

قدرت تشخیص QTL در جمعیتی غیر خویشاوند با انتخاب جهت تعیین فنوتیپ

سعید انصاری مهیاری

مدیریت بیوتکنولوژی منطقه شمال کشور، پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی

آدرس الکترونیکی sam@abrii.ac.ir

چکیده:

در این آزمایش چند استراتژی انتخابی بمنظور کاهش تعداد افراد جهت فنوتیپ کردن طی مواقعی مورد آزمایش قرار گرفت که در آنها رکوردبرداری بسختی انجام میشود تا بتوان بر این اساس به حداکثر قدرت تشخیص QTL دست یافت. دو طول ژنومی (۱۰ و ۱۰۰ سانتی مورگان) همراه با دو روش آماری تجزیه QTL (تجزیه پیوستگی LA، و تجزیه توام پیوستگی و عدم پیوستگی LDLA) جهت مقایسه سه روش نمونه گیری در فنوتیپ کردن انتخابی مورد استفاده قرار گرفت. روشهای فنوتیپ کردن انتخابی بر پایه اطلاعات پیوستگی در درون فامیلهای ناتنی در سطوح ۳۰ و ۵۰ درصد بودند. نتایج انتخاب افرادی که شباهت ژنتیکی بیشتری با ژنوتیپ هاپلو تیپ های پدری خود دارند نشان داد این افراد تقابل بیشتری نسبت به انتخاب تصادفی داشته اند. با اینحال روش آماری توام بطور قابل توجهی منجر شد که قدرت تشخیص QTL افزایش یابد. همچنین افزایش سطح فنوتیپ کردن در کنار استفاده از روش آماری توام، حساسیت مکان یابی QTL را در روش حداقل نوترکیبی نسبت به انتخاب تصادفی افزایش داده بود. نتیجتاً استراتژیهای استفاده شده نشاندهنده امکان انتخاب کاندیدهای مناسب جهت کاهش هزینه فنوتیپ کردن میباشد. بعلاوه چنانچه انتخاب بروش حداقل نوترکیبی همراه با استفاده از تجزیه توام باشد میتوان دقت مکان یابی را در آزمایشات QTL را بطور قابل توجهی نسبت به انتخاب تصادفی بهبود بخشید.

مقدمه:

با شناسایی و مکان یابی ژنهای صفات کمی میتوان ضمن افزایش دقت در گزینش افراد کاندید، در فاصله زمانی کوتاهتری اهداف بهنژادی را به پیش برد. رکوردهای فنوتیپی از جمله منابع اطلاعاتی اصلی در محاسبات و تجزیه های ژنتیکی در مطالعات تعیین جایگاههای صفات کمی (Quantitative Trait Loci, QTL) میباشد. با این حال شرایطی وجود دارد که در آن فنوتیپ صفت مورد نظر در مقایسه به ژنوتیپ، بسختی و با هزینه های بالایی ثبت و جمع آوری میشود (Jobs و همکاران ۲۰۰۳). همچنین در شرایطی برای ظهور و ثبت صفت بایستی حتی تا چند سال به انتظار ماند. با استفاده از فنوتیپ کردن انتخابی (Selective Phenotyping) میتوان بر اساس اطلاعات مولکولی DNA در جمعیت مورد نظر، بخشی از افراد (تا ۵۰٪) را که حاوی بیشترین اطلاعات در مطالعات پیوستگی ژنتیکی هستند را شناسایی و مورد ثبت فنوتیپی قرار داد. طبق برخی گزارشات در چنین شرایطی استفاده از حداکثر عدم تشابه ژنتیکی (Genetic dissimilarity) میتواند تا حدی

منجر به شناسایی افراد در جوامع گیاهی شود (Jin و همکاران ۲۰۰۴، Jannink و همکاران ۲۰۰۵). امروزه استفاده از اطلاعات عدم پیوستگی جهت بهره وری از نوترکیبی های غیر تصادفی در کل ژنوم بدلیل مزایایی که در بهره وری از نقشه های اشباع نشانگرها و افزایش قدرت در تشخیص و شناسایی QTL دارد بطور قابل توجهی در ترسیم نقشه های دقیق QTL مورد توجه قرار گرفته اند (Hayes و همکاران ۲۰۰۶).

