

High tech avel

Jarmo Juga Nordisk Avelsvärdering

Utveckling i avelsmetoder har gått fast framåt. I dag moderna avelsprogram utnyttjar både kvantitativa och molekylgenetiska information i selektion av bästa djur samtidigt med de mest framstegsvänliga befruktningsmetoder. I mitten av åttiotalet var det många som tänkte att genteknologi samt annan bioteknologi skall ta över vanligt avelsarbete, men ingenting så dramatisk har hänt. Målet av denna presentation är att beskriva vad som har hänt och hur kan vi utnyttja det så kallade high tech avel i dagens avelsarbete.

Avelsprogram

Ett fungerande avelsprogram är en helhet där man måste ta hänsyn till alla olika delar av programmet. Att bygga upp ett konkurrenskraftigt program behöver vi bra data samling av många olika egenskaper och härstamning av individer, skattning av avelsvärden, definiering av avelsmål och en effektiv selektion av föräldrar till nästa generation. Vi kan faktisk kombinera olik information av kvantitativ och molekyl karaktär även om hittills har det varit nästan enbart kvantitativ information baserad på fenotypisk data.

Effektiviteten av selektionsprogram beror på säkerheten av avelsvärdena och befruktningsmetoder som fastlägger antalet föräldrar vi behöver för att producera tillräcklig många kalvar till rekrytering. Seminering har redan möjliggjort ett effektivt urval av tjurar, men nya befruktningsmetoder kan användas att effektivisera urval av tjurmödrar och även komödrar.

Utveckling av befruktningsmetoder

Seminverksamheten

Man började använda artificiell insemination mer än 50 år sedan i hela världen i nötkreatursavel. Ursprungligen semineringen togs i bruk för att förhindra smittande sjukdomar, men rätt så fort hittade man att seminering kan användas för att effektivisera avelsarbete. Avelsprogram i nordiska länder baserar mycket på arbete av prof. Harald Skjervold. Tillexempel i Finland ungefär 0.3 % av kor accepteras som tjurmödrar och ungefär 10 – 15 bästa tjurar blir selekterade i bruk ut från 130 Ayrshire tjurar som är avkommeprövade för alla olika egenskaper med 150 döttrar. För att nå detta antal prövade tjurar behöver ungefär 40 % av alla semineringar i Finland göras med ungtjursperma. Denna andel varierar i nordiska länder mellan 20 – 40 %.

Alla nordiska länder brukade djupfrysa ett lämpligt antal av sperma doser (i Finland 40000 – 50000) enligt Skjervolds rekommendation, men i dag alla länder har förändrats till väntetjurar. Ursaken för att ha tjurar levande är nordisk samarbete; antal använda doser ökar när tjuren blir använt i hela Norden och frysning av så stor antal doser skulle vara mycket oekonomisk. Naturligtvis finns det många fördelar inom landet också, nämligen bästa tjurar får mer avkommor och genetisk framsteg från tjurar går snabbare till besättningar.

Sperma sexing

I nordiska mjölk och kött produktion, där det mesta av nötköttet kommer från mjölkkraser, skulle möjligheten att sortera sperma enligt kön vara lönsamt. Sperma sexing har varit i forskningsintresse för länge och olika metoder har prövats, men ingen har hittills blivit en succé. Metoden som beror på "high speed flow cytometry" där olika sädescell separeras enligt deras DNA mängden, som mäts med laser, är idag kanske den mest säkra metoden. Den är även kommersialiserats av XYinc, som äger patenträtten till metoden. I Finland FABAs koordinerar ett forskningsprojekt i sperma sexing tillsammans med seminandelslägena och MTT. I Sverige Svensk Avel är också med i ett forskningsprojekt vilken prövar en annan typ av sexing metod.

Embryoöverföring

Embryoöverföring är ett sätt att öka antalet kalvar efter de bästa hondjuren. Genom embryoöverföringar kan man öka intensiteten i urvalet av tjurmödrar och minska generationsintervallet.

