (Kuva 3). Samaperintäisyys jakautui kahdelle yleisimmälle (KEE1 ja KEE2) ja yhdelle harvinaisemmalle haplotyypille (KEE7).



Kuva 3. Haplotyyppien suhteen samaperintäisiä koiria oli tutkimusaineistossa vähän, vain 20 prosenttia kannan kaikista yksilöistä.

Miksi testata DLA-geenejä?

Tutkimus tuo jatkuvasti uutta tietoa koirien perimästä. Uusia sairauksia aiheuttavia geenejä löydetään jatkuvasti lisää ja usealle rodulle onkin kehitetty jo useita eri geenitestejä sairauksien vastustamiseksi. Tulevaisuudessa voi olla todella haasteellista löytää se ohjenuora eri geenitestiä viidakossa, joka mahdollistaa koirarotujen säilyttämisen edes kohtuullisen terveenä. DLA-geenitesti on yksi monista. Kannattaa muistaa, että jalostusta ja parin valintaa tulee säädellä muutkin tekijät kuin yksittäinen geenitesti. DLA-geenien määrittäminen on hyvä apuväline jalostuksessa silloin, kun halutaan tarjota tulevalle yksilölle mahdollisimman monipuoliset immuunipuolustusjärjestelmän geenit. Vaikka eriperintäisyyden hakeminen DLA-geenien suhteen voi olla tärkeää ja saattaa alentaa riskiä esim. autoimmuunisairauksille, jalostuspäätös ei voi koskaan kuitenkaan perustua pelkästään näiden geenien tai haplotyyppien pohjalle, vaan on katsottava jalostuskoirien monia muitakin ominaisuuksia ja soveltuvuutta. DLA-profiilin ajaminen rodulle tarjoaa mielenkiintoista suuntaa myös rodun nykyisestä perinnöllisestä monimuotoisuudesta, johon vaikuttavat rodun historia, tehollisen populaation koko, matadorien käyttö ja muut erilaiset jalostustottumukset ja jalostusmateriaalin laajuus.

Genoscoperin puolesta,

Marjut Ritala

Kirjallisuutta:

Kelly, A. 2008: MHC class II antigen presentation. <http://www.path.cam.ac.uk/pages/kelly/>

Kennedy, L. J., Barnes, A., Short, A., Brown, J. J., Lester, S., Seddon, J., Fleeman, L., Francino, O., Brkljacic, M., Knyazev, S., Happ, G. M. & Ollier, W. E. R. 2007a: Canine DLA diversity: 1. New alleles and haplotypes. *ó Tissue antigens*. 69: 272-288.

Kennedy, L. J., O'Neill, T., House, A., Barnes, A., Kyöstilä, K., Innes, J., Fretwell, N., Day, M. J., Catchpole, B., Lohi, H. & Ollier, W. E. R. 2007b: Risk of anal furunculosis in German Shepherd dogs is associated with the major histocompatibility complex. *ó Tissue Antigens*. 71: 51-56.

Niskanen, A. 2008: MHC II -luokan geenien monimuotoisuus Suomen susipopulaatiossa (*Canis lupus*) ja islanninlammaskoirapopulaatiossa (*Canis familiaris*). Pro gradu -tutkielma. Oulun yliopisto, biologian laitos, 69 s.

Niskanen, A. 2008: MHC-geenit paljastavat immuunipuolustuksen voimavarat tai sudenkuopat. *ó Koiramme* 9/08.

Yleistä perinnöllisyydestä:

Sundgren, P-E. 1993: Lemmikkieläinten jalostus. Suomen Kennelliitto, Helsinki.