در این مطالعه با استفاده از شبیه سازی کامپیوتری ضمن بررسی استراتژیهای در فنوتیپ کردن انتخابی، تاثیر دو روش تجزیه آماری QTL و دو اندازه ژنومی بر روی توانایی تشخیص و حساسیت مکانیابی QTL مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روشها:

دو اندازه ژنومی در این مطالعه شامل ۱۰ و ۱۰۰ سانتی مورگان بترتیب با ۶ نشانگر(هریک با ۵ آلل و فراوانی ۰/۲) بفواصل مساوی ۲ سانتی مورگان و یک QTL بین نشانگر دوم و سوم، و با ۲۱ نشانگر(هریک با ۵ آلل و فراوانی ۰/۲) در فواصل مساوی ۵ سانتی مورگان و یک QTL بین نشانگر چهارم و پنجم مورد بازسازی بوسیله روشهای شبیه سازی تصادفی قرار گرفتند. پس از ایجاد عدم تعادل پیوستگی بین نشانگرها و QTL، جمعیت مورد نظر استخراج گردید. در این مطالعه ۳۰ پدر غیرخویشاوند هر یک با ۸۰ فرزند در نظر گرفته شد.

جهت تعیین مناسب ترین افراد در فنوتیپ کردن سه استراتژی شامل: انتخاب تصادفی، انتخاب براساس حداکثر نوترکیبی و انتخاب براساس حداقل نوترکیبی هر یک تا سطح ۳۰ و ۵۰ درصد افراد در هر گروه پدری بکار برده شد. روش تصادفی بعنوان شاهد در نظر گرفته شد و در آن افراد بصورت تصادفی تا سطح مورد نظر فنوتیپ شدند. در روش حداکثر نوترکیبی با توجه به ژنوتیپ افراد و والدینشان افرادی که بیشترین نوترکیبی را داشتند تا رسیدن به سطح فنوتیپی مورد نظر انتخاب شدند. در روش حداقل نوترکیبی افراد انتخابی دارای بیشترین تشابه با گامتهای والد پدری خود بوده و نتیجتاً هاپلوتیپ پدری آنها حداکثر تشابه ژنتیکی با هاپلوتیپ های پدری داشتند.

پس از ۱۰۰ تکرار در مراحل فوق، در هر مرحله داده های حاصله بوسیله روش پیوستگی LA و روش توام LDLA تجزیه آماری شدند. قدرت تشخیص و حساسیت تعیین مکان QTL بر اساس دفعات معنی دار بودن در سطح آماری ۵ درصد محاسبه گردید. همچنین آزمون تشخیص QTL بر اساس آزمون نسبت درستنمایی (Likelihood Ratio Test, LRT) و مقدار حساسیت محل QTL در فواصل ± 2 و ± 5 در نقطه شبیه سازی شده QTL بترتیب برای اندازه کروموزومی ۱۰ و ۱۰۰ سانتی مورگان بدست آمد.

نتایج و بحث:

جداول ۱ و ۲ نشان میدهند با انتخاب افراد بر اساس تعداد نوترکیبی در طول قطعه ژنوم مورد نظر بهبود قابل توجهی در قدرت تشخیص و نیز حساسیت تعیین مکان QTL در مقایسه با نمونه گیری تصادفی در سطح تعیین فنوتیپ مشابه (۳۰ و ۵۰٪) بوجود نیامده است. با اینحال نتایج نشان میدهند استفاده از نقشه های ژنتیکی با نشانگرهای اشباع و همچنین استفاده از تجزیه آماری توام بطور قابل توجهی در هر دو روش تعیین فنوتیپ فوق باعث بهبود قدرت تشخیص و تعیین مکان QTL شده است. استفاده از انتخاب فنوتیپی بر اساس حداقل نوترکیبی که بر اساس آن هاپلوتیپ والدی فرزندان حداکثر تشابه را با هاپلوتیپ والدی داشته نشان میدهد این روش قادر است نسبت به انتخاب تصادفی قدرت تشخیص و نیز دقت یافتن مکان QTL را افزایش داده و بهبود بدهد (جداول ۱ و ۳). در روش انتخاب با حداقل نوترکیبی نتایج انتخاب میشوند که برعکس روش انتخاب با حداکثر نوترکیبی، حداکثر تشابه را با هاپلوتیپهای والد پدری خود داشته باشند. این افزایش بطور قابل توجهی با استفاده از نشانگرهای اشباع (۱۰۰سانتی مورگان) در مقایسه با غیراشباع (۱۰۰سانتی مورگان) مشاهده شد و بطور بسیار بارزتر در استفاده از تجزیه آماری توام (LDLA) در مقایسه با تجزیه پیوستگی (LA) ملاحظه میگردد. این نتایج نشان میدهند با انتخاب فنوتیپی افرادی که نوترکیبی کمتری دارند انحراف معیار تفاوت بین هاپلوتیپهای پدری کاهش پیدا کرده که نتیجتاً این امر منجر به افزایش قدرت تشخیص QTL در هر سطح از فنوتیپ کردن میگردد. حساسیت در مکانیابی QTL باتوجه به تعداد تکرار و اینکه مقدار LRT معنی داری در محدوده های ± 2 و ± 5 بترتیب برای اندازه کروموزومی ۱۰ و ۱۰۰ سانتی مورگان نسبت به محل واقعی QTL بدست آمده باشد افزایش قابل توجهی در استفاده از روش حداقل نوترکیبی (بویژه همراه با تجزیه آماری توام) نسبت به روش نمونه گیری تصادفی و نیز انتخاب براساس حداکثر نوترکیبی نشان داد (جداول ۱، ۲، ۳). این تحقیق نشان داد استفاده از داده های ژنوتیپی در مواقعی که فنوتیپ کردن با مشکلاتی همراه هستند میتواند بطور موثری هزینه را در مطالعات تشخیص QTL کاهش دهند (Jannink و همکاران ۲۰۰۵). اگرچه در روشهای تجزیه پیوستگی نیاز به فامیلهای ناتنی بزرگتر جهت تشخیص بهتر QTL میباشد، بهره وری از تجزیه توام و استفاده از اطلاعات عدم پیوستگی بویژه در هنگام استفاده از نشانگرهای اشباع میتواند قدرت تشخیص را افزایش دهد (Goddard و Meuwissen، ۲۰۰۰). بنابراین در صورت وجود عدم تعادل پیوستگی در جمعیت تحت مطالعه استفاده از نوترکیبی های غیرتصادفی که بین محدوده های نشانگری وجود دارند میتواند در ترسیم نقشه های دقیق QTL بطور موثری مورد استفاده قرار گیرد. تحقیقات نشان میدهند در بیشتر جوامع حیوانی مدرن عدم تعادل پیوستگی وجود دارد (Hayes و همکاران ۲۰۰۶). بهرحال در کل از نتایج این تحقیق میتوان ادعان داشت استفاده از اطلاعات ژنوتیپی در یافتن افرادی که کمترین نوترکیبی را دارند و سپس استفاده از تجزیه آماری توام میتواند قدرت تشخیص و نیز حساسیت مکانیابی QTL را افزایش دهد. بدیهی است در صورت استفاده از نقشه های ژنتیکی با نشانگرهای اشباع، این افزایش بیشتر نیز خواهد بود.

منابع:

Hayes, B. J., A. B. Gjuvsland, and S. W. Omholt. ۲۰۰۶. Power of QTL mapping experiments in commercial Atlantic salmon populations, exploiting linkage and linkage disequilibrium and effect of limited recombination in males. *Heredity* ۹۷: ۱۹-۲۶.



دومین همایش بیوتکنولوژی کشاورزی، ۲۴ و ۲۵ تیر ۱۳۸۸

پژوهشکده باغبانی و دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید باهنر



Jannink, J. L. ۲۰۰۵. Selective phenotyping to accurately map quantitative trait loci. *Crop Sci.* ۴۵: ۹۰۱-۹۰۸.

Jin, C., L. Lan, A. D. Attie, G. A. Churchill, D. Bulutuglo, and B. S. Yandell. ۲۰۰۴. Selective phenotyping for increased efficiency in genetic mapping studies. *Genetics* ۱۶۸: ۲۲۸۵-۲۲۹۳.

Jobs M., Howell W.M., Stromqvist L., Mayr T., Brookes A.J. (۲۰۰۳) DASH-۲: Flexible, low-cost, and highthroughput SNP genotyping by dynamic allele-specific hybridization on membrane arrays. *Genome Res.*, ۱۳, ۹۱۶-۹۲۴.