Tekniken har nu varit känt över tjugo år. Utvalda hondjur tillförs på ett mycket exakt sätt små mängder hormoner så att antalet mognande och avlossade ägg ökar. Dessa superovulerade djur semineras sedan på normalt sätt. Sju dagar efter semineringen sköljer man den normala vägen ut de befruktade embryon som bildats. Dessa embryon kan frysas och därefter användas eller som färska läggas in i ett mottagardjur som liksom den sköljda kon är i fasen 7 dagar efter sin brunst. Normalt får man fyra levande kalvar efter varje superovulation.

Embryoteknologin har utvecklats fort. Sexing av embryon är rutin service och biopsin för andra genetiska tester liksom markörgener kan väl tas enligt behovet. Biopsade embryon har dock värre frysningskvalitet vilken menar värre dräktighet resultat.

Idag äggcell kan suggas direkt från ovarium (ovum pick up eller OPU) även från dräktiga djur och sedan befrukta in vitro i provrör. Det här så kallade IVP embryo produktion har också tillhört i embryoteknologi forskningsprojekt som har stöt ASMO programmet. De praktiska erfarenheterna har inte varit tillräcklig lovande så att OPU metoden skulle användas i praktik för att producera embryon till kärnbesättning, nättverket eller till salu, men forskningen pågår hela tiden. Ett problem med IVP embryon i olika försök i världen har varit stora kalvar. Medelvärde i födelsevikt i ASMO besättning från IVP embryon har inte varit större än med normal seminering, men variation har varit kanske större. Några stora kalvar har fötts under experimenten. IVP embryon har också värre frysningskvalitet än normala embryon. Resultaten om finska embryo överföring aktiviteter och ASMO program kan finnas i tabell 1.

QTL jakten

Utvecklingen av PCR-tekniken har gjort det möjligt att studera DNA-sekvenser från levande djur och härmed studera gener av nuvarande populationer. Genkartor har utvecklats med hög fart, till exempel människans gener är praktiskt taget kartlagt och kartan på nötkreatur är också redan långt.

Forskarna har letat efter QTL eller gener som har en stor effekt på någon egenskap för mer än tio år. Genkartor är ganska spridd, men något bevis har man hittat om kromosom områdena, som har haft större påverkan på olika egenskaper, till exempel mjölk avkastning, protein och fett halt eller resistans mot mastit. Forskarna har nu gått över till fin kartläggning och några markörer har även

patenterats. För att välja ut djur som har nyttiga och speciella egenskaper - exempelvis sådana som ger resistens mot sjukdomar - är det sedan möjligt att använda sådana markörgener eller direkta gener som kodar egenskaper i urval (MAS eller marker assisted selection). Urvalet som utnyttjar också markörer är som effektivast när det är kombinerad med nukleus avel med embryo överföringar. Naturligtvis den extra effektiviteten beror på egenskapen (arvbarheten, egenskapen förekommer bara hos ett kön mm).

En ny och mycket viktig era i genetik är bioinformatik där man studerar de effekter gener har (gene expression). Man kan göra det med hjälp av stora databaser både på fenotypiska och genetiska information. Analyser är dock krävande när man försöker att skatta många tusen gen effekter från rätt så liten mängd av observationer.

Genetiska defekter

De flesta genetiska defekter styrs av recessiva anlag. Därför kan individer med en defekt gen sprida denna vidare ganska länge före defekten blir synlig. Global Holstein avel har på sistone haft några genetiska defekter. Defekter har kommit som en följd av mycket intensiv avel, där antal använda tjurar har varit mycket små och alla länder har använt samma tjurar. Sådana defekter har varit till exempel BLAD och CVM, vilka har förorsakat stora extra kostnader till avelsindustrin och gallrat många goda tjurar från avel. I dag är det möjligt att testa för båda defekter med DNA metoden, vilken gör gallringen mycket enkelt.

Avelsprogrammet bär med sig en risk av inavel, som man måste beakta i urvalet. Om risken inte beaktas ordentligt är det möjligt att antal olika genetiska defekter skall öka i framtiden. När man får hela tiden mer information från DNA kartläggning blir det i framtiden möjligt att ta hänsyn till den informationen i avelsplanering och undvika sådana parningar som har en hög risk av genetisk defekt.

Transgena kor

Trots att kunskapen om hur man med hjälp av genteknik förändrar ett djurs arvs massa är relativt ny, så är listan över djur som man lyckats genmodifiera lång. Man har lyckats genmodifiera maskar, grodor, kaniner, getter, får, kor, grisar och insekter. Till exempel kvigan Huomen i Finland var en av de första transgenetiska kor i världen. Huomen bär genen som kodar erythropoietin, men hon testades aldrig om hon faktisk skulle ha mjölkat tillräckligt mycket av protein för kommersiella ändamål.

Den allra vanligaste metoden för att framställa djur med främmande gener (transgena djur) är att med en mikroinjektor spruta in DNA i en befruktad äggcell. Cellen placeras sedan i livmodern hos en "fostermor", där den utvecklas till ett foster med främmande gener i alla sina celler. Det är samma metod som vanligtvis används för att framställa transgena möss. Man kan också utnyttja vissa retrovirus som bärare av DNA. Då låter man ett virus som förändrats med hjälp av genteknik få infektera djuret. Denna metod används framför allt för att göra transgena höns.

Transgena djur kommer framför allt till användning i arbetet med att förstå basala processer och utvecklingsfysiologiska förlopp. Så har t.ex. studier av transgena möss gjort att man kunnat förklara den bakomliggande genetiska orsaken till onormal muskeltillväxt (muskulär hypertrofi) hos Belgian Blue-boskap. En gen med central betydelse för hur muskeltillväxten regleras har satts ur funktion hos dessa djur. Genom att inaktivera denna gen hos möss har man kunnat visa vad muskeltillväxten beror på.

Effektivitet på gen transfer har varit mycket dålig och styrning av gen effekten har inte fungerats bra. En risk vid all slags genmodifiering är också att andra gener än de tänkta påverkas på ett eller

annat sätt. Eftersom det inte går att styra en gen till en speciell plats i genomet finns risken att den hamnar på ett ställe som aktiverar eller stänger av andra gener. Därför har metoden inte använts mycket även i läkemedel produktion. Genmodifikation för läkemedel har ändå haft stora ekonomiska förväntningar. Men det har inte alltid gått så bra. Holländska företaget Pharming, som ägde Huomen kvigan och satsade mycket på genmodifierade kor, har gått i konkurs.

I dag har man hittat att om man använder embryonala stamceller (ES) som recipient celler kan man styra gen effekter mycket bättre. Men även med bättre styrning är genmodifiering hos nötkreatur lånt borta från varje dags avelsarbete. Tekniken är mycket dyrt och vi fattas om god kandidat gener. Konsumenter är inte heller färdiga att acceptera genmodifierade livsmedel från husdjur produktion, men det är mycket sannolikt att acceptabiliteten ökar om genmodifiering blir en succé i läkemedel produktion eller om man blir van med genmodifierade växter.

Kan vi få nytta av kloning?

När man i vardagslag talar om kloning menar man skapandet av genetiskt identiska individer av en växt eller ett djur. Men det går också att klonas på cell- eller till och med gennivå. I laboratoriet kan forskaren framställa genetiskt identiska celler genom att stimulera en speciell cell till fortsatt delning. Man får då en klonad cellinje. Gentekniker klonar också enskilda gener.

Klyvning av större embryon med ca 120 celler är numera en använd metod i nötkreatursavel. Man klyver då embryot i två delar som var och en inplanteras i livmodern på två fostermödrar. Dessa kor föder därefter var sin "enäggstvilling". Genom att istället separera de fyra första cellerna som bildas efter en befruktning och överföra dessa till fyra fostermödrar kan man framställa fyra genetiskt identiska kalvar.