Meuwissen T.H.E., Goddard M.E. (۲۰۰۰) Fine mapping of quantitative trait loci using linkage disequilibrium with closely linked marker loci. *Genetics*, ۱۵۵, ۴۲۱-۴۳۰.

جدول ۱- قدرت تشخیص و مکانیابی برای دو سطح تعیین فنوتیپ بر روش تصادفی در دو طول ژنومی و با استفاده از دو روش تجزیه آماری

حساسیت تعیین مکان QTL (%)		قدرت تشخیص QTL (%)		روش تجزیه	سطح تعیین فنوتیپ
۱۰۰cM طول ژنوم	۱۰cM طول ژنوم	۱۰۰cM طول ژنوم	۱۰cM طول ژنوم	آماري	(%)
۵	۹	۶	۱۱	LA	۳۰
۲۵	۳۰	۳۲	۳۸	LDLA	
۱۹	۲۹	۲۰	۲۹	LA	۵۰
۶۰	۶۸	۶۳	۷۱	LDLA	

جدول ۲- قدرت تشخیص و مکانیابی برای دو سطح تعیین فنوتیپ بر روش حداکثر نوترکیبی در دو طول ژنومی و با استفاده از دو روش تجزیه آماری

حساسیت تعیین مکان QTL (%)		قدرت تشخیص QTL (%)		روش تجزیه	سطح تعیین فنوتیپ
۱۰۰cM طول ژنوم	۱۰cM طول ژنوم	۱۰۰cM طول ژنوم	۱۰cM طول ژنوم	آماري	(%)
۵	۹	۷	۱۰	LA	۳۰
۱۹	۳۰	۲۱	۲۵	LDLA	
۲۰	۲۶	۲۲	۲۶	LA	۵۰
۵۵	۵۷	۵۶	۶۱	LDLA	

جدول ۳- قدرت تشخیص و مکانیابی برای دو سطح تعیین فنوتیپ بر روش حداقل نوترکیبی در دو طول ژنومی و با استفاده از دو روش تجزیه آماری

حساسیت تعیین مکان QTL (%)		قدرت تشخیص QTL (%)		روش تجزیه	سطح تعیین فنوتیپ
۱۰۰cM طول ژنوم	۱۰cM طول ژنوم	۱۰۰cM طول ژنوم	۱۰cM طول ژنوم	آماري	(%)
۱۸	۲۳	۱۹	۲۳	LA	۳۰
۴۹	۵۵	۵۱	۵۶	LDLA	
۳۲	۳۴	۳۳	۳۴	LA	۵۰



دومین همایش بیوتکنولوژی کشاورزی، ۲۴ و ۲۵ تیر ۱۳۸۸
پژوهشکده باغبانی و دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید باهنر



۷۷

۷۹

۷۷

۸۱

LDLA



دومین همایش بیوتکنولوژی کشاورزی، ۲۴ و ۲۵ تیر ۱۳۸۸

پژوهشکده باغبانی و دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید باهنر



Power of QTL detection in a selectively phenotyped outbred population

Saeid Ansari-Mahyari

Branch of North region of Iran, Agricultural Biotechnology Research Institute of North Region of Iran (ABRII)

E-mail: sam@abrii.ac.ir

Abstract:

This study investigated several selective strategies to reduce number of the phenotyped individuals where recording has the largest marginal effect to maximize the power of QTL detection given constraints in recording phenotypes. Two genome lengths (10 and 100 cM) and two methods in QTL analysis (Linkage Analysis, LA; and Linkage Disequilibrium and Linkage Analysis, LDLA) were used to compare three sampling methods in selective phenotyping (SP). The SP was based on linkage information within the half-sib families for selecting 30% and 50% of individuals. The results showed that selecting progeny that are genetically similar to paternal haplotypes provided a better contrast in detecting QTL than random phenotyping. LDLA was shown to substantially improve the power of QTL analyses in this experiment. By increasing the phenotyping level using LDLA, the criterion based on maximum similarity with paternal haplotypes showed better sensitivity of QTL position compared to random selective phenotyping. Consequently, the used selective strategies illustrated the possibility to select more informative candidate to decrease phenotyping costs. Additionally, the developed phenotyping strategies (minimum recombinants and LDLA) can enhance the accuracy of QTL position in QTL experiments in comparison to random methods.