Kloning av djur kan hjälpa oss att öka kunskapen om vad som styr celldifferentieringen under embryoutvecklingen. Det kan ge kunskap om hur vi skulle kunna omprogrammera celler som en gång blivit bestämda för en speciell uppgift.

Inom husdjursavel skulle kloningstekniken kunna göra framställning av transgena husdjur enklare. Med nuvarande teknik är man hänvisad till att mikroinjicera DNA i befruktade ägg. Genom användning av kloningsteknik skulle man istället kunna utnyttja celler som går att odla in vitro för genöverföring. Det finns idag metoder utvecklade för musceller där man med stor noggrannhet kan styra förändringar i specifika gener. Genom kloningstekniken skulle det bli möjligt att utnyttja liknande metoder också i husdjursavel.

Dolly, en klonade får från Edinburgh

Kärnöverföring till kärnlösa äggceller har varit möjligt i mer än trettio år. Ändå väckte framställningen av det klonade fåret Dolly stor uppståndelse i media. Det som skiljer Dolly-experimentet från vad som tidigare varit möjligt är att man använt cellkärnor från en vävnad med specialiserade celler, alltså inte som tidigare från embryoceller.

Dollys allra första cellkärna var inte en befruktad äggcell. Istället var det en cellkärna som forskare tagit ut ur en juvercell på en tacka (den tackan brukar kallas för Dollys mamma). Ett juver är en specialiserad vävnad och normalt kan man inte få en sådan cell att utvecklas till ett nytt djur. Men genom att ge cellkärnan en ny miljö kunde forskarna "lura" generna. Nu har Dolly fått efterföljare på många andra djur och även kon.

Man måste dock komma ihåg, att även om kloning kunde användas i att kopiera genmodifierade djur eller att producera goda kor till kommersiella besättningar från kärnbesättning, är kloning inget avelsverktyg men en reproduktionsteknik. I avelsarbete behöver vi genetisk variation och man måste se till att variationen inte minskar i avelspopulation.

Bärkraftig avel

Nya metoder som effektiviserar avelsarbete må också leda till problem med ökad inavel och på så sätt ökad risk. Avelsplanering i besättningsnivå har kunnat utnyttja ny informationsteknologi så att man kan undvika kortsiktig ökning av inavelsnivå samtidigt när man planerar det mest lönsamma parningssystem enligt förhållanden i besättningen. Sådana Web-baserade system har tagits i bruk i Danmark och Finland och PC-baserade system i Norge och Sverige.

På lång sikt kan man undvika ökning av inavel bara på avelsprogramsnivå, för att inavelsökning är en funktion av effektivt antal individer. Nya metoder att optimera val av tjurfäder och tjurmödrar på mer bärkraftig sätt har utvecklats, som borde tas i bruk också i nordiskt avelsprogram. Dansk Holsteinavel har faktiskt redan testat ett optimeringsprogram kallat EVA, vilken hjälper att planera parningar av tjurfäder och tjurmödrar så att avkommans genomsnittliga avelsvärden balanseras mot graden av inavel. Det finns också forskningsplan i detta område på nordisk nivå tillsammans med Nordisk Genbank, Forskningscenter Foulum och Nordisk Avelsvärdering. Förhoppningsvis den framtidens gemensamma nordiska avelsprogram kommer att profitera resultat på detta projekt.

Tabel 1. Embryo aktiviteter 2001 i Finland.

Spolningar		Antal Embryon		
Totalt	i Asmo besättning	Totalt	Överförbara	per spolning
308	135	2464	1671	5,4
Överföring av embryon				
Totalt	Kön bestämda	OPU	Seminör	Djupfrysta
1639	103	23	1457	776
Dräktighet resultat (%) i ASTU nätverk				
Färska embryon	Biopserade färska embryon	Frysta embryon	Totalt	
53	60	50	54	
Dräktighet resultat (%) i MTT				
Färska embryon	Biopserade färska embryon	Frysta embryon	Biopserade frysta embryon / frysta och biopserade embryon	Totalt
60	60	38	38 / 8	